



**UNAP**



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

**TESIS**

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ACEITE DE Geochelone denticulata –  
MOTEL DE USO ETNOMEDICINAL COMERCIALIZADO EN PASAJE PAQUITO,  
BELÉN – LORETO 2020”**

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

**PRESENTADO POR:**

**MAYTE MILAGROS ZÚÑIGA BARDALES**

**ASESORA:**

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

**IQUITOS, PERÚ**

**2022**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°029-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°598-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 31 días del mes de marzo de 2022, a horas 19:30, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ACEITE DE *Geochelone denticulata* – MOTELO DE USO ETNOMEDICINAL COMERCIALIZADO EN PASAJE PAQUITO, BELÉN – LORETO 2020", aprobado con Resolución Decanal N°087-2022-FFyB-UNAP, presentada por la bachiller: **Mayte Milagros Zuñiga Bardales**, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°229-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- |  |            |
|--|------------|
| - Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mtro. | Presidente |
| - Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.            | Miembro    |
| - Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.             | Miembro    |

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

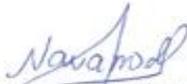
El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación muy buena

Estando la bachiller apta para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.

Siendo las 20:45 se dio por terminado el acto académico

  
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mtro.  
Presidente

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

  
Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.  
Miembro

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

**JURADO Y ASESORA**



---

**Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mtro.**

**CQFP N° 05274**

**Presidente**

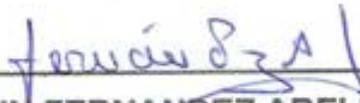


---

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

**CQFP N° 11601**

**Miembro**



---

**Q.F. LENIN FERNANDEZ ARELLANO, Mtro.**

**CQFP N° 14332**

**Miembro**



---

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

**CQFP N° 03468**

**Asesora**

## DEDICATORIA

A **Dios Padre** a quien debo toda mi existencia; sus bendiciones, gracia y favores solo hacen que yo este eternamente agradecida de estar religada a Él.

Con infinito amor y agradecimiento a la memoria de mi papito **Manuel**, él fue lo mejor que la vida me regalo. Y a mi madre **Amy**, quien me enseñó que el amor y la perseverancia te llevan a alcanzar grandes cosas.

*Mayte*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi hermana Roxana por enseñarme que la familia es lo primero en la vida.

A mi familia que he formado con el pasar de los años.

A los profesionales de mi alma mater, quienes dejaron huella en mi con sus conocimientos y experiencia.

A la Dra. Frida por ser mi apoyo intelectual en este camino para alcanzar mi titulación.

A los vendedores de “Pasaje Paquito”, que mantienen viva la medicina tradicional, la cual es punto de partida de muchas importantes investigaciones.

## ÍNDICE

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESORA	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vi
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
1.1. Antecedentes	4
1.2. Bases teóricas	6
<b>2.2.1. <i>Chelonoidis denticulata</i> - motelo</b>	<b>6</b>
<b>2.2.2. Estabilidad de emulsiones y ungüentos terapéuticos o cosméticos</b>	<b>8</b>
<b>2.2.3. Microorganismos indicadores de contaminación en productos no estériles</b>	<b>9</b>
<b>2.2.4. Prueba de limite microbiano en productos farmacéuticos y cosméticos no estériles.</b>	<b>14</b>
2.3. Términos operacionales	15
2.1. Hipótesis	17
2.2. Definiciones Operacionales de las variables	17
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	<b>19</b>
3.1. Diseño metodológico	19
3.2. Diseño Muestral	19
3.3. Procedimientos de recolección de datos	19
3.4. Procesamiento y análisis de datos	20
3.5. Consideraciones éticas	20
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>	<b>23</b>
3.1. Número total de microorganismos encontrados en las muestras de <i>G. denticulata</i> “motelo”.	23

vi

3.2. Identificación de microorganismos patógenos específicos en las muestras de aceite de <i>G. denticulata</i> “motelo”.	24
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b>	27
<b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES</b>	29
<b>CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES</b>	30
<b>CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	31

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resultados del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de aceite de <i>G. denticulata</i> "motelo".	23
<b>Tabla 2.</b> Resultados de las siembras del aceite de <i>G. denticulata</i> "motelo" para identificar colonias de levaduras.	23
<b>Tabla 3.</b> Resultados de las siembras de aceite de <i>G. denticulata</i> "motelo" para identificar colonias de mohos.	24
<b>Tabla 4.</b> Resultados de las siembras de aceite de <i>G. denticulata</i> "motelo" para aislar colonias de <i>S. aureus</i> .	24

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Recuento Total de Aerobios Mesófilos (NMP)	21
<b>Figura 2.</b> Prueba de microorganismos patógenos específicos	22

## RESUMEN

El aceite de motelo tiene una textura muy fina, que lo hacen ideal para su consumo dermo-cosmético. Determinar la calidad microbiológica del aceite de *G. denticulata* (motelo) de uso etnomedicinal comercializado en Pasaje Paquito, Belén – Loreto 2020. El estudio de tipo descriptivo y diseño no experimental, transversal y prospectivo permitió dar a conocer la calidad microbiológica del aceite, luego de someterlo al análisis explicado en la prueba 61 y 62 de la USP40. Los resultados reportaron que el 80% de las muestras estaban contaminadas ya sea por la alta cantidad de microorganismos como son bacterias aerobias totales (60%), la presencia de levaduras (20%) y de mohos (40%); así como por la presencia de *Staphylococcus aureus*, no se aislaron otros patógenos específicos indicados en la prueba 62; en general no pasaron con éxito el control microbiológico el 80% de las muestras. Se concluyó que las condiciones de dispensación y almacenamiento son muy deficientes y no están sujetas a control sanitario por parte del organismo regulador encargado de productos de uso cosmético.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, control sanitario, cosméticos artesanales.

## ABSTRACT

Motol oil has a very fine texture, which makes it ideal for dermo-cosmetic consumption. To determine the microbiological quality of the *G. denticulata* (motelo) oil for ethnomedicinal use marketed in Pasaje Paquito, Belén - Loreto 2020. The exploratory, descriptive study and non-experimental, cross-sectional and prospective design allowed to know the microbiological quality of the oil after submitting it to the analysis explained in test 61 and 62 of USP40. The results reported that 80% of the samples were contaminated either by the high number of microorganisms such as total aerobic bacteria (60%), the presence of yeasts (20%) and molds (40%); As well as the presence of *Staphylococcus aureus*, other specific pathogens indicated in the test were not isolated. 62; in general, 80% of the samples did not pass the microbiological control successfully. It was concluded that the dispensing and storage conditions are very poor and are not subject to sanitary control by the regulatory body in charge of products for cosmetic use.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, sanitary control, artisan cosmetics.

## INTRODUCCIÓN

Los aceites y mantecas de origen vegetal y animal han sido los primeros recursos usados por la humanidad para ser aplicado sobre la piel como agentes terapéuticos, lubricante o cosméticos. Muchas de estas sustancias grasas después de haber sido purificadas, han sido incorporadas en formulaciones farmacéuticas y cosméticas y es más, sirven de atrayente para su comercialización, este es el caso de cremas con nombres muy sugestivos “*Aceite de tortuga*” “*Crema capilar placenta con aceite de tortuga*” “*Crema protectora con aceite de tortuga*” son solo algunos ejemplos que circulan por el internet.

Por estos tiempos muchas personas prefieren un tratamientos más naturales que sintéticos, y en la selva del nor-orienté peruano por sus características demográficas y por la presencia de poblaciones indígenas, el uso de aceites de origen zoológico ha trascendido, de manera que, es posible adquirirlos en puestos de venta de recursos y productos étno-medicinales de los mercados de la ciudad (1).

Mercados de estructura improvisada, pero de larga data como es el “*Pasaje Paquito*” ubicado en el distrito de Belén; es muy visitado por lugareños y extraños. Allí se venden productos de flora y fauna; pudiendo encontrarse una gama de aceites y mantecas usadas en prácticas médico-tradicionales. Pero también se le da una aplicación cosmética (2). Se ofertan preparados artesanales tipo cremas y ungüentos a los cuales se dice haber incorporado dicho aceite; en particular se tiene interés en el aceite de *Geochelone denticulata* (motelo) muy requerido por su textura, que contribuye a la belleza capilar y de la piel, otros comerciantes lo recomiendan por su efecto regenerador de la piel, borrar estrías y manchas y actúa como protector solar, entre otras actividades biológicas que se le atribuye por su poder curativas.

La normativa vigente en su función de dar protección al usuario de productos farmacéuticos y afines, también alcanza a los fitomedicamentos e incluso puede alcanzar a los recursos y productos naturales de uso medicinal (3). Sin embargo, los

recursos naturales y productos naturales artesanales gozan de cierta blandura en su control por instituciones competentes como Digemid – Minsa; a esto se suma, que ciertas personas dedicadas al turismo suelen en cierta forma promocionar como lugares “imperdibles” los mercados herbolarios y artesanales. Donde el turista puede tomar conocimiento de curaciones y tratamientos ancestrales, que la medicina científica no ha incorporado por falta de estudios sobre su seguridad, eficacia y calidad de los productos naturales (4).

La seguridad es un pilar primario y entre los varios análisis que se exigen a cosméticos y dermo-cosméticos, son los análisis de contaminantes microbiológicos; por eso mismo los procesos de fabricación cosmética, tiene en cuenta las buenas prácticas de manufactura (BPM) y ni buenas prácticas de laboratorio (BPL), ni buenas prácticas de almacenamiento (BPA), que son exigidas para la fabricación de productos no estériles (5).

Los aceites de origen animal como el obtenido de *G. denticulata* – motelo pueden representar un riesgo de transmisión de microorganismos patógenos y toxigénicos (5,6). Y considerando que actualmente hay una corriente de volver al uso de lo natural; ya que hay una fuerte creencia, que un producto natural es más inocuo que uno de marca, lo que mueve a las personas a adquirirlos. Sin embargo, estos aceites obtenidos artesanalmente no pasan por buenas prácticas de manufactura (BPM), ni buenas prácticas de almacenamiento (BPA), ni pasa por pruebas de control de calidad.

La farmacopea de los Estados Unidos - USP 40 consigna los estudios de calidad microbiológica para productos farmacéuticos y cosméticos no estériles (pruebas 61 y 62). Esto permite conocer el número más probable (NMP) de mesófilos aeróbicos totales y el tipo de bacterias de carácter patógeno y toxigénico, que puedan vehiculizarse en el aceite de *G. denticulata* – motelo usado como cosméticos o ungüento (2); por lo que, los resultados serán de utilidad a otros investigadores que

pretendan hacer otros estudios o evaluar actividades farmacológicas y también a las personas que lo comercializan o lo consumen.

Así mismo, los resultados que se generan en el presente estudio, aportan al expediente de estudios requeridos para refrendar su uso popular; ya que, al ser un producto orgánico de origen biológico y por ser comercializado en andamios precarios con alta presencia de calor y luz solar su deterioro puede aún ser más rápido. Su degradación produce el enranciamiento u otro tipo de degradación enzimática por microorganismos (7); de manera que es necesario determinar la carga de bacterias mesófilas, levaduras u hongos viables e identificar microorganismos patógenos y/o toxigénicos estipulados en la farmacopea USP40: *Pseudomonas aeruginosa.*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium spp.* del aceite de *G. denticulata* (motelo) de uso etnomedicinal comercializado en Pasaje Paquito, Belén, Loreto (8, 9).

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

En el 2017, en un estudio sobre “*Saberes ancestrales sobre el uso de flora y fauna en la comunidad indígena Tikuna de Cushillo Cocha, zona fronteriza Perú-Colombia-Brasil*”, a través de talleres participativos entrevistas y recorridos biológicos con el acompañamiento de los lugareños Rengifo y col. reportaron un total de 207 especies de entre flora y fauna que son consumidas por los Tikunas, de ellas 101 especies son botánicas, agrupadas en siete categorías de uso étnico entre las que destacan las de tipo alimenticio y medicinal; otras 146 especies son de fauna, distribuidas en 127 géneros y 65 familias; y según la utilidad los nativos las agrupan en seis categorías de uso, donde resaltan las alimenticias y las criadas como mascotas. La especie *Geochelone denticulata* la reportaron por su uso alimenticio y medicinal, específicamente el casco de motelo cuya decocción es tomada en casos de diarrea (10).

Ese mismo año, Zeitoun *et al.* en otro estudio publicado: “*Microbiological testing of pharmaceuticals and cosmetics in Egypt*”, reportan sin restringirse a los parámetros microbiológicos exigidos a ser identificados por la Farmacopea de los Estados Unidos – USP, todo tipo de contaminantes bacterianos, para ello examinaron 85 productos farmacéuticos no estériles pre-usados proporcionados por usuarios seleccionados de forma aleatoria. Aislaron 41 contaminantes bacterianos de 31 preparaciones analizadas, la identificación de la especie fue por pruebas bioquímica convencionales y kits API que permitió identificar a once de los 41 contaminantes; el resto de contaminantes no se logró identificar por los resultados bioquímicos contradictorios. Por métodos moleculares lograron identificar la especie en 24 de los 41 contaminantes aislados; pero los métodos de reacción en cadena de la polimerasa -PCR demostró mejor sensibilidad al compararse los resultados obtenidos con los métodos bioquímicos tradicionales, al momento de la detección de indicadores bacterianos farmacopeicos en muestras farmacéuticas contaminadas (10).

En el año 2015, en la investigación “*Evaluación del contenido microbiológico y cuantificación de plomo en pinturas faciales infantiles obtenidas en el Mercado Central de Lima. Setiembre*”, haciendo uso de las técnicas estandarizadas del Manual de Bacteriología Analítica (BAM), de la Food and Drug Administration (FDA), Cruz y Najéro reportaron que 21 muestras cumplen con el límite máximo permisible para recuento de mesófilos aerobios totales que señala la Comisión Europea ( $2 \times 10^2$  ufc/g), mientras que las cuatro muestras restantes mostraron resultados que incumplían esta especificación ( $2,5 \times 10^2$  ufc/g;  $2,5 \times 10^2$  ufc/g;  $3 \times 10^2$  ufc/g y  $8 \times 10^2$  ufc/g). Además, el total de muestras cumplieron con el límite de aceptabilidad para recuento de mohos y levaduras ( $10^2$  ufc/g – según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTC), así como para la identificación de microorganismos patógenos a identificar *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* (11).

En el año 2014, en la investigación “*Estudio de la manteca de cacao para uso cosmético y desarrollo de productos*”, donde se indica que la manteca de cacao por su contenido en grasas de tipo triglicéridos saturados e insaturados y antioxidantes naturales es usada en preparaciones a ser aplicadas sobre la piel; por lo que, Tapia hizo él estudió de la demanda, producción, diseño de planta ajustadas a las BPM y BPL y además calculó los aspectos financieros. Dentro de ello describe los procesos para la fabricación de crema desmanchadora, protector labial y loción para el tratamiento capilar, toma en cuenta aspectos relacionados desde los insumos hasta el producto final: dentro de ellos para evitar la contaminación con microorganismos destaca la necesidad de contar con una Área de Control de Calidad, el flujo del personal, los procesos de desinfección según el grado de contaminación de las áreas (negra – gris y blanco), así como la restricción del personal a ciertas áreas (12).

## 1.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Chelonoidis denticulata* - motelo (13)

#### A. Clasificación Taxonómica

Reyno	: Animalia
Filo	: Chordata
Clase	. Reptilia
Orden	. Testudines
Suborden	: Cryptodira
Familia	: Testudinidae
Genero	: Geochelone
Especie	: <i>Geochelone denticulata</i> (Linnaeus 1766) o <i>Chelonoidis denticulata</i>

Nombre común: motelo, tortuga terrestre de patas amarillas, morrocoy de la selva o morrocoy amazónico.

**Procedencia y características:** Esta especie de *Chelonoidis* es nativa de Sudamérica se le encuentra desde Guyana Francesa hasta Bolivia, a la altura de 0 a 1000 msnm a temperaturas. Su habita son los bosques amazónicos donde vive escondido en zonas forestales secas, en las horas de alta temperatura, entre la espesura de la selva, evitando las zonas abiertas, pero también se encuentra en prados y sabanas. Alcanza la madurez entre los 8 a 10 años. Se calcula que puede vivir en promedio 15 años, con un peso para las hembras adultas entre 1 a 1,5 kg. y para los machos entre 0,800 a 1,2 kg (14).

**Descripción:** Esta especie *G. denticulata* llega a pesar hasta 15 kg y a medir hasta 43 cm y se cree llega a vivir entre 50 a 60 años, es omnívora, pero prefiere las frutas tropicales, hierbas y en menor ocasión de insectos, gusanos y caracoles. Está cubierto por una caparazón gruesa y pesada con decoraciones geométricas de color amarillo

y marrón, las patas gruesas y robustas y la cabeza son de color marrón y cubiertas con escamas naranjas o amarillas y las uñas son pequeñas pero gruesas (14,15).

**Comportamiento:** Este animal tiene una comunicación, en el caso de los machos por movimientos que suele hacer con la cabeza hacia atrás y adelante para invitar a la hembra al apareamiento. La reproducción se alinea a la temporada de lluvias donde cada oviposición es de 3 a 8 huevos hasta por siete meses al año que son incubados por 4 a 5 meses a una temperatura de 28°C a 29°C y alta humedad (14) .

**Usos en general de aceite extraído de diferentes especies de tortuga:** Es una especie comestible en los pueblos indígenas y plato exótico en las ciudades de la selva peruana (16), el problema es que no hay criaderos y su consumo es una amenaza para esta especie vulnerable, que es sacada de su hábita natural para ser comercializada.

Existen preparados cosméticos para la piel y para el cabello, que son promocionados por su contenido en aceite de tortuga. La placenta de tortuga es requerida para preparar champús, mascarillas, ampollas nutritivas para tratamientos capilares, acondicionadores y otros preparados de uso capilar; también se usa el aceite para reparar(<https://www.svenson.es/blog/beneficios-de-la-tortuga-para-tu-pelo/>) dar brillo, orden y docilidad al cabello

El aceite de tortugas también forma parte de cremas para el cuidado de la piel como despigmentantes, protectores solares y suavizantes de piel envejecida para devolverle la elasticidad al rostro, y borrar las estrías. El aceite no necesariamente se extrae de un animal sacrificado, sino también de los huevos.

Hay reportes que el aceite de tortuga en cápsulas es consumido en caso de problemas pulmonares, pero en realidad su verdadero beneficio es cardiovascular.

### **2.2.2. Estabilidad de emulsiones y ungüentos terapéuticos o cosméticos**

Las condiciones ambientales físicas como: temperatura, pH, y radiación pueden alterar la composición y estabilidad de las cremas y ungüentos. Las condiciones químicas como: humedad, oxígeno y otros gases ambientales o la naturaleza química del envase inmediato pueden alterar la composición de los vehículos o de los componentes activos presentes en cremas y ungüentos; así mismo la presencia de microorganismos pueden alterar los productos oleosos o su textura por la actividad enzimática (17).

Los cambios físico químicos en cremas y ungüentos se pueden ver favorecidos por deficiencias en los procesos desde la adquisición de los insumos, producción, almacenamiento, transporte, exhibición y dispensación, que terminan en el uso por el consumidor final. La composición de productos farmacéuticos y cosméticos incluye estabilizantes y preservantes para mantener la integridad del producto (17). A diferencia de los aceites y mantecas obtenidos de animales sacrificados de forma precaria, y que luego son envasados, almacenados y expendidos en condiciones artesanales, que no se sujetan a estándares numéricos y de identidad microbiológica que aseguren su inocuidad y que puedan resistir: al paso del tiempo, a condiciones ambientales tropicales y a la actividad microbiana, todos estos factores en conjunto deterioran el fluido lipídico y no se ajusta a un tiempo de vida útil preestablecido del producto (17).

La estabilidad de los aceites y ungüentos de origen o contenido animal depende de sus características físico-químico, microbiológico y no toxicológicas dentro del tiempo de vida útil del producto, y de su estabilidad a su vez depende su eficacia. Dependiendo de su efectividad va ganando popularidad y la aceptación del consumidor (11).

Los medicamentos y los cosméticos que por su proceso de fabricación se realiza en un sistema abierto, pueden contaminarse con microorganismos viables; pero deben

permanecer dentro de los límites establecidos por la norma sanitaria. Para asegurar que así sea, el departamento de producción en los diferentes procesos es auditado por el área de control de calidad, siendo uno del análisis protocolizado exigidos la “calidad microbiológica” que involucra “el recuento de bacterias mesófilas totales y la prueba de recuperación de bacterias patógenas o toxigénicas”. Estos parámetros de contaminación microbiológica son aplicables para los lípidos y grasas naturales como son aceites y mantecas de origen animal de uso ancestral cuya comercialización no está regulada; pero se les puede adquirir en mercados y mercadillos, lugares donde la alta comercialización de materia orgánica puede fácilmente sufrir descomposición y más aún en lugares con alta carga de microorganismos (5).

El control de calidad de un producto verifica si todas las características definidas por el fabricante concuerdan con las definiciones del estándar y si estas se mantienen durante la vida útil del producto, asegurando la eficacia y seguridad de las materias primas y los productos (11).

### **2.2.3. Microorganismos indicadores de contaminación en productos no estériles**

Los productos de uso cosmético como manda la norma deben pasar diferentes pruebas para su control de calidad tanto de los insumos como del producto terminado. Un control muy importante es el de la calidad microbiológica debiendo identificarse de manera obligatoria las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, *C. perfringens*, *E. coli*, y *Salmonella spp.*; así como el número más probable de bacterias mesófilas aeróbicos totales, de levaduras y mohos (8,18). Por ello es importante la capacitación de los operarios en cuanto a hábitos de higiene personal y seguimiento de Buenas Prácticas de Manufactura.

***Bacterias aerobias mesófilas:*** agrupa a bacterias que se desarrollan a 37°C y se requiere reconocer cuantitativamente su presencia en formas farmacéuticas no estériles y cosméticas. Esto permite determinar la viabilidad de microorganismos que

correlacionan con condiciones de calidad y conservación, porque su presencia representa un peligro potencialmente patógeno o toxigénico (19).

Los microorganismos indicadores requeridos por la farmacopea USP40 para ser identificados son:

***Escherichia coli***, esta bacteria tiene forma bacilar es de 0,5  $\mu$  de ancho por 3  $\mu$  de largo, y es Gram negativo. Algunas especies son móviles (por flagelos peritricos), no esporuladas, fermenta la glucosa y la lactosa, son catalasa positivos, oxidasa negativos y reduce nitratos a nitritos. Si bien tiene predilección por ambientes de 37°C de temperatura, desarrolla en un rango amplio de temperaturas entre los 7° y 50°C, en medios con pH entre 4,0 y 8,5 y una humedad mínima de 0,95 (19,20).

La Enterobacteria *E. coli* es comensal primigenio y habitual del microbiota intestinal humana y de otras especies de sangre caliente; su metabolismo contribuye con algunas coenzimas del complejo B y la vitamina K, Algunas cepas expresan una toxina denominada Shiga productora de infecciones intestinales siendo el serotipo *E. coli* O157: H7 la más toxigénica; su periodo de incubación es de 3 a 4 días; para que aparezcan los síntomas: diarrea con sangre, vómitos, espasmos estomacales intensos y en algunas ocasiones produce fiebre, pero en ciertas personas puede presentarse el llamado síndrome urémico hemolítico que es grave y mortal. Normalmente los síntomas ceden espontáneamente entre los 5 a 7 días (18,19).

Las cepas patógenas de *E. coli* son *E. coli* enteropatogénica (ECEP), es responsable de diarreas infantiles mediada por lesiones histopatológicas de adherencia y destrucción o lesiones A/E. *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterohemorrágica, enterotoxigénica (ECEH), *E. coli* enteroagregativa o enteroadherente (ECEA) y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD) (21).

Para el caso de ***Escherichia coli*** según la USP 40 se le aísla como indica la prueba 62 indica hacer diluciones [1:10] en caldo caseína soya que luego se incuban entre

30° a 35° por 18 a 24 horas. La selección y subcultivo consiste en transferir 1 mL del cultivo a 100 mL de Caldo MacConkey e incubado entre 42° a 44°C por 24 a 48 horas. El segundo subcultivo se da por transferencia a una placa de Agar MacConkey e incubado entre 30° a 35° por 18 a 72 horas. La aparición de colonias indica la posible presencia de *E. coli*, el producto es conforme si no se desarrollan colonias o cuando las pruebas de identificación bioquímica resultan negativas (8,21).

***Salmonella spp.***, son bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, con flagelados peritricos,; puede habitar en el hombre así como en animales; que las liberan al medio ambiente con las heces para continuar su ciclo de contaminación (22). Para el caso de ***Salmonella***, según la USP 40 para aislarlo se parte del resultado de la misma dilución hecha para *E. coli*. Luego la selección y subcultivo se da en Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella* a 30° a 35° C por 18 a 24 horas. El segundo subcultivo se da por transferencia a placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato e incubado entre 30° a 35°C por 18 a 48 horas. La presencia de colonias rojas, con o sin centros negros concuerdan con la presencia de *Salmonella*, que puede confirmarse con pruebas bioquímicas. El producto es conforme si hay ausencia de las colonias descritas o las pruebas bioquímicas confirmatorias son negativas para *Salmonella spp.* (8) (22).

***Staphylococcus aureus***, es un coco Gram positivo de 0,5 a 1,5 µm se le observa al microscopio en células sueltas o agrupadas en racimos y en cultivo suelen producir pigmentos carotenoides entre amarillo dorado a limón, bioquímicamente son coagulasa positiva y oxidasa negativa. Es un microorganismo patógeno causante de una veintena de infecciones de gravedad variable, que afectan la piel o invaden órganos internos causando neumonía necrosante, osteomielitis, sepsis e intoxicaciones por alimentos entre otras manifestaciones clínicas (4).

El *S. aureus* está bien implementada para invadir tejidos ya que posee factores de virulencia, mecanismos genéticos para desarrollar resistencia a los antibióticos y para habituarse a ambientes extremos es así que logra sobrevivir aun en ambientes

hospitalarios (10). Se le cultiva en medios de agar sangre, agar chocolate, agar cerebro corazón infusión, pero para su aislamiento se prefiere usar el Agar Manitol Salado o Agar Chapman que son hipertónicos, condición que no pueden superar otras bacterias Gram negativo (4).

Para el caso de *Staphylococcus aureus* según la USP 40 se le aísla de la misma dilución de TSB incubada se pasa a la selección y subcultivo en placa de agar Manitol salado entre 30° a 35°C por 18 a 72 horas. La aparición de colonias amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla indica la posible presencia de *S. aureus*. Luego se confirma por pruebas bioquímicas. El producto es conforme por la ausencia de colonias de los tipos descritos o si las pruebas bioquímicas son negativas para *S. aureus* (8,17).

***Pseudomonas spp.*** es una bacteria abastionada de 0,5 a 1,0 µm de diámetro, aerobia facultativa y causante de una variedad de infecciones para el hombre y es persistente en el medio ambiente. Posee un factor de adherencia a membrana respiratoria gracias a la proteína *FiiD* que impide el inicio de la respuesta inflamatoria y que sea fagocitada. La bacteria puede alterar su fenotipo según las condiciones ambientales, para ello detiene la síntesis de la flagelina y adoptando la forma mucoide. Después inicia la producción del polisacárido alginato, que injuria el parénquima (23).

También las proteínas de membrana liberan *LecA* y *LecB* que contribuyen a la adherencia celular que después lesiona e invade los tejidos. También produce una cápsula de polisacáridos que dificulta su fagocitosis o de los iones libres formados en la potabilización del agua, haciéndola aún más patógena. A esto se suma su facilidad para asimilar carbono y nitrógeno de diferentes fuentes que le aseguran su persistencia en cualquier medio ambiente (23).

Para el caso de ***P. aeruginosa*** la USP 40 se le aísla de la misma dilución de TSB incubada se pasa a la selección y subcultivo en placa de Agar Cetrimida e incubada entre 30° a 35° por 18 a 72 horas, pero se diferencia de otras especies de este género

porque puede crecer a 43°C. El crecimiento de colonias indica la posible presencia de *P. aeruginosa*. Que puede confirmarse por pruebas bioquímicas. El producto es conforme ante la ausencia de colonias o las pruebas bioquímicas son negativas para *P. aeruginosa* (8,23).

***Clostridium spp.*** son bacilos Gram positivos anaerobios, productores de endosporas que es la forma de vida infectante, en su mayoría cepas flageladas que se encuentran en los suelos expulsadas por las heces de animales y humanos. Son especies toxigénicas de las cuales en medicina se conocen al *C. Botulinum* (que produce toxina que provoca parálisis muscular), *C. Perfringens* (se caracteriza por tolerar ambientes oxigenados y sintetiza 12 toxinas), *C. difficile* (responsable de la colitis pseudomembranosa) y el *C. tetani* (productor de tetanoplasmina, que produce Fuertes contracturas musculares). Las bacterias atacan las proteínas produciendo putrefacción volviendo el medio básico con producción de amoniaco formación de ácidos débiles, o liberación de bases orgánicas (23).

Para el caso de ***Clostridium spp.*** se prepara una dilución de 1 en 10 (con un volumen total mínimo de 20 mL) al menos de 2 g o 2 mL de la muestra, luego repartir 2 porciones iguales. Una se somete a 80°C por 10 minutos y luego se enfriar rápidamente. La segunda porción permanece sin calentar. luego incubar en anaerobiosis entre 30° a 35° por 48 horas. Luego los subcultivos de cada recipiente se hacen en agar Columbia entre 30° a 35° durante 48 a 72 horas en atmosfera anaerobia. Las colonias resultantes (con o sin endosporas) que dan catalasa negativa indica la presencia de *Clostridium*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. La prueba es conforme ante la ausencia de colonias tipos descritos o si las pruebas bioquímicas resultan negativas para *Clostridium* (8,23).

**Levaduras**, son microorganismos eucariotas de importancia clínica, científica e industrial. Las enzimas fermentativas son útiles en la preparación de ciertas bebidas, alimentos y proteínas <sup>16</sup>. Este contaminante fúngico se le encuentra en el aire, y

fácilmente puede ingresar a los productos y contaminarlos. Para evitarlo, se debe reducir al máximo las corrientes de aire sobre el producto de uso cosmético (11,23).

Para el caso de ***Candida albicans*** se recuperan según la prueba 61 sembrando 10 mL o la cantidad correspondiente a no menos de 1 g ó 1 mL, en 100 mL de Caldo Sabouraud Dextrosa incubado entre 30° a 35° por 3 a 5 días. La selección y subcultivo consiste en transferir a una placa de *Agar Sabouraud Dextrosa* e incubar entre 30° a 35°C por 24 a 48 horas. El crecimiento de colonias blancas puede indicar la presencia de *C. albicans* a las cuales se les puede realizar pruebas bioquímicas. El producto es conforme si no se desarrollan tales colonias o si las pruebas bioquímicas específicas resultan negativas (8,23).

**Mohos**, son los hongos que desarrollan micelio y cuya reproducción es generalmente por esporas, son aerobios facultativos y se adaptan con facilidad a diferentes condiciones ambientales, desarrollando en medios ácidos o básicos más extremos (pH de 2-9), así como a rangos de temperatura de 10 a 40°C, superando en supervivencia a otros muchos microorganismos, por lo que son cosmopolitas (8,23).

#### **2.2.4. Prueba de límite microbiano en productos farmacéuticos y cosméticos no estériles.**

En la farmacopea USP 40 la prueba de límite microbiano o control microbiológico (prueba 61) da las pautas para la numeración de bacterias mesófilas (aerobios) y hongos que pueden recuperarse de una muestra. Esto se complementa con la prueba de microorganismos específicos (prueba 62) usando medios selectivos se recupera bacterias patógenas o toxigénicas para el hombre: *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y otras bacterias tolerantes a la bilis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium spp.* *Staphylococcus aureus* (8).

La detección y evaluación de contaminantes microbiológicos en productos farmacéuticos no estériles o cosméticos contribuyen a ofertar productos de calidad, y

las farmacopeas describen las pruebas para el control microbiológico ya que estos pueden: a) alterar la integridad de las moléculas bioactivas, b) la sola presencia de microorganismos podría representar un riesgo de enfermar para el consumidor, y c) alterar las características físico químicas del producto. Por otro lado, la norma manda que se cumplan las buenas prácticas de manufactura - BPM y las buenas prácticas de laboratorio -BPL. Estas exigencias no solo alcanzan al producto, sino también al ambiente, equipos y personal involucrado en las pruebas de control de calidad (24).

El recuento de bacterias mesófilas aeróbicas se hace por el método del Número Más Probable (NMP) alternativo al de filtración por membrana o método de recuento en placa, pero menos preciso y exacto. Este método se trabaja por diluciones sucesivas con al menos tres diluciones decimales del producto a evaluar y repetible por tres, Las alícuotas iniciales se cuantifican como de 1 g o 1 mL en una dilución [1:10] con caldo digerido de Caseína y Soja, Si la muestra es oleosa se puede agregar algo de polisorbato 80. Los nueve tubos, se incuban entre 30° a 35°C por más de 3 días. Si la lectura de los resultados no fuera contundente se subcultiva 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 del anexo 1 (8,23,24).

### 2.3. Términos operacionales

- **Cosméticos** son sustancias o productos elaborados para ser aplicados sobre la piel, pelo, uñas, labios, genitales externos, cavidad oral, con la finalidad de mejorar su aspecto o apariencia o fragancia; por lo que, están sujetos a la normativa sanitaria de un país.
- **Cosméticos capilares** son cosméticos para ser usados en el cabello para mejorar su textura, apariencia o para su limpieza.
- **Cosméticos capilares naturales** son sustancias extraídos principalmente de plantas y en menor cantidad de animales y cuya presentación por lo general no contiene preservantes.

- **Control de calidad** es parte del proceso de manufactura y alcanza a los insumos productos en fabricación y producto final. Se rige por protocolos analíticos que involucran pruebas de contenido tanto cualitativo como cuantitativo de componentes activos y contaminantes que aseguren la estabilidad y eficacia del producto.
- **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.

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Hipótesis

**Ha:** El aceite de *G. denticulata* (motelo) de uso etno-medicinal comercializado en *Pje. Paquito* de Belén- Iquitos, contiene al menos uno de los microorganismos patógenos o toxigénicos no permitidos por la norma sanitaria vigente.

### 2.2. Definiciones Operacionales de las variables

#### Variables en estudio

- ◆ Microorganismos mesófilos, son los microorganismos que se encuentran viables en una muestra biológica y que desarrollan a una temperatura entre 20 a 45°C
- ◆ Microorganismos patógenos específicos, son bacterias que pueden transmitir enfermedades por lo que deben identificarse (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *P. aeruginosa*, *Clostridium spp.* y *S. aureus*).

## Operacionalización de variables

VARIABLES DE ESTUDIO	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	ÍNDICE	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Microorganismos mesófilos	Población de bacterias mesófilas y hongos con posibilidad de estar viables en el aceite de motelo.	Cuantitativa discreta	Colonias de bacterias mesófilos  Colonias de levaduras  Colonias de hongos miceliales	De razón  De razón  De razón	NMP/mL  ufc /mL  ufc /mL	Placa de Agar Digerido de Caseína-Soja  Placa de Agar Sabouraud Dextrosa  Placa de Agar Sabouraud Dextrosa
Microorganismos patógenos específicos	Bacterias que alteran la condición de inocuidad del aceite de motelo	Cualitativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i>.</li> <li>• <i>Pseudomonas spp.</i></li> <li>• <i>Escherichia. coli</i></li> <li>• <i>Salmonella spp.</i></li> <li>• <i>C. perfringens</i></li> </ul>	Nominal	presencia/ ausencia	Agar Manito salado Agar Cetrimida Agar MacConkey Agar xilosa lisina desoxicolato Agar Columbia

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Diseño metodológico

El estudio de tipo exploratorio descriptivo permitió durante el análisis de las muestras verificar si se encuentran o no contaminantes microbiológicos en cantidad y calidad según norma la USP40, es exploratorio porque permitió conocer cualidades adquiridas del aceite de motelo que no están reportadas en artículos científicos. De diseño no experimental porque no se manipularon las variables. Y fue prospectivo por la dinámica de investigación se dio a partir de su aprobación.

### 3.2. Diseño Muestral

La población estuvo representada por el aceite de *G. denticulata* (motelo) comercializado en “*Pasaje Paquito*” ubicado en el centro de abastos “La Casona” de Belén, provincia de Maynas. Por ser pocos los puestos que lo comercializan, el muestreo fue aleatorio simple y se confió en la palabra de cada comerciante, quienes refirieron que el producto solicitado pertenecía a la especie conocida como *G. denticulata* (motelo), pero no se muestrearon a los productos que presentaban estado sólido (manteca); porque se conoce que solo el aceite fijo al estado líquido a temperatura ambiente es de motelo, si estuviera sólido pertenece a otra especie de quelonio llamada charapa.

### 3.3. Procedimientos de recolección de datos

Se acopió el material de laboratorio estéril requerido para las siembras.

Se elaboraron los medios de cultivo y reactivos indicados para la prueba 61 y 62 de la USP 40.

Se adquirieron las muestras del aceite de motelo en los puestos de venta de “*Pasaje Paquito*”.

Se realizaron las siembra de las muestras para el recuento de bacterias mesófilas totales (según la figura 1).

Cada siembra de enriquecimiento favoreció el desarrollo de las bacterias patógenas especificadas en la prueba 62 (figura 2).

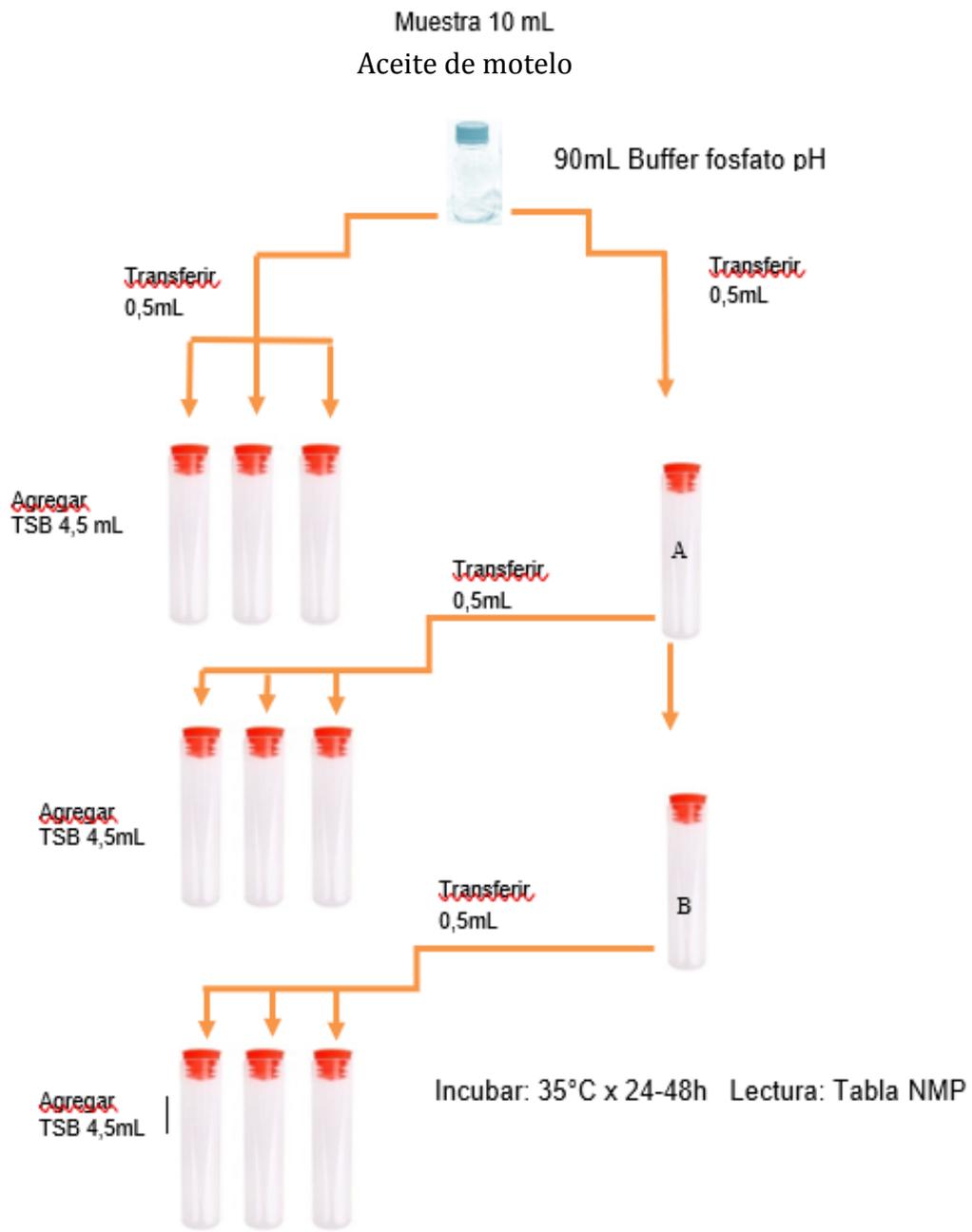
Luego se resembraron las muestras enriquecidas en medios selectivos específicos para cada bacteria patógena establecidas en la prueba 62 (figura 2).

### **3.4. Procesamiento y análisis de datos**

Los datos recogidos en las hojas de reporte analítico se procesaron en Excel y se presentarán según la estadística descriptiva en tablas o gráficos.

### **3.5. Consideraciones éticas**

El estudio planteado no sacrificó a ningún individuo de la especie en estudio, en todo caso las muestras de aceite procederán de los estantes de exhibición de los puestos de venta de *Pasaje Paquito*. del centro de abastos de Belén, Maynas



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

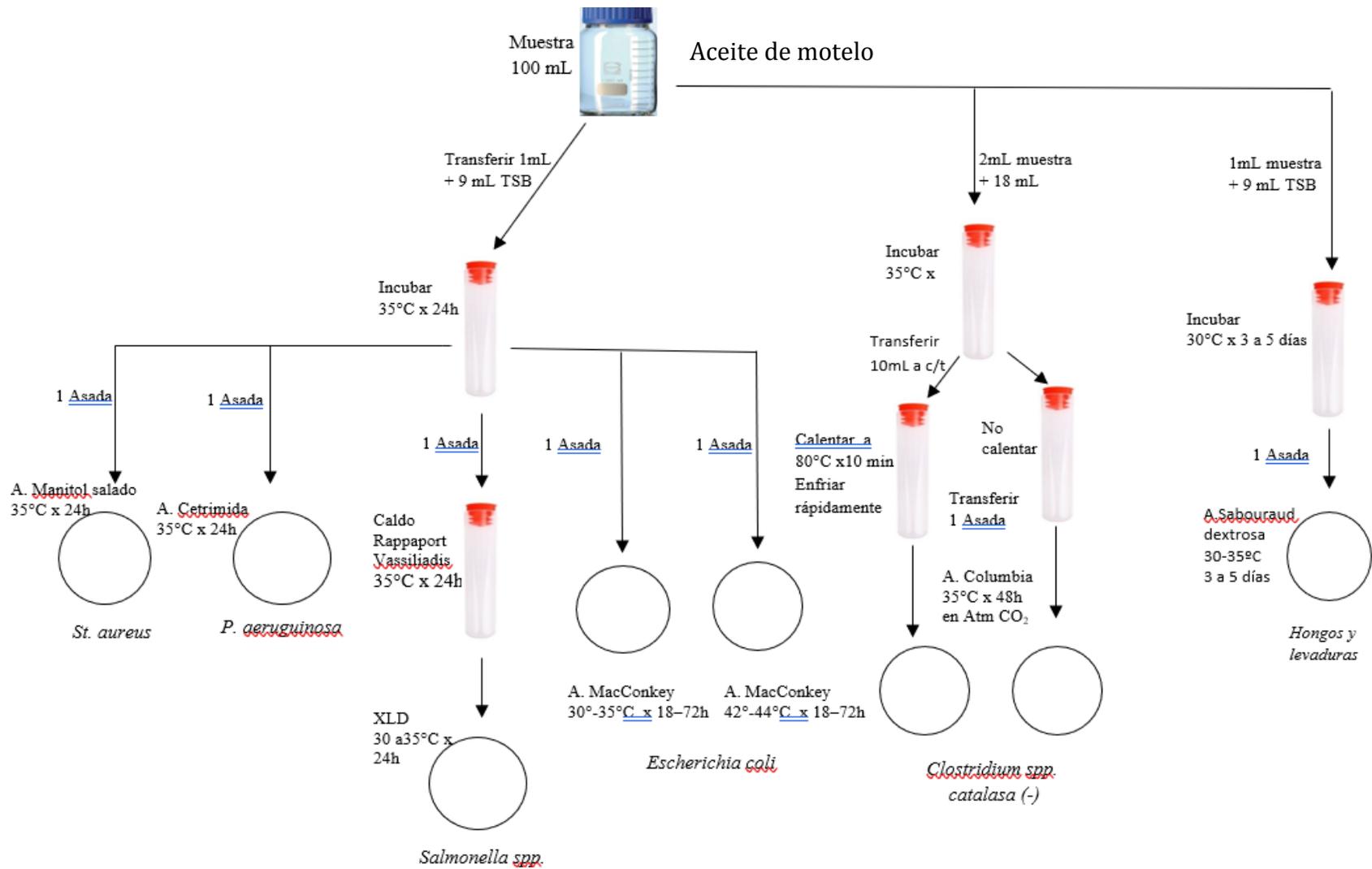


Figura 2. Prueba de microorganismos patógenos específicos

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 3.1. Número total de microorganismos encontrados en las muestras de *G. denticulata* “motelo”.

**Tabla 1.** Resultados del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de aceite de *G. denticulata motelo*”.

N° muestra	Tubos c/crecimiento por dilución	1	
		NMP por mL de muestra	LC 95%
1	3-3-0	240	40-990
2	3-0-0	23	5-94
3	3-3-3	>1100	-
4	3-3-3	>1100	-
5	3-3-3	>1100	-

De la tabla 1 se tiene que, el recuento de aerobios mesófilos de las cinco muestras de tortuga adquirida en el área de recursos y productos naturales “Pasaje Paquito” del mercado de abastos de Belén, Loreto; mostró que tres muestras presentaban un numero de microorganismos aerobios mesófilos totales por encima del límite máximo permitido.

**Tabla 2.** Resultados de las siembras del aceite de *G. denticulata* “motelo” para identificar colonias de levaduras.

N° muestra	UFC/mL de muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	3 x10 <sup>3</sup> ufc	5 x10 <sup>3</sup> ufc	3 x10 <sup>3</sup> ufc
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
5	Ausencia	Ausencia	Ausencia

De la tabla 2, se tiene que el recuento de levaduras de las cinco muestras de tortuga adquiridas en “Pasaje Paquito” del mercado de abastos Belén, Loreto; una de ellas supera el LMP de ufc/mL.

**Tabla 3.** Resultados de las siembras de aceite de *G. denticulata* “motelo” para identificar colonias de mohos.

N° muestra	UFC/mL de muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	2x10 <sup>3</sup> ufc	2x10 <sup>3</sup> ufc	2x10 <sup>3</sup> ufc
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	2x10 <sup>3</sup> ufc	2x10 <sup>3</sup> ufc	2x10 <sup>3</sup> ufc
4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
5	1x10 <sup>3</sup> ufc	Ausencia	Ausencia

De la tabla 3, se tiene que el recuento de mohos de las cinco muestras de tortuga adquiridas en “Pasaje Paquito” del mercado de abastos Belén, Loreto; dos de las muestras superan el LMP de ufc/mL.

### 3.2. Identificación de microorganismos patógenos específicos en las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”.

**Tabla 4.** Resultados de las siembras de aceite de *G. denticulata* “motelo” para aislar colonias de *S. aureus*.

N° muestra	UFC/mL de muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	Presencia	Presencia	Presencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
5	Presencia	Presencia	Presencia

De la tabla 4, se tiene que de todas las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”, adquiridas en “Pasaje Paquito” del mercado de abastos “La Casona” de Belén enriquecidas en Caldo digerido Caseína Soya y repicado en agar Manitol salado, permitió que en dos de las muestras se aislara colonias con características típicas de *S. aureus*.

Las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”, adquiridas en “Pasaje Paquito” del centro de abastos “La Casona” de Belén, que fueron enriquecidas en Caldo Digerido Caseína Soya y después resembradas en medio de aislamiento agar Cetrinida para observar el desarrollo de colonias de *P. aeruginosa*, dio un resultado negativo a todas las muestras.

Las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”, adquiridas en “Pasaje Paquito” del centro de abastos “La Casona” de Belén, que fueron enriquecidas en Caldo Digerido Caseína Soya y después resembradas en Caldo Rappaport Vassiliadis para finalmente en medio de aislamiento agar XLD para observar el desarrollo de colonias de *Salmonella spp.*, dio un resultado negativo a todas las muestras.

Las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”, adquiridas en “Pasaje Paquito” del centro de abastos “La Casona” de Belén, que fueron enriquecidas en Caldo Digerido Caseína Soya y después resembradas en medio de aislamiento agar Mc Conkey para observar el desarrollo de colonias de *E. coli*, dio un resultado negativo a todas las muestras.

Las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”, adquiridas en “Pasaje Paquito” del centro de abastos “La Casona” de Belén, que se enriquecieron en caldo digerido caseína soya por duplicado para luego someter un tubo de siembra a tratamiento térmico de 80°C x 10 min y de forma súbita enfriada a 0° x 10min. Luego de los dos tubos de siembra de enriquecimiento se tomaron los inóculos respectivos para resembrarlos en agar Columbia; a fin de obtener colonias aisladas de *Clostridium spp.*;

sin embargo, ninguna muestra dio positivo para colonias compatibles con este tipo de bacteria.

**Tabla 5.** Resumen de las siembras para el aislamiento de bacterias patógenas específicas en las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo”.

<b>Bacteria</b>	<b>frecuencia</b>	<b>porcentaje</b>
<i>S. aureus</i>	2	40 %
<i>Salmonella spp.</i>	0	0
<i>E. coli</i>	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0
<i>Clostridium spp.</i>	0	0

De la tabla 4, se tiene que solo se aislaron colonias características de *S. aureus* (40%) en dos muestras, quedando invalidadas dichas muestras por su calidad cualitativa.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El contenido de microorganismos en cantidad y calidad en un producto farmacéutico o cosméticos es determinante para tomar decisiones si esta apto o no para uso humano; esto se logró para los fines de la presente investigación aplicando la prueba 61 y 62 de la USP40, independientemente de los resultados la positividad de una cualesquiera de las pruebas invalida el producto. Un grupo de investigadores analizaron productos farmacéuticos no estériles en condición de pre-usados que a diferencia del presente estudio no solo aislaron las bacterias patógenas específicas, sino que también las identificaron por pruebas bioquímicas. No se hizo la identificación bioquímica por limitaciones de presupuesto ya que la cantidad de medios de cultivo requeridos y más aún las pruebas tipo API resultan muy costosas.

La elección de analizar el aceite de *G. denticulata* “motelo”, se debió a que era exhibido en los puestos de venta de “Pasaje Paquito” y se encontró que Rengifo y col. mencionan el uso de casco de motelo (10). Sin embargo, en el internet se promocionan productos de uso cosmético que contienen aceite de tortuga. Para considerar la evaluación de la calidad microbiológica, se encontró que un estudio sobre la manteca de cacao usada en cosméticos hecho por Tapia, quién consideró dentro del diseño de la planta a las BPL y las BPM y el control de los microorganismos (13); definen que, la elección de las pruebas de la USP fue acertadas para evaluar al producto artesanal objeto del estudio.

El recuento demostró que tres muestras presentaban un numero de microorganismos aerobios mesófilos totales por encima del límite máximo permitido (>1100) (tabla 1) quedando invalidadas para uso humano. Dado que su calidad cuantitativa, representa un riesgo para contraer alguna enfermedad producida por cualesquiera de estas bacterias patógenas.

Por el recuento de levaduras una cuarta muestra quedó invalidada por su calidad cuantitativa, la misma que superó el límite permitido de levaduras ( $2 \times 10^3$ ) (tabla 2). A

este resultado se sumó, que dos muestras superaron el LMP de ufc/mL para mohos (tabla 3), la procedencia de los hongos que ingresaron al aceite de motelo pudo darse en cualesquier parte del proceso, desde su obtención hasta su dispensación ya que estos microorganismos son ubicuos y se les encuentra en todas partes.

Después de la aplicación de la prueba 62, quedaron invalidadas dos muestras por su mala calidad cualitativa, al demostrarse la presencia de colonias típicas de *S. aureus* en Agar Manitol Salado (tabla 4), la presencia de esta bacteria que suele ser habitante indeseable de la piel, pudo ingresar al producto, cuando los comerciantes aplican con sus manos el aceite a la piel de los posibles compradores.

Al sumarse los resultados de la calidad cuantitativa (prueba 61) y la calidad cualitativa (prueba 62) queda claro que el 80% de las muestras no cumplen la calidad esperada (tablas 1-5). De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis microbiológico de pinturas faciales infantiles comercializadas en el mercado Central de Lima se dio conformidad a la calidad microbiológica de estos productos industriales; sin embargo, se comercializan en un mercado donde los productos orgánicos susceptibles de descomponerse abundan y representan una fuente de contaminación a todo lo que allí se comercialice (12).

Esto indicando que las buenas prácticas de dispensación y buenas prácticas de almacenamiento no son idóneas en el centro comercial “Pasaje Paquito” y cuyo funcionamiento solo depende del Concejo Distrital de Belén. Se requiere que la Diremid Loreto asuma su rectoría, si bien los productos comercializados son artesanales; sin embargo, su fin es medicinal. También se requiere que la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana asuma su rol social y contribuya a mejorar las condiciones en que se comercializan los recursos y productos naturales de uso humano con proyectos de intervención.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Las siembras de las muestras de aceite de *G. denticulata* “motelo” procedentes del centro de ventas de recursos y productos naturales de “Pasaje Paquito” localizado en el segundo piso del centro de abastos “La Casona” del distrito de Belén, provincia de Maynas, Loreto, luego de ser analizadas según la metodología descrita en la prueba 61 y 62 de la USP 40 se determinó que solo una muestra paso con éxito las pruebas de calidad microbiológica.

Tres de las muestras presentaron un desarrollo de bacterias mesófilas aerobias totales por encima del intervalo máximo permitido (tabla 1), resultado que invalida su uso humano.

El análisis de levaduras y mohos invalidaron dos muestras, una de las cuales ya había sido descartada porque, el desarrollo de bacterias superó el NMP permitido y la otra por presentar colonias típicas de *S. aureus*.

Las siembras para identificar colonias de bacterias patógenas específicas solo invalidaron a dos de las muestras, de las cuales una de ellas ya había superado el NMP de BMA y la otra muestra había superado el número de ufc/mL de levaduras y mohos.

## CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Los resultados poco o casi nada alentadores sobre la calidad microbiológica del aceite de tortuga direccionan a planificar un proyecto de intervención en el centro comercial “Pasaje Paquito”, para mejorar las condiciones de dispensación y almacenamiento de los recursos y productos naturales que allí se comercializan.

El aceite de *G. denticulata* “motelo” es comercializado como componente de productos dermocosmético y también artesanal, por lo que es recomendable continuar con estudios que determinen su actividad tanto toxicológica como farmacológica.

Como toda actividad biológica está relacionada a la composición del producto, es pertinente conocer sus propiedades y los componentes de dicho aceite fijo.

## CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Gonzáles Minero FJ, Bravo Díaz L. Historia y actualidad de productos para la piel, cosméticos y fragancias. Especialmente los derivados de las plantas. *Ars Pharm.* 2017; 58(1): p. 5-12.
2. La Región Diario Judicial de Loreto. Municipalidad de Belén apoya al pasaje Paquito. *La Región.* 2015 julio 18.
3. Grupo técnico de expertos en plantas medicinales OPS/OMS Lima-Perú 2018. OPS/PER/19-001. [Online]. [cited 2020 febrero 14. Available from: [www.paho.org](http://www.paho.org).
4. Rojas Ochoa F, Silva Ayçaguer LC, Sansó Soberats F, Alonso Galbán P. El debate sobre la Medicina Natural y Tradicional y sus implicaciones para la salud pública. *Revista Cubana de Salud Pública.* 2013; 39(1): p. 107-123.
5. Abu Shaqra QM, Al-Groom RM. Microbiological quality of hair and skin care cosmetics manufactured in Jordan. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 2012; 69: p. 69-72.
6. Bakker P, Woerdenbag H, Gooskens V, Naafs B, van der Kaaij R, Wieringa N. A formulary of dermatological preparations and background information on therapeutic choices, production and dispensing. 2nd ed. *Histografica S*, editor. The Netherlands: Beta Science Shop; 2012.
7. Pedroza-Padilla CJ, Romero-Tabarez M, Orduz S. Actividad lipolítica de microorganismos aislados de aguas residuales contaminadas con grasas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria.* 2017 enero - junio; 15(1): p. 36-44.
8. USP 39 N. Farmacopea de los Estados Unidos de America Maryland: The United States Pharmacopeial Convention. 2016.
9. Cáceres Cartagena MP. Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales

- comercializados en Lima Metropolitana. Tesis. Universidad Ricardo Palma, Lima; 2018.
- 10 Zeitoun H, Kassem M, Raafat D, AbouShlirb H, Fanaki N. Microbiological testing of pharmaceuticals and cosmetics in Egypt. *BMC Microbiology*. 2015; 15.
  - 11 Cruz Ausejo R, Nájera Gálvez IC. Evaluación del contenido microbiológico y cuantificación de plomo en pinturas faciales infantiles obtenidas en el Mercado Central de Lima. Setiembre 2015. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Farmacia y Bioquímica; 2017.
  - 12 Tapia Proaño TE. Estudio de la manteca de cacao para uso cosmético y desarrollo de productos. Tesis. Universidad de las Americas; 2014.
  - 13 UNEP-WCMC. technical report. [Online].; 2014 [cited 2020 febrero 1].
  - 14 Carbajal-Campos A, Rodriguez-Guerra A. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. [Online].; 2019 [cited 2020 febrero 14. Available from: <https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/FichaEspecie/Chelonoidis%20denticulatus>.
  - 15 Alayo Caruajulca FO. Evaluación del Ratio de Jackson y parámetros hematológicos sobre la condición corporal de tortugas terrestres (*Geochelone denticulata*) en el Zoológico Wildlife y Fish, Trujillo. Tesis. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego, La Libertad; 2019.
  - 16 Rengifo Salgado E, Rios Torres S, Fachín Malaverri 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. *Rev.peru.biol*. 2017 Abril;(1): p. 067-078.
  - 17 Juárez Eyzaguirre JR. Obtención y purificación de la manteca de cerdo: diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos , Lima; 2008.

- 18 Dao H, Lakhani P, Police A, Kallakunta V, Ajjarapu Srinivas S, Kai-Wei W, et al. · Microbial Stability of Pharmaceutical and Cosmetic Products. AAPS Pharm SciTech. 2017.
- 19 Merejildo Ulloa DL, Mozombite Asmat AW. Control de calidad microbiologica de · cremas faciales nutritivas de noche comercializadas en el Distrito de Trujillo-2008. Tesis. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad; 2008.
- 20 Commission BPH. E. coli (Escherichia coli). Infectious Disease Bureau. 2019;; p. · 1-2.
- 21 Gonzales Antonio P. identificación de los genes Stx1, Stx2, eaeA Y hlyA, en cepas · de Escherichia coli aislados de canales y carnes procesadas de ovinos. Tesis. Toluca: Universidad Autónoma del Estado de Mexico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2018.
- 22 Kanta Das K, Kaniz Fatema K, Tun Nur I, Noor R. Prevalence of micro organisms · in commonly used cosmetics samples in Dakha metropolis. JPSI. 2013 Nov-Dec;(6): p. 7-9.
- 23 Cerra H, Fernández MC, Horak C, Lagomarsino M, Tomo G, Zarankin E. Manual · de microbiología aplicada a las industrias farmacéuticas, cosmética y de productos médicos Microbiología AAd, editor. Buenos Aires: División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos Subcomisión de Buenas Prácticas ; 2013.
- 24 Garcia Saucedo M. Análisis microbiológico de productos no estériles y dieteticos · elaborados por la industria farmacéutica nacional. Tesis. Trujillo: Universidad de Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica ; 2013.

**Anexo 1.** Valores del número más probable de microorganismos <sup>8</sup>.

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	

**Anexo 2.** Características morfológicas de las colonias de bacterias específicas en el medio de aislamiento. es un referente para determinar la calidad microbiológica de las muestras a partir de los resultados obtenidos de las diferentes muestras.

<b>Bacteria</b>	<b>Medio Selectivo</b>	<b>Morfología de las colonias</b>
<i>S. aureus</i>	Agar Manitol salado	Color amarillo dorado
<i>P. aeruginosa</i>	Agar Cetrinida	Generalmente verdosas
<i>Salmonella sp.</i>	Agar XLD	Trasparentes con centro negro, Paratyphi A rosadas y las lactosa (-) amarillas con o sin centro negro <sup>4</sup>
<i>Escherichia 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 spp.</i>	Agar Columbia	Generalmente blancas con o sin un halo claro

**Anexo 3.** 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 <sup>3</sup>	Agar Sabouraud dextrosa
<i>S. aureus</i>	Ausente	Agar Manitol salado
<i>P. aeruginosa</i>	Ausente	Agar Cetrinida
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Agar xilosa, lisina, desoxicolato
<i>E. coli</i>	Ausente	Agar Mc Conkey
<i>Clostridium spp.</i>	Ausente	Agar Columbia