

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

**MCC P/A**  
**CRIOTECA®**  
**PLAQUIS®**  
**M-IDENT®**  
**NEOGRAM**

**COSMETIKIT®**  
**CHROMOSALM**  
**KITPRO-PLUS**  
**SEILAGUA®**  
**ENVIROCOUNT**

**DRY PLATES®**  
**DESINFECTEST®**  
**CROMOKIT®**  
**SALMOQUICK**

**MUGPLUS**  
**CCCNT**  
**MBS**  
**AIREANO**

## **MONOGRAFÍA: CURSO DE MICROBIOLOGÍA COSMÉTICA EN LA TERCERA DÉCADA DEL SIGLO XXI: RETIRADAS DE MERCADO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS POR PROBLEMAS MICROBIOLÓGICOS, POR QUÉ SIGUEN SUCEDIENDO Y COMO MINIMIZAR LA PROBABILIDAD DE SUFRIRLAS**

### **1-PRESENTACIÓN DEL CURSO**

El día 8 de Junio de 2022 impartimos en el Hotel Abba Garden de Barcelona el curso que sentó las bases para un importante cambio en el modo de ver la microbiología de cosméticos. Nos ayudaron el Dr. Jose María Esteban Fernández, Microbiólogo, Farmacéutico del Cuerpo de Sanidad Nacional (con bastantes años de experiencia en la inspección farmacéutica de instalaciones cosméticas, farmacéuticas y de productos sanitarios entre otras funciones) y habiendo trabajado, antes de su integración en la Administración General del Estado, en dos de las más importantes industrias farmacéuticas del mundo. Y Dña. Raquel Múrtula Corbí, Directora Técnica de microbiología de la empresa ielab (gr. Aguas de Barcelona), acreditada en ISO 17025 (ensayos de laboratorio), ISO 17034 (materiales de referencia: cepas) e ISO 17043 (ensayos intercomparativos).



Dado que sólo pudieron asistir 11 personas de industrias cosméticas de toda España, todos ellos con una activa participación y considerando este curso de mucha utilidad (según su propia y objetiva valoración). A causa de la importancia de los conocimientos transmitidos, que todos los fabricantes y laboratorios de cosméticos es imperativo que conozcan, ofrecemos ahora el contenido de este curso, en forma de apuntes en esta monografía junto con las presentaciones power point (pasadas a pdf) de los 3 ponentes. Gratis para los asistentes y con un coste de gastos de gestión para los demás que pudieran estar interesados.

Comenzó D. Jorge Sanchis Solera, Director Técnico de MICROKIT, con una exposición de 2 horas acerca de lo aprendido en 17 años de la preparación, organización, gestión y evaluación de un ejercicio de intercomparación único y referente para el control microbiológico en cosméticos (SEILAPARFUM) y la experiencia en estos últimos 4 años de análisis microbiológicos a terceros en su laboratorio KosmLab, con clientes nacionales y de multinacionales que ya habían sufrido retiradas de mercado y saben que no es suficiente con buscar los 4 ó 5 patógenos más habitualmente referidos en microbiología cosmética. Y describió y presentó las soluciones más modernas y sencillas de autocontrol para evitar que la

situación del control microbiológico pueda devenir en un problema si no se hace un control microbiológico más completo y adecuado o, en caso de externalización, mostró la enorme diferencia que ofrece KosmLab con respecto a los demás laboratorios externos.

Tras un breve *coffee break*, siguió el Dr. Esteban con una brillante exposición continuamente interrumpida por preguntas de los asistentes y de los otros dos ponentes. En la que destacó la gran-diferencia entre lo que son los criterios básicos que subyacen en cuanto a seguridad microbiológica (y seguridad en general) en los cosméticos acorde a la legislación actual (Europea, con el Reglamento; y Española, con el Real Decreto); y lo que supone simplemente el aplicar las normas ISO de control microbiológico en cosméticos. Incidiendo en los aspectos del Reglamento Europeo, los criterios de la ISO 22716 (sobre buenas prácticas de fabricación cosmética) y los problemas de falta de un adecuado control para garantizar la, exigida legalmente, seguridad de los cosméticos. Porque uno de los motivos principales de las continuas retiradas de mercado son los problemas por contaminación microbiológica no detectada por las empresas (una media de 3 graves al año sólo en España, retiradas que no sólo desprestigian las marcas implicadas, sino que incluso pueden suponer el cierre cautelar a las empresas fabricantes o bien exigen unas grandes inversiones para solucionar los problemas al no haberlos detectado y prevenido a tiempo). Incidiendo que en España la propia Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) junto a la asociación de industrias cosméticas STANPA, tiene publicada una guía sobre control microbiológico en cosméticos donde muestra múltiples opciones de control microbiológico.

Posteriormente, Dña. Raquel Múrtula Corbí explicó los motivos por los que en industria cosmética también son tan necesarias las cepas de control, para verificar el correcto funcionamiento de los medios de cultivo empleados. Y la imperiosa necesidad de participar en servicios de ejercicios intercomparativos de cosméticos REALES; contaminadas las muestras de manera anónima (“ciegas”) con cepas de microorganismos de interés, que el laboratorio participante no conoce hasta después de enviar sus resultados y recibir el informe global de resultados y calificaciones. MICROKIT pasó este año el relevo de su famoso Seilaparfum a Ielab tras 17 años aprendiendo y enseñando los gravísimos errores que cometen los laboratorios (de autocontrol y externalizados) y cómo evitarlos. Aunque en aguas y alimentos la legislación exige explícitamente en los controles analíticos microbiológicos, el uso de cepas de control y la participación en ensayos intercomparativos. El campo de la cosmética deja mucho más abiertas las opciones y por tanto más campo a la subjetividad, si tenemos en cuenta que la legislación lo resume en una simple pero contundente frase “garantizar la seguridad del cosmético”.

Tras la comida, se realizó un simulacro de prácticas de “seguridad microbiológica de cosméticos”: se analizó un gel de baño con los métodos propuestos por MICROKIT/KosmLab, aprendidos gracias a 17 años de coordinación del intercomparativo Seilaparfum, recalcando las enormes diferencias con el método que usa el 95% de la industria cosmética actual (normas ISO de control microbiológico, que no cubren todo el espectro necesario de microorganismos de interés en la cosmética), y que implican la diferencia entre la obtención de rendimientos de 4-6 aciertos sobre 10 parámetros microbiológicos, y la excelencia conseguida con resultados de 9-10 sobre 10 cuando se aplican métodos de control validados como los que se presentó durante el curso, no necesariamente normalizados ISO (acorde a lo que bien recoge la citada guía de la AEMPS/STANPA sobre la posibilidad de utilizar diferentes métodos). Siguieron prácticas sobre la mejor forma de analizar las aguas de uso cosmético sin olvidar los dos

patógenos emergentes que el agua transmite al cosmético, y sin necesidad de equipos de filtración. Acto seguido se realizaron prácticas de instalaciones: superficies por 3 métodos : rascado, contacto y métodos rápidos indirectos); y aire por dos métodos: sedimentación pasiva (incidiendo en los dos mayores errores que se comete por parte del personal de la industria cosmética a la hora de esta toma de muestras); y muestreo por impacto (con muestreador).

Para finalizar, comenzó el DEBATE con una pregunta sobre cuál es la muestra mínima que se considera representativa de un lote, si se pueden extrapolar los resultados de unos lotes a otros, y siguió con infinidad de preguntas que aclararon a los asistentes sus dudas sobre los motivos por los que sigue habiendo tantas retiradas de mercado de cosméticos por problemas de contaminación microbiana.

Como resumen: **¿Por qué sigue habiendo una media de 3 alertas importantes al año en España, con sanciones y/o retiradas, por problemas microbiológicos (aparezcan o no en el RAPEX)?** Queremos que sea consciente de que su fábrica está arriesgando mucho ante posibles sanciones administrativas

e incluso penales (no sólo ante posibles retiradas de mercado que desprestigian la marca afectada, sino porque se diera el grave problema de afectar a la salud pública) por el hecho de seguir procedimientos de control microbiológico incompletos (sea en autocontrol, sea en externalización) que no garantizan la seguridad microbiológica del cosmético. Ante la vía penal, sólo una fabricación acorde a las normas de correcta fabricación, una completa trazabilidad, muestreo adecuado, controles validados y resultados fiables respecto al producto, te pueden salvar.

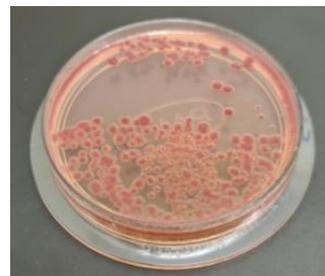


Esta enorme discrepancia entre lo legislado y lo que se hace actualmente por error en muchas de las industrias cosméticas españolas, es lo que puede provocar retiradas de mercado



Y aunque llevábamos años planteando el problema, ahora además hemos conseguido la solución, tanto en autocontrol como en externalización:

Si autocontrola, hay un nuevo medio de cultivo cromogénico para industria cosmética (de diseño análogo al UTI cromogénico que revolucionó la microbiología clínica hace una década), y que con sólo añadirlo a su rutina, detectará cualquiera de los patógenos típicamente cosméticos que no está analizando todavía y que son los que provocan las retiradas de mercado.

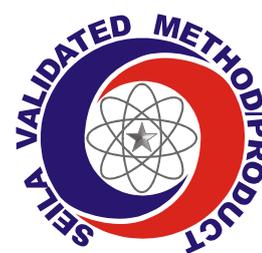
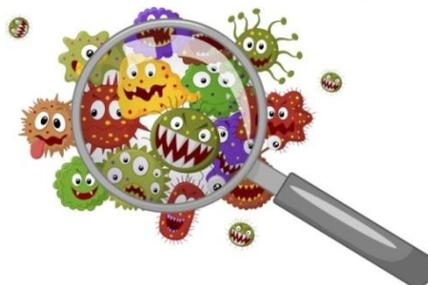


Si externaliza sus muestras en microbiología, recuerde que lo único que le garantiza un laboratorio acreditado por la ISO 17025 es que sigue al pie de la letra unas Normas ISO que están demostrando desde que nacieron que no son el mejor método y además, son sumamente incompletas; pero sobre todo, sus informes no avalan la preceptiva seguridad microbiológica que le exige la legislación. En KosmLab encontrará el aliado que necesita para prevenir retiradas de mercado y sanciones; y que estos informes analíticos realmente le sirvan,

en caso de litigio, para demostrar que hizo todo lo que el estado actual de la ciencia puede hacer para garantizar la seguridad microbiológica de su cosmético.

## 2-PROFUNDIZANDO EN LOS PROBLEMAS: LO QUE NOS ENSEÑÓ LA INTERCOMPARACIÓN

Podemos resumir lo que nos enseñó Seilaparfum, tanto a Microkit como coordinadores del ejercicio (17 años, 51 rondas), como a los participantes; en una frase: **“el control microbiológico de cosméticos sufre de numerosos resultados falsamente negativos por aplicación de métodos comunes, arcaicos, poco contrastados, erróneamente derivados de microbiología clínica y alimentaria; y si no conocemos todos los puntos críticos del análisis microbiológico cosmético, podemos obtener hasta un 100% de falsos negativos, cuando los resultados de intercomparación y de externalización (en seguridad microbiológica de cosméticos) nos dicen claramente que en la actualidad, una media de 1 de cada 10 muestras presenta problemas microbiológicos serios”**. La microbiología cosmética no es tan “aburrida” (por ausencia de resultados de patógenos) como la mayoría de industrias cosméticas dicen. Esta afirmación no gusta nada a la industria cosmética, acostumbrada a que prácticamente todos los lotes fabricados puedan venderse, porque ni en autocontrol ni en externalización se están detectando esos problemas microbiológicos. Pero si se tiene en cuenta la frecuencia de muestreo de mercado por parte de las autoridades sanitarias y la proporción de expedientes, sanciones y retiradas derivadas de dicho muestreo, se comprende que el problema está muy lejos de ser eventual y “de otros”. Conformarse con mostrar un “informe analítico” sobre una pequeña muestra tomada sin criterio de muestreo trazable y representativo, incluso si su laboratorio tercero de control presume de que está acreditado en la ISO 17025 y se piensa que eso podrá servir ante un inspector de las Administraciones competentes, se está muy equivocado. Así casi nunca nadie sabrá detectar cuáles eran esos problemas que pudiera estar sufriendo. Pero ese documento no le servirá de nada cuando se manifieste un problema en un cliente (erupciones cutáneas, infecciones, amputaciones de miembros e incluso la muerte, como pudiera ocurrir en un cosmético contaminado), ya que se abre la vía administrativa e incluso la vía penal. Y ahí más vale que se pueda demostrar la “seguridad microbiológica del cosmético”, es decir, que se analizó una muestra representativa del lote y que se ensayaron con métodos validados todos los microorganismos que razonablemente podían provocar problemas en los usuarios de ese cosmético concreto (y no quedarse en que se sigue una ISO 17025 y normas ISO microbiológicas que no normalizan el control en todos los parámetros microbiológicos necesarios). Esta es la cruda realidad. Y ahora ya lo sabe. ¡Implante los cambios necesarios antes de que sea demasiado tarde!



Dada nuestra posición privilegiada en MICROKIT, al conocer los problemas reales del día a día gracias al inter Seilaparfum, problemas que quedan enmascarados a quienes no participan en servicios intercomparativos de muestras ciegas de cosméticos reales; y a la vez ser diseñadores de medios; en las últimas décadas hemos tenido el honor de resolver muchos

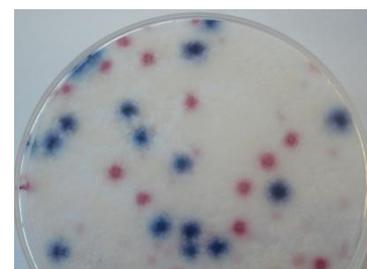
de estos problemas (como se manifiesta con la excelencia de resultados de los participantes veteranos con respecto a las calificaciones mediocres o deficientes de los participantes noveles que todavía no conocían estos problemas). A menudo un simple cambio de medio de cultivo ha resuelto la situación: por ejemplo el uso del moderno cromogénico MugPlus Agar, en vez del medio clínico MacConkey Agar o del medio alimentario EMB Levine Agar. Y otras veces ha habido que cambiar el protocolo entero. Pero uno de los cambios más relevantes fue el paso generalizado de los participantes en Seilaparfum del caldo Eugon o del Lethen mejorado, al diseñado en estos últimos 17 años y continuamente mejorado LPT Neutralizing Broth, que demostró en el 93% de las matrices cosméticas, detectar mejor los patógenos que cualquier otro caldo neutralizante y/o de enriquecimiento.

Tras la primera ronda Seilaparfum, allá por Febrero de 2005, quedó en evidencia que siguiendo los protocolos analíticos derivados de Farmacopea en esas fechas, del Manual para el control microbiológico de productos cosméticos editado por el Ministerio de Sanidad de 1994 y empezar a extenderse el uso de las Norma ISO de microbiología de cosméticos que estaban redactándose en esos momentos, los participantes obtenían una media de 3 fallos de cada 10 parámetros. Era evidente que algo grave fallaba ¡30% de falsos negativos y/o falsos positivos! En las siguientes rondas las cosas no mejoraban y había que hacer algo. La implantación de la mayoría de participantes del LPT Neutralizing Broth de MICROKIT en 8 generaciones cada vez más optimizadas, mejoró drásticamente los resultados globales de las siguientes rondas, pero seguíamos sin conseguir el anhelado 10 global.



Aconsejamos entonces a los laboratorios participantes que no se conformaran con la mejor neutralización de los conservantes y enriquecimiento de patógenos demostrados hasta hoy (LPT Neutralizing Broth), y que dejaran de usar medios selectivos de aislamiento final, para empezar a emplear medios diferenciales (los medios cromogénicos, más diferenciales que selectivos, ya estaban creándose a nivel mundial). Porque los medios selectivos tienen un grave problema: eliminan flora acompañante, pero también reducen drásticamente la concentración y viabilidad del microorganismo buscado (incluso la ISO 11133-2 de control de calidad de medios lo admite, consintiendo una productividad del 50% de la carga inoculada de microorganismo diana en medios selectivos). Y porque la idiosincrasia de la microbiología de cosméticos radica en que los microorganismos en los cosméticos, a diferencia de los clínicos (que están en fase exponencial de crecimiento) y de los alimentarios (que tienen una alta carga de microbiota acompañante), en cosméticos están en fase letárgica, de estrés, subletalidad... y sin microorganismos interferentes; e incluso tras una buena neutralización de los conservantes y un buen enriquecimiento, estriarlos en medios selectivos puede volver a retraerlos y que no se manifiesten, dando lugar a falsos negativos.

El MugPlus Agar diseñado por MICROKIT para aguas en 1989 empezó a ser usado por muchos participantes en los intercomparativos de alimentos y de cosméticos como sustituto de los medios clásicos de coliformes-*E.coli* y demostró desde el principio la excelencia de sus resultados en casi todas las matrices (no sólo en aguas, también en alimentos y en

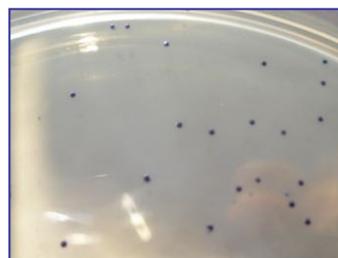


cosméticos). Actualmente es el medio oficial en aguas con el nombre de CCA.



Seguía el medio cromogénico de *Candida*, diseñado para clínica, que no aportó mejoras con respecto al clásico Biggy en cosmética, al revés, provocó numerosos errores a sus usuarios, que finalmente volvieron al Biggy.

Después el Baird Parker y el Mannitol para estafilococos fueron paulatinamente siendo sustituidos por 3 generaciones de mejoras del XStaph cromogénico de MICROKIT hasta llegar a la generación actual, que funciona mejor detectando en la mayoría de matrices cosméticas frente a Baird Parker y a Mannitol. Aunque los estafilococos siguen siendo el mayor problema general de detección en cosméticos, tras la *Burkholderia cepacia*. Y quizá vale la pena emplear ambos medios (XStaph y Baird Parker), ya que en unas matrices se comporta mejor uno y en otras el otro.



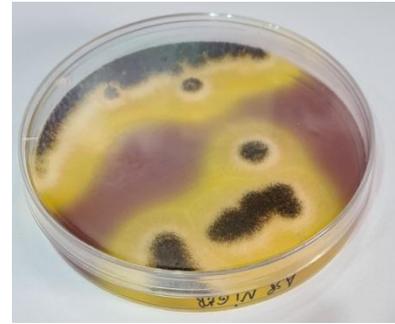
El medio Cetrimida Agar no parecía necesitar mejoras, ya que todos los participantes encontraban adecuadamente la *Pseudomonas aeruginosa*, excepto si se usaban marcas de reactivos de microbiología clínica que tenían una composición más selectiva y daban falsos negativos, sobre todo si se incubaban a 42°C como decían esos protocolos clínicos, en vez de a los 35°C clásicos de la cosmética. Aunque sí que mejoramos algo en el Cetrimida clásico para aguas (Cetrimida CN cromogénico) y lo aplicamos después al Cetrimida clásico con fórmula para medicamentos y cosméticos: la adición de un cromógeno alertaba de la presencia de *Pseudomonas* en sólo 18-24 h, en vez de tener que esperar 48 h de incubación (aunque hay que confirmar después los positivos por su fluorescencia, pero ahorramos 24 horas en todos los negativos).



La *Burkholderia cepacia* ha sido desde el inicio el gran problema de los participantes, no sólo por sus falsos negativos, sino también por su continua confusión con *Pseudomonas aeruginosa*, se usara el medio que se usara. Tras emplear BCPT Agar (piruvato, colonias fucsia sobre medio salmón), el mismo en su versión cromogénica (colonias rojas sobre medio fucsia) y el BCSA Farmacopea (colonias violetas sobre medio naranja), las cosas siguen igual. MICROKIT acaba de lanzar su BCSA cromogénico (colonias lila sobre fondo blanco, traslúcido), que esperamos acabe con este caos; aun no hay experiencia intercomparativa con este último medio, pero en la externalización KosmLab, en la que usamos ambos medios cromogénicos, ya hemos encontrado algunos casos donde este microorganismo es capaz de crecer en uno de los dos medios y en el otro no, por lo que la seguridad aconseja emplear ambos (como sucede con *Salmonella*, con tantas cepas diferentes como *Burkholderia*, y en la que un solo medio ya no es oficialmente suficiente).



El recuento de hongos se hace en medios tan obsoletos ¡diseñados en el siglo XIX! que retrasa los resultados del análisis hasta una semana. Esto dejará de ser así si emplea Rapid-YM Agar, un medio violeta que le alerta en las primeras 18 horas de la presencia de hongos (levaduras y mohos) por viraje a amarillo en los puntos donde mañana (o como tarde pasado mañana) ya verá las colonias típicas.



Otro aspecto interesante que descubrimos junto a todos los estimados participantes en Seilaparfum, es el porqué de los recuentos tan dispares entre unos y otros laboratorios en el parámetro de recuento de hongos. Y lo descubrimos al observar esta foto de una solución de *Aspergillus niger*, donde se ve claramente como las esporas negras de mohos flotan en cuestión de segundos. Si no tenemos esta verdad en cuenta y no agitamos cada vez inmediatamente antes de tomar cada alícuota en las diluciones y en el paso a placa, al tomar la muestra del centro del tubo o frasco, estaremos tomando muchísimas menos esporas o células de mohos que las que hay en realidad y obtendremos recuentos muy bajos, o incluso un resultado falsamente negativo si hemos esperado mas de unos minutos tras agitar.



*Esporas de moho concentradas en la superficie del caldo en sólo 30 segundos; si no agitamos entre cada dos siembras, los recuentos de inóculos tomados a media altura serán ínfimos respecto a la realidad, o incluso no detectaremos.*

Otra conclusión muy importante de los inters Seilaparfum es que a menudo, no es el método alternativo el que falla o deja de fallar, sino su implantación en los diferentes laboratorios (¿falta validación?), en algunos de los cuales falta una implementación adecuada del método mientras en otros obtienen mejores resultados que el método clásico. Casi todos los métodos alternativos que están en el mercado actual funcionan al menos igual de bien que el método estándar, estén o no validados internacionalmente con “validación acreditada ISO 16140”, y siempre que el analista esté bien entrenado para usarlo. Insistimos en la necesidad de la “validación *in house*” de cualquier método de control microbiológico cosmético usado por el laboratorio de ensayo (esté o no acreditado).

Y por supuesto, hemos aprendido que el hecho de participar en estos inters proporciona a los laboratorios participantes una herramienta excepcional para la mejora de la calidad de sus análisis; de modo que la carencia de participación de la mayoría de laboratorios en inters, los enquistó en el siglo pasado, por muy a rajatabla que sigan una parte de la detección de patógenos bajo los métodos descritos en las “ISO” y por mucho que demuestren seguirlos a la perfección. Porque ningún método ISO es infalible para todo tipo de matrices y si no lo sabemos, ni lo tenemos en cuenta, nunca lo solucionaremos. Y porque no hay sólo 4 posibles patógenos en cosméticos.

No se puede resumir en un simple monográfico todo lo que hemos aprendido en 17 años de intercomparación, pero hemos intentado esbozar los problemas más generalizados en control microbiológico de cosméticos y las soluciones que ya están al alcance de la mano de cualquier laboratorio que prefiera cambiar todos sus protocolos desde su primer paso (solución madre) hasta el final (aislamiento en agares diferenciales, no selectivos), a

arriesgarse y seguir obteniendo resultados con inmensa incertidumbre a causa de problemas que hasta ahora probablemente le eran completamente desconocidos, pero ahora ya sabe no sólo que existen, sino además que los puede solucionar de forma muy sencilla y económica.

Una vez pasado el relevo Seilaparfum a Ielab con su novedoso inter de cosméticos, en la primera ronda los resultados no han sido tan buenos como los de los últimos Seilaparfums (en los que todos los participantes empleaban ya el método validado por intercomparación que hemos denominado “método Seilaparfum” por haber nacido del mismo y con el cual obtenían medias de entre 9 y 10/10). Lo cual recuerda, con un 27% de falsos negativos, aquél 30% de las primeras rondas Seilaparfum. Es lógico, al haber sólo un 25% de participantes heredados de Seilaparfum que han empleado su método validado con LPT Neutralizing Broth y demás mejoras, y un 75% de participantes noveles que han empleado el “método ISO” con Eugon, Letheen mejorado u otros caldos inactivadores y de enriquecimiento más pobres, y sin las mejoras que hemos aprendido los demás en Seilaparfum. El único laboratorio que obtiene calificación de excelencia (100% de aciertos) usó LPT Neutralizing Broth y el método Seilaparfum a rajatabla. Lo que todo esto demuestra es que independientemente de quien coordine los intercomparativos, la aplicación de los métodos analíticos más comunes no da tan buenos resultados como los métodos optimizados gracias a 17 años de Seilaparfum.



### 3-OTRO PROBLEMA AÑADIDO: ¿DILUCIÓN 1:10 Ó DILUCIÓN 1:100? ¡AMBAS!

Pero los resultados comparados entre usar o no usar LPT Neutralizing Broth no arrojaron un 100% de correlación con la excelencia de resultados, sino un 93% (está genial, pero todo es mejorable), de modo que había otro factor que no se tenía en cuenta y se nos escapaba. Hasta que tuvimos la iluminación de emplear como matriz en el otro inter Seilalimentos, una salmuera y los fatales resultados generales se repitieron al emplear como

matriz una jalea (ambas tenían en común gran cantidad de sales o de azúcares que provocaban un choque osmótico letal en la solución madre) y también al emplear como matriz directamente especias. En el histórico de Seilalimentos, los



*Paradoja del poder inhibitorio intrínseco de muchos cosméticos incluso tras la neutralización de los conservantes: Abajo, madre (-1) con 10 veces menos colonias que arriba, dilución -2*

laboratorios que fueron capaces de conseguir las máximas calificaciones de rendimiento (detectar el máximo número de microorganismos inoculados) en este tipo de matrices muy inhibitorias, tenían algo en común: partían no sólo de la dilución madre (-1) en su caldo de enriquecimiento, sino que además, duplicaban todo el ensayo desde su dilución mayor (-2). En la foto observamos esta paradoja de obtener mayores recuentos a mayores diluciones, que ha quebrado la lógica de más de un microbiólogo de alimentos, hasta el punto de “decidir” que había marcado al revés las placas.

Hemos aplicado esta modificación del protocolo de alimentos a cosméticos recientemente en KosmLab y los resultados no pueden ser más alarmantes: hay muestras donde sólo detectamos un patógeno en la (-1) y otras en donde sólo lo detectamos en la (-2), por lo que no podemos prescindir de ninguna de ellas. Raramente detectamos el patógeno en ambas diluciones. Depende del poder inhibitorio intrínseco del cosmético concreto, en un lado de la balanza, y de la carga del patógeno por gramo en el otro lado de la balanza. Y el equilibrio es muy inestable. De modo que hemos de partir de los clásicos 10 g de cosmético en 90 mL de LPT Neutralizing Broth y además de 1 g de cosmético en 99 mL de LPT Neutralizing Broth. Todo esto duplica el trabajo y coste, pero sólo en el caldo de enriquecimiento, ya que tras enriquecer, podemos estriar en una misma placa los dos caldos enriquecidos, por ejemplo una estría de la (-1) en la mitad izquierda de la placa y otra estría de la (-2) en la mitad derecha de la placa. Y así para todas las placas diferenciales que usemos para los diferentes patógenos que busquemos, por lo que no gastamos el doble de placas, sino exactamente las mismas. Pero... ¿cuáles son todos estos patógenos?

#### **4-EL MAYOR PROBLEMA: NO ESTAMOS BUSCANDO LO QUE NOS PIDE LA LEGISLACIÓN**

La mayoría de laboratorios cosméticos que visitamos, a nuestra pregunta ¿Qué os pide la legislación en microbiología de cosméticos? Cambian el chip, se olvidan de lo que es legislación (La europea del Reglamento CE Nº 1223/2009 y la española del Real Decreto 85/2018 de 23 de febrero) y se ponen a hablar de Normas Técnicas (ISO) de microbiología cosmética que no son de obligado cumplimiento. Eso explica claramente por qué sufre la industria cosmética española tantas retiradas de mercado por problemas microbiológicos: ¡NO están buscando lo que les pide la legislación! ¡Acabemos con esta confusión! La legislación exige ¡LA SEGURIDAD DE SU COSMÉTICO! No solo un determinado grupo de microorganismos. Es decir: uno debe conocer y evaluar los riesgos de SU cosmético y obrar en consecuencia a la hora de decidir qué analizar y cómo controlar.

¿Por qué sigue habiendo retiradas de mercado por problemas microbiológicos, cuando todos los laboratorios (sean de autocontrol, sean de externalización) siguen las Normas ISO de microbiología cosmética? Porque éstas, ni son obligatorias, ni son suficientes. Es más, dan una falsa sensación de seguridad que no proporcionan. Aquí está la gran confusión:

Legislación OBLIGATORIA *versus* Normativa Técnica NO OBLIGATORIA.

La única Norma Técnica ISO que exige la Legislación a la industria cosmética (porque es la única que está publicada en el DOUE-Diario Oficial de la Unión Europea) es la ISO 22716 de Buenas Prácticas de Fabricación Cosmética (BPFc/GMPc), que además su origen no es el sistema ISO, sino en las Normas de Correcta Fabricación farmacéuticas, a las que se dio formato ISO por cuestiones en las que es mejor no entrar.

Lo que exige la legislación es la **seguridad del cosmético**, y dentro de esta seguridad, el capítulo de microbiología queda abierto a la subjetividad, dejando abierto el legislador la exigencia de esta garantía de seguridad ante la posible aparición de nuevos patógenos en el mundo cosmético, ante la continua y rápida evolución de este sector y los productos e ingredientes utilizados. Pero lo cierto es que las alertas sanitarias de cosméticos (acaben o no en retiradas y sanciones) se deben casi siempre a patógenos que no son ninguno de los 4 que tienen una Norma ISO específica de control microbiológico.

Pero patógenos y/o microorganismo que puedan afectar a la seguridad de un cosmético hay muchísimos. La lógica nos indica que había que buscar un punto de inflexión para analizar sólo los patógenos que sea razonablemente habitual encontrar en productos cosméticos. Y ¿qué mejor que acudir a los que han provocado ya retiradas de mercado de cosméticos? Aparte de “los 4” (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *E.coli*) que



todo el mundo busca, hay que buscar también el microorganismo que más retiradas provoca (*Burkholderia cepacia*), como llevamos décadas diciendo; y el segundo que más retiradas provoca (*Aspergillus spp.* patógenos, como *A. flavus* o *A. fumigatus*);



y el tercero más frecuente (*Pluralibacter gergoviae*); y todos las demás patógenos que han generado alguna retirada de cosméticos a nivel internacional: *Pseudomonas putida*, estafilococos “no-aureus” que son coagulasa positivos,



Enterococos fecales, patógenos *Enterobacter spp.*,



coliformes diferentes a *E.coli* (*Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, etc.), Enterobacterias

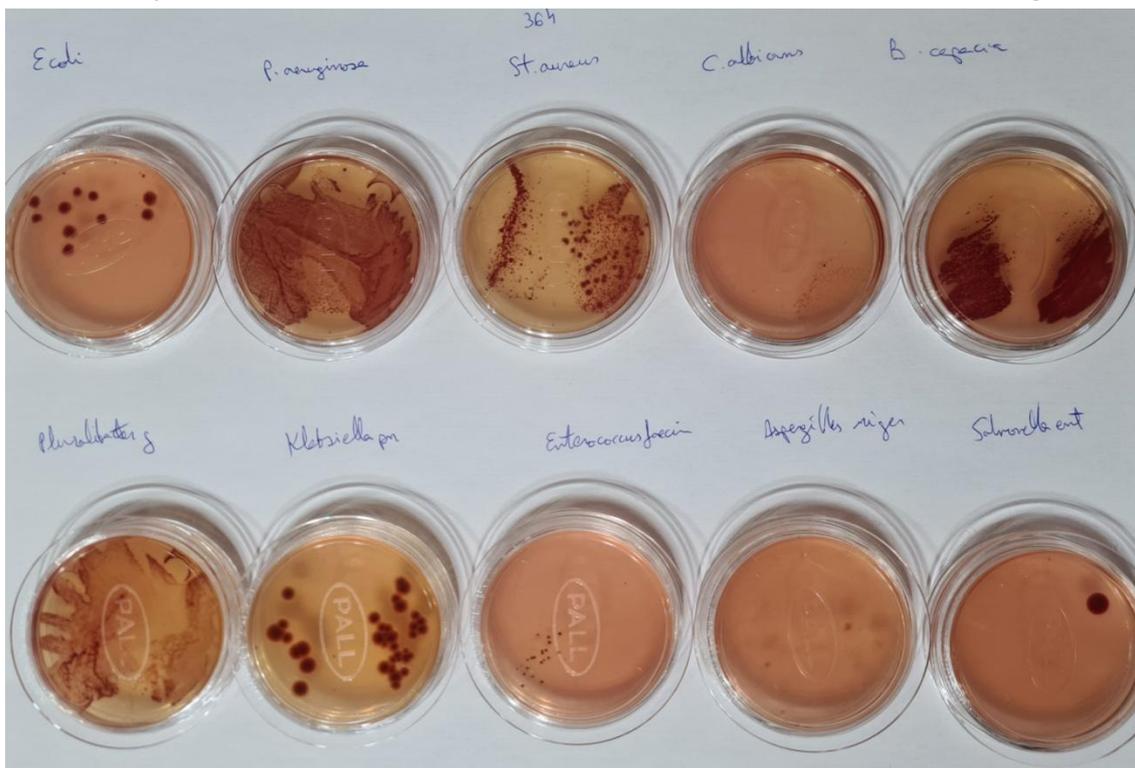


patógenas que no suelen comportarse como coliformes (*Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Pantoea spp.*, etc.). Suena como para volverse loco, 18 patógenos (en realidad 13 si agrupamos los coliformes y las demás Enterobacterias en estos dos grupos) aunque KosmLab soluciona su control con sólo 8 modernos medios de cultivo. La buena noticia es que ahora, desde la creación del Agar CUP12A, todo se soluciona simplemente añadiendo a los 4 medios de los “patógenos que cubren las ISO”, este nuevo medio de cultivo, capaz de detectar 12 de los 13 patógenos (de ahí su nombre), de modo que para los minimalistas, bastaría con usar CUP12A y el medio para estafilococos (aunque aconsejamos que cada laboratorio valide el uso de CUP12A como sustituto de los tres medios para *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *E.coli* antes de prescindir de éstos). Pero incluso sin prescindir de estos 3 medios, se trataría tan sólo de añadir el nuevo medio CUP12A a los 4 medios que ya usa el 95% de laboratorios cosméticos de España. Esto no es magia, es la realidad que lleva contrastando KosmLab desde hace ya 6 meses en todas las muestras que recibe para analizar. La concordancia entre los resultados de los distintos medios para patógenos y el CUP12A es espectacular (99,17% de eficiencia) tanto en su componente sensibilidad como en su componente especificidad, es decir, prácticamente no hay falsos positivos que nos hagan perder tiempo, ni falsos negativos que nos hagan perder la fé en el CUP12A.

No todos los cosméticos demuestran su seguridad microbiológica sólo por no contener patógenos; por ejemplo una crema antiacné también debería estar exenta de *St.epidermidis*; ha habido retiradas por *Ps.fluorescens* (no patógeno) porque estaba en proporciones elevadas; y así podríamos seguir. También el *Challenge* test debería incluir los microorganismos que pueden crear problemas en el cosmético concreto, no sólo los 5 mencionados en la bibliografía existente. Porque a fuerza de ser pesados, hemos de insistir que uno debe garantizar la seguridad de SU cosmético.

Si otros laboratorios le dan un informe de 4 patógenos (y 2 recuentos) por 18-29 €, ¿Cuánto debería costar un informe de 13 patógenos (y 2 recuentos)? Regla del tres: 4 patógenos es a 18 € como 13 patógenos es a... 58,50 €/muestra en el caso más barato y 94,25 € en el otro caso. Nadie se va a arruinar por pagar a un laboratorio externo los 47,62 € que KosmLab cobra por muestra en 2022 en su análisis para dotar de una SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA del cosmético. No hablamos de cambiar de 18-29 € a 200 ó 500 €. Pero sí hablamos de cambiar de un informe que no le valdrá para nada en caso de litigio, a un informe que hará reconocer a la inspección sanitaria y/o al perito judicial y por ende al juez, que su fábrica está haciendo todo lo posible, en el estado de conocimiento actual de la ciencia, por conseguir y demostrar la seguridad microbiológica de sus cosméticos. Tenemos ejemplos de ambos extremos: juicios en los que, por demostrarse que se ha hecho todo lo posible por la seguridad microbiológica pero ha habido un fallo humano, no ha habido sanción o ha sido sólo una multa testimonial; y juicios con cárcel, inhabilitación permanente y cierre de instalaciones por el mismo patógeno en fábricas que no han hecho nada más que seguir el erróneo e insuficiente criterio de “sólo ensayos bajo normas ISO”. Aquí es donde se valora realmente si 47,62 €/análisis es caro, si hay que conformarse con analizar bien sólo un % de los lotes, si enviar las muestras a analizar a un laboratorio ISO 17025 sirve para algo y si este curso puede ser o no el antes y el después de las retiradas de mercado de productos cosméticos.

Hay una Norma ISO de microbiología cosmética, que siendo la más olvidada por los laboratorios cosméticos, es la mejor para no centrarse en sólo 4 patógenos, aunque adolece de un trabajo excesivo de identificación: la ISO 18415 de detección de microorganismos



CUPI2A detecta TODOS los patógenos que han generado retiradas de productos cosméticos, excepto algunas cepas de *Staphylococcus aureus*.

específicos y no específicos por estría en TSA tras enriquecimiento. Modificándola por sustitución del TSA (medio general en el que salen además de los patógenos, todos los inoos, que tanto trabajo de identificación posterior generan), con CUP12A y el medio para estafilococos coagulasa positivos.

## 5-OTRAS CONSIDERACIONES

NADIE puede exigirle a una industria que no haga autocontrol, ya que eso contradice sus intereses en obtener resultados más rápidos, económicos, confidenciales... y también contradice la única Norma ISO de obligado cumplimiento, la ISO 22716 de BPFc.



Si prefiere externalizar, por ahorrar trabajo/laboratorio interno y por tener informes firmados por profesionales externos, según donde externalice, eso no le exime de la incertidumbre de los correctos resultados, y no podrá implantar estas mejoras que le hemos explicado en el curso, por lo que seguirá dependiendo del azar (si externaliza en KosmLab sí que tendrá análisis que pueden ayudarle a la evaluación de SU seguridad microbiológica). ¿Quién merece que le envíe sus muestras a analizar? No elija el laboratorio más barato, ni el más famoso, sino el que mejores y más completos informes le entregue y mejores resultados le demuestre que obtiene en intercomparación, la única “medalla” que demuestra algo... ¡haga una prueba previa!



Si prefiere autocontrolar en su propio laboratorio en planta, recuerde que la filosofía BPFc (GMP) le exige además de analizar bien la muestra final, tener un control de aguas, instalaciones, envases, operarios, métodos de muestreo, validaciones, etc. Y eso nadie lo hará mejor que Ud. En Microkit le ofrecemos las mejores herramientas para autocontrol de producto terminado y de instalaciones.

Externalice o autocontrole (lo ideal es autocontrolar y externalizar parte de las muestras para contraste), en caso de litigio le van a exigir que demuestre cómo asegura la representatividad y trazabilidad de cada lote, así que si no tiene el protocolo/procedimiento detallado escrito de este tema, hágalo de inmediato. Ya sabe que en cualquier lote, debe analizar al menos 10 g de una mezcla del principio, del medio y del final del lote, y en lotes más grandes, aplicando criterios estadísticamente representativos. Y ya sabe que la raíz cuadrada del número de lotes o un % del número de lotes no es suficiente, debería analizarlos TODOS. Además se debe analizar el cosmético en su envase final, ya que es el que tiene contacto directo con el producto, pues en muchas ocasiones no se limpian los envases y no hay una garantía que vengan limpios de origen.

El informe ajeno sólo sirve para tener una limitada referencia, pero si hay un problema en el consumidor, ahí sí que más nos vale haber hecho las cosas “mejor que bien”, mejor que la mayoría, tal y como indicamos en todo este curso: de nada le va a servir decir que analiza bajo ISO 17025 o que controla siguiendo las Normas ISO de microbiología cosmética.

Y si quien le inspecciona no conoce el CUP12A, infórmele con su folleto, porque dentro de una década, será el medio de cultivo más famoso en microbiología cosmética, ¡lo mismo que sucedió con el UTI Agar en microbiología clínica! Y recuérdeme que también hay una Norma ISO que aconseja el uso de métodos alternativos: ISO 17381:2012 (S.XXI). Y que el CUP12A es el sustituto perfecto del TSA en la ISO 18415 de organismos especificados y no especificados, ya que ahorra un 90% de las confirmaciones que en TSA acaban siendo microorganismos inocuos: pérdida tremenda de tiempo y de recursos.



Sigue habiendo fábricas que ni siquiera buscan “los 4 patógenos”, se conforman con realizar los dos recuentos, una mala práctica que ha llevado ya a varias empresas al cierre de instalaciones. Porque los patógenos se suelen encontrar en bajas proporciones y no se detectan sin previo enriquecimiento, es decir, no se detectan por la siembra directa en los recuentos. Puede haber, igual que en las aguas, recuentos “0”, y sin embargo presencia de algún patógeno (< 1 ufc/100 mL, además en el habitual estado “subvital” en los cosméticos)

El enriquecimiento para patógenos de 18-24 horas en el caldo neutralizante sólo es suficiente para *E.coli*, algunos otros coliformes y algunas otras enterobacterias. Ni las *Pseudomonas*, ni los estafilococos, ni la *Candida*, ni los otros hongos patógenos, ni las otras bacterias patógenas, son capaces de replicarse lo suficiente en ese tiempo, como para luego aparecer en la estría de los medios agarizados (y aún menos si usamos asas de 1µL en vez de asas de 10 µL), y necesitan un enriquecimiento de 36-48 horas. De modo que resulta más fácil y práctico enriquecer 36-48 horas en todos los parámetros de patógenos, incluidos *E.coli*-coliformes. Enriquecer 18-24 horas en todos los parámetros es un grave error que ha costado caro a varias industrias cosméticas, por los frecuentísimos falsos negativos que esto genera.

La proporción de falsos negativos en la industria cosmética actual es de nada menos que un 10%: ¡Uno de cada 10 lotes fabricados contiene algún patógeno! y si su laboratorio (de autocontrol, o externalizado) siempre le dice que todo está bien, debe plantearse si está consiguiendo y demostrando la seguridad microbiológica que le exige la legislación.

**10%**

La cosmetovigilancia oficial (cuando la persona responsable: fabricante, importador o marca; no toma las medidas oportunas) se divide en pasiva (por denuncias del consumidor) y activa (por muestreos en el mercado tanto por la propia empresa como de la AEMPS y de las CCAA). No se arriesgue a que un cosmético suyo sea analizado oficialmente y se le detecte un patógeno que ni Ud. ni su laboratorio externo han buscado sólo por el hecho de que no tiene Norma ISO asociada.



El número de recipientes muestreados y el tamaño de la muestra deben estar basados en un PLAN DE MUESTREO protocolizado y validado, donde se tenga en cuenta el tamaño del

lote y el riesgo asumido sobre el producto concreto. En caso de problemas se lo van a pedir, y tenerlo bien redactado, o improvisarlo sobre la marcha, es la diferencia entre salir airosos o no. Los envases para el muestreo se pueden tomar al azar, por muestreo doble o múltiple, por muestreo aleatorio o estratificado, por muestreo intermitente o incluso por tablas de muestreo por atributos de reconocida eficiencia, debiendo demostrarse en cualquiera de los casos elegidos, la representatividad del lote, y haber validado la sistemática de muestreo y su representatividad. Este es un punto fundamental de dicho PLAN DE MUESTREO, hay que tener justificado por escrito por qué se envía/analiza el volumen y número de muestras que se envía/analiza. Debe analizarse TODOS los lotes, por pequeños que éstos sean, ya que en caso de problemas, nos van a pedir los informes de ese lote, no de los otros lotes.

Se debe analizar el cosmético enviado en su envase final, ya que es el que tiene contacto directo con el producto. Esto lógicamente no sería razonable en externalización si los envases mínimos son de 5 ó más Litros, pero en tal caso hay que dejar clara constancia del tamaño del recipiente original del que sale la muestra que se envía a analizar.

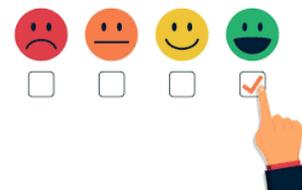


La muestra debe mantener su trazabilidad hasta el informe analítico, con nombre del producto, lote, operario que tomó la muestra, fecha de la toma de muestra y documento que acompañe la muestra con su identificación completa.

Los métodos analíticos deben estar validados (incluyendo la cualificación del personal que los realiza). La participación de ensayos intercomparativos es una de las mejores herramientas para garantizar la fiabilidad y localizar posibles puntos críticos en los métodos analíticos. En KosmLab empleamos el método validado por intercomparación "Seilaparfum". Hemos participado en todas las rondas Seilaparfum desde nuestra creación en 2019 y estamos participando en todas las rondas ielab que lo sustituyen. Además estamos orgullosos de ser el laboratorio con mayor puntuación de excelencia en todas las rondas, tanto en Seilaparfum como en ielab. En caso de problemas administrativos o penales, los clientes de KosmLab están autorizados a pedirnos los informes y nuestro número secreto de participación que demuestren a las autoridades que hacemos los análisis microbiológicos mejor que nadie.



El laboratorio externo no debe calificar el resultado de la muestra, esto compete al responsable técnico de la empresa cosmética que lo solicita. Aunque sí puede indicar una referencia de aviso ante un resultado fuera de las especificaciones paramétricas. Hasta ahora en nuestros informes KosmLab constaba la calificación de CUMPLE O NO CUMPLE INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA. Desde Junio de 2022 nos prohíben claramente seguir haciéndolo: la decisión es sólo del fabricante. Seguiremos incluyendo en color rojo en los informes las No Conformidades que detectemos para alertar a nuestros estimados clientes de forma muy evidente que el lote está mal, aparte que siempre lo hacemos en el email que acompaña al informe.



Si el laboratorio externo tiene constancia de que un lote anómalo se comercializa, a pesar de haber informado a la industria cosmética de que el lote no es correcto, hay que ser conscientes de que tiene la obligación legal de comunicarlo a las autoridades competentes. En caso de problemas, las autoridades pueden pedir también al laboratorio externo los informes analíticos afectados.



Los conservantes pueden perder parte de su efectividad en presencia de caolín, arcillas, mica, silicatos, goma xantana, pigmentos, iones metálicos, carbonatos, proteínas, lecitina, polisorbatos, filtros solares donantes de formaldehidos... lo mismo que pierden su efectividad en los caldos neutralizantes (LPT Neutralizing Broth, Eugon, Letheen...). Por otra parte, además puede ser crucial su orden de adición en la fórmula cosmética y puede que afecten sólo a la fase oleosa o sólo a la acuosa, por lo que hay que seguir a fondo las instrucciones del fabricante. Y de ahí la necesidad imperiosa de realizar *un Challenge Test* (ensayo de la eficacia conservante) en cada fórmula cosmética.



La filosofía BPFc (GMPc) exige unas prácticas higiénicas durante la fabricación. Asegurando que el proceso de producción está controlado en todas sus fases, el control microbiológico del producto final no sólo demuestra la seguridad microbiológica del cosmético, sino que además confirma que no ha habido errores en el proceso. Un buen diseño de las instalaciones, pensado para evitar contaminaciones microbiológicas, ahorra posteriores problemas recurrentes. El aire de las zonas donde el producto queda expuesto (muestreo, pesada, fabricación y, en especial, envasado) debe ser filtrado, idealmente con presión positiva respecto a su alrededor y monitorizado (también microbiológicamente). Deben controlarse microbiológicamente las materias primas a su llegada, sobre todo el agua. Y también los equipos de producción y de medida; así como el personal. La rotación de los desinfectantes es muy importante para evitar crear poblaciones adaptadas a los mismos, como sucede en los hospitales. Debe validarse la limpieza física y la desinfección química. La higiene del personal y su control son cruciales en la filosofía BPFc (GMPc).



## 6-¿Y QUÉ PASA CON LAS AGUAS DE USO COSMÉTICO?

Las aguas de uso cosmético son la materia prima más crítica y por ello para ser fieles a la filosofía BPFc (GMPc), y dado que la muestra mínima ha de ser mayor, deben tratarse en capítulo aparte.

La mayoría de industrias cosméticas emplean aguas tratadas de diversas procedencias:

-Si se trata de laboratorios farmacéuticos que además fabrican cosméticos (o industrias cosméticas que generan agua de calidad farmacéutica), emplean la misma agua

ultrapurificada en recirculación constante de sus medicamentos, de muy bajo riesgo microbiológico y por eso Farmacopea sólo les exige un recuento de aerobios en R2A.



-En muchos casos emplean aguas más o menor purificadas por procesos químicos (cloración, ozono...) y/o físicos (calor 65-80°C, ultravioleta, ósmosis inversa, filtración, circulación turbulenta continua...). El origen del agua suele ser la red de aguas de consumo humano (que sólo garantiza la ausencia de indicadores de contaminación por aguas residuales, y sólo a la salida de la potabilizadora municipal y en grifos públicos como las fuentes de bebida, pero nunca a la entrada de las fábricas, donde puede/suele llegar contaminada a causa de las continuas obras públicas), pero a veces proceden de camiones-cisternas o depósitos de aguas de uso en la industria química donde nadie les ha realizado análisis microbiológico alguno, e incluso de aguas de pozos que raramente son ni siquiera potables.

- También hay empresas que adquieren el agua como cualquier otra materia prima. Esto exige tener un control muy exhaustivo del origen de la misma, disponer de los pertinentes análisis; procedimientos para su uso, conservación y caducidad de las mismas.

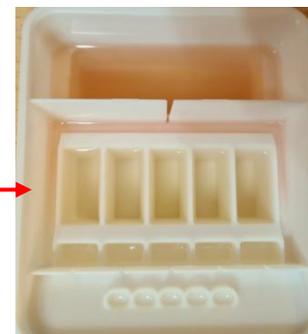
Por ello en la mayoría de industria cosmética hay que extremar el control exhaustivo del agua, no sólo como potable para consumo humano, sino además algo que no hace ningún proveedor del agua: control de ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* y de



Izda a Dcha: *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y Coliformes-E.coli en aguas de uso cosmético que NO se pueden emplear

*Burkholderia cepacia*, los dos microorganismos que si se encuentran en un cosmético, casi sin duda proceden del agua, y nadie los ha analizado antes de su llegada a fábrica. Por eso nos encontramos tanto en intercomparación como en externalización, cifras escalofriantes: de las aguas analizadas que según otros laboratorios externos estaban bien (sólo les miraban recuento de aerobios en R2A), el 10 % contenían indicadores de contaminación fecal (*E.coli*-Coliformes, Enterococos fecales y/o *Clostridium perfringens*), el 20% contenían *Burkholderia cepacia* y el 33% contenían *Pseudomonas aeruginosa*.

Y todos ellos estaban en muy baja proporción, y por eso no aparecían en el recuento total de aerobios, pero tras enriquecer en caldos cromogénicos, sí aparecen. Incluso por la técnica no destructiva NMP, a veces aparecen recuentos "0" y sin embargo en la cubeta final hay "presencia", es decir, hay  $\leq 1$  ufc/100 mL. Y contaminaban los cosméticos fabricados con ellas, pero nadie lo sabía ni lo sospechaba porque nadie se las había buscado hasta ahora ¿es esto seguir GMPs?



## 7-A MODO DE RESUMEN: ¿CÓMO TRABAJAR DESDE AHORA?

Las 6 diferencias más radicales entre el protocolo “clásico” más empleado por el 95% de laboratorios cosméticos de nuestro país y el “método Seilaparfum” validado mediante intercomparación y empleado por KosmLab, que obtiene resultados de excelencia ronda tras ronda en los intercomparativos, se concretan en el siguiente esquema de trabajo (ver más adelante), y se resumen en:

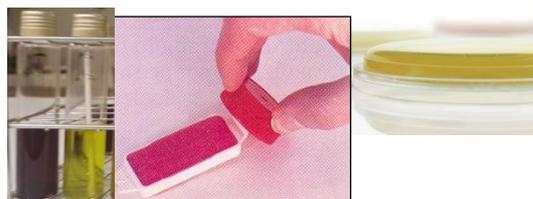
1-El método Seilaparfum sí que abarca los 13 patógenos que generan retiradas de mercado de cosméticos en la actualidad, no sólo los 4 patógenos con Norma ISO asociada

2-El método Seilaparfum emplea el caldo neutralizante y de enriquecimiento universal que funciona mejor en el 93% de las 52 matrices cosméticas comparadas hasta hoy

3-El método Seilaparfum no desperdicia el 90% de la muestra de 10 g, y analiza muestras representativas, ya que analiza 10 g completos y también 1 g, por lo que obtiene una proporción dramáticamente superior de patógenos en alguna de esas dos diluciones, que el método “clásico”

4-El método Seilaparfum emplea medios de cultivo de aislamiento diferenciales (en vez de selectivos), a menudo modernos medios cromogénicos, para evitar la aparición de falsos negativos por estrés secundario (propio de los medios selectivos obsoletos, recomendados en otras matrices que no son ya de por sí inhibitorias).

5-El método Seilaparfum no se conforma con analizar la muestra final y, en concordancia con la filosofía BPFc (GMPC), promueve el análisis también de la materia prima más crítica (el agua de producción), buscando los parámetros más acordes a la realidad: no sólo recuento de aerobios, sino también indicadores de contaminación por aguas fecales (presentes en el 10% de las aguas cosméticas analizadas hasta ahora) y búsqueda activa de *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*, presentes en el biofilm del 20-33% de las aguas analizadas hasta ahora. Y también promueve el control de superficies, aires, envases y manipuladores, no sólo de materias primas, igualmente en base a la filosofía BPFc (GMPC)



6-El método Seilaparfum no crea confusión entre el significado de una idoneidad, de un poder inhibitorio intrínseco y de una validación. Y promueve el control de calidad de su laboratorio mediante cepas cuantitativas (ISO 11133-2) y mediante ensayos intercomparativos de cosméticos reales, no de sucedáneos de cosméticos.



#### **BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA:**

- 09-2017: Desarrollo del Protocolo optimizado para control microbiológico de productos cosméticos. Industria cosmética 004. J. Sanchís. MICROKIT®
- 03-2021 Los 10 graves puntos críticos en control microbiológico de cosméticos que llevan a resultados falsamente negativos. Industria cosmética 18, primavera de 2021. J.Sanchis. Microkit® y KosmLab®
- 06-2021: Guía AEMPS para producir cosméticos microbiológicamente seguros



**Clave dicotómica para orientarse en la confirmación de colonias de CUP-12A**

**Patógenos típicos de retiradas de mercado de productos cosméticos distinguibles desde CUP-12A con solo 6 reactivos:**

Colonia algodonosa: posible *Aspergillus fumigatus* (verde), *A.flavus* (amarilla) u otro *Aspergillus* patógeno  
 Colonia SIN esas características: ↷

Colonia grande y blanca en SDA, parda en Biggy, rosa en RB, que emite olor a levadura: posible *Candida albicans*  
 Colonia SIN esas características: ↷

Colonia Neogram positiva (no filamenta):

- Catalasa negativa (no burbujea): probable *Enterococcus faecalis*,
- Catalasa positiva (burbujea), coagulasa positiva: muy probable *Staphylococcus aureus*

Colonia Neogram negativa (filamenta):

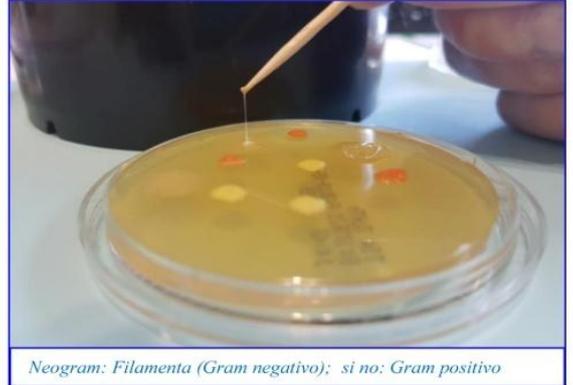
- Oxidasa positiva (vira a azul): No fermentadores
- ADH negativa (amarillo o naranja): probable *Burkholderia cepacia*,
- ADH positiva (vira a rojo): *Pseudomonas aeruginosa* (además es Acetamida + y fluorescente en KingB)

Oxidasa negativa (NO vira a azul): Fermentadores

- Indol positiva a 44°C: *Escherichia coli*
- Indol positiva a 37°C: *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*.
- Indol negativa: ↷

Enterobacterias no coliformes (no fermentan la lactosa): *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Pantoea spp*, *Shigella spp*

Coliformes (fermentan la lactosa): *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Pluralibacter gergoviae*, *Salmonella spp*, *Serratia spp*, *Citrobacter spp*.



Neogram: Filamenta (Gram negativo); si no: Gram positivo

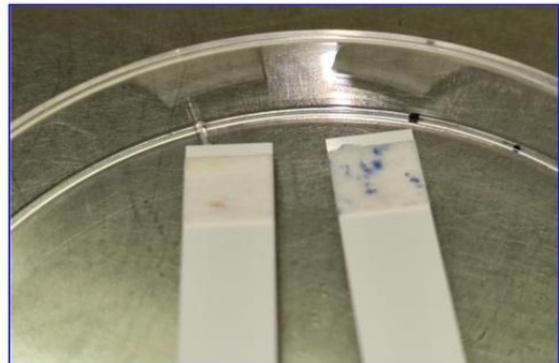
**TEST INDICADOS Y TIEMPO DE DECISIÓN:**

**INMEDIATOS:**

Neogram (Ref: KIN001)	20 segundos
Catalasa (Ref: KMT299)	5 segundos
Oxidasa (Ref: KOT050)	30 segundos
Coagulasa (Ref: KWD094)	2 minutos

**NO INMEDIATOS:**

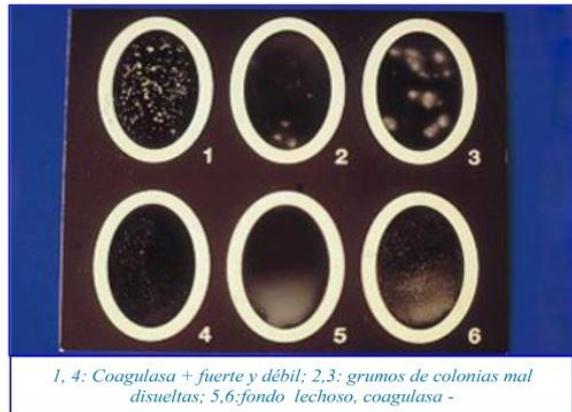
ADH (Ref: TPLADH)	18 horas
Indol Kovacs (Ref: SBH056) en	
Agua Triptófano (Ref: TPL034)	18 horas
Lactosa c/D (Ref: TPL020)	18 horas



Izda: Oxidasa negativa Dcha: Oxidasa positiva: azul



Catalasa positivo: la colonia burbujea



1, 4: Coagulasa + fuerte y débil; 2,3: grumos de colonias mal disueltas; 5,6: fondo lechoso, coagulasa -

**ESTAS SON LAS RESPUESTAS DE NUESTROS AMABLES CLIENTES A LA ENCUESTA DE 2021.  
RESPUESTAS QUE RESALTAN NUESTROS VALORES AÑADIDOS Y PUEDEN SUMARSE A LO  
INDICADO EN LETRA VIOLETA BAJO LA FIRMA DE NUESTROS EMAILS**

- Tenéis soluciones ingeniosas para muchos problemas.
- Sois el mejor proveedor para implantar nuevos parámetros.
- Sois mis favoritos en el 90% de las cosas.
- Entendéis los problemas y ofrecéis soluciones adecuadas.
- Aportáis nuevas tecnologías en microbiología.
- Sois una empresa fiable y tenéis productos de confianza.
- Sois de gran ayuda para el laboratorio de microbiología.
- Dáis una atención rápida y personalizada.
- Tenéis un trato estupendo, humano y cordial.
- Enviáis mucha información útil.
- Ofrecéis un amplio catálogo.
- Habéis destacado en la pandemia con vuestros Monográficos gratis, me han sido muy útiles.
- Contestáis muy rápido las consultas.
- Dais un buen asesoramiento.
- Transmitís conocimientos muy elevados de lo que contratamos.
- Sois un soporte importante y de calidad.
- Siempre estáis disponibles para ayudar en dudas técnicas.
- Ofrecéis buena calidad
- Sois rápidos en el suministro, tenéis buenos plazos de entrega
- Tenéis un potente espíritu crítico que nos hace ver otras realidades muy interesantes.
- Aportáis mayor seguridad en la calidad de nuestros fabricados.

**SI SUS PROVEEDORES CARECEN DE ALGUNAS DE ESTAS VENTAJAS...**

**¡YA ES HORA DE QUE NOS PRUEBE! LLEVAMOS YA 33 AÑOS A SU SERVICIO**