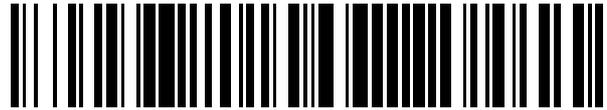


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 549 927**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/60** (2006.01)

**A61K 31/19** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2010 E 10810452 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.09.2015 EP 2467143**

54 Título: **Mezclas de conservación de amplio espectro**

30 Prioridad:

**16.08.2010 US 856867**  
**17.08.2009 US 234456 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.11.2015**

73 Titular/es:

**ARCH PERSONAL CARE PRODUCTS, L.P.**  
**(100.0%)**  
**70 Tyler Place**  
**South Plainfield, NJ 07080, US**

72 Inventor/es:

**CICCOGNANI, DIANA T.;**  
**DINICOLA, KEVIN N.;**  
**ROBERTS, KATHERINE P. y**  
**SZYMCZAK, LAURA M.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 549 927 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Mezclas de conservación de amplio espectro

**5 Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a mezclas de conservación de amplio espectro. En particular, la presente invención se refiere a mezclas de conservación que incorporan alcohol bencílico, ácido salicílico, ácido sórbico y un aditivo. El aditivo se selecciona del grupo que consiste en 1,3-propanol, ácido deshidroacético, glicerina y una combinación de los mismos. Las mezclas de conservación de la invención son estables a bajas temperaturas y tienen una alta eficiencia frente a un amplio espectro de microorganismos a un intervalo de pH más amplio de lo esperado.

**15 Breve descripción de la técnica**

Los conservantes tienen amplias aplicaciones en campos como el cuidado personal, industrial, de salud e higiene, productos farmacéuticos y protección de la madera. Los conservantes pueden ser un agente único o una mezcla de múltiples agentes.

20 Idealmente, un conservante tiene actividad de amplio espectro frente a todos los tipos de microorganismos a diversos niveles de pH. El conservante debe tener también alta eficiencia de tal manera que pueda usarse una mínima cantidad del conservante para ahorrar costes y para evitar o reducir cualquier posible efecto adverso causado por el conservante. También, es deseable que el conservante sea estable a cualquier cambio en la temperatura encontrada durante la fabricación, el envase y el transporte así como durante el almacenamiento del conservante. Además, un conservante ideal es física y químicamente compatible con ingredientes de diferentes sistemas de aplicación de tal manera que un conservante pueda incorporarse adecuadamente en diversos productos.

30 El alcohol bencílico, el ácido salicílico y el ácido sórbico son agentes conservantes conocidos, pero individualmente son de utilidad limitada con respecto a la actividad de amplio espectro debido a que se sabe que estas actividades tienen una actividad pobre a pH más neutral y alcalino. Además, el ácido salicílico y el ácido sórbico pueden ser difíciles de solubilizar a altas concentraciones, haciendo de esta manera difícil lograr un concentrado eficaz.

35 Se conocen ciertas mezclas conservantes que contienen uno cualquiera o más de alcohol bencílico, ácido salicílico o ácido sórbico. Por ejemplo, Optiphen<sup>®</sup> BSB-N de ISP es una combinación de ácido benzoico, ácido sórbico y alcohol bencílico y glicerina. Sharomix<sup>®</sup> de Sharon Laboratories es una mezcla líquida de alcohol bencílico, ácido benzoico, ácido sórbico y ácido deshidroacético. Sin embargo, la aplicación de estos conservantes es limitada debido a que solamente son adecuadas para sistemas de bajo pH (hasta pH 6,5).

40 La publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos 2009/0123577 a Air Liquide Sante, cuya divulgación se incorpora en el presente documento en su totalidad, desvela un concentrado líquido para conservar cosméticos incluyendo un componente de ácido carboxílico (A) que contiene al menos dos ácidos carboxílicos seleccionados de ácido benzoico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido deshidroacético, ácido fórmico y ácido 10-undecilénico; y un componente alcohólico (B) seleccionad de fenoxietanol, alcohol bencílico. Desafortunadamente, el concentrado conservante desvelado en la publicación usa hasta un 40 % de agua como disolvente. Ya que el agua se congela a 0 °C, esto puede generar dificultades cuando se manipula el concentrado desvelado a bajas temperaturas. Además, los conservantes desvelados son adecuados para usar en sistemas que tienen un pH de menos de 7, en particular menos de 6.

50 La técnica anterior adicional incluye "Mikrokill<sup>®</sup> ECT", Arch Personal Care Products, L.P., URL: [http://az290931.vo.msecnd.net/www.incosmetics.com/\\_novadocuments/2198x\\$query\\$vxv\\$eq\\$634484823552730000](http://az290931.vo.msecnd.net/www.incosmetics.com/_novadocuments/2198x$query$vxv$eq$634484823552730000)

55 En consecuencia, hay una necesidad continuada de otro conservante, que sea estable a bajas temperaturas y que tenga una alta eficiencia frente a un amplio espectro de microorganismos a un amplio intervalo de pH. La presente invención proporciona una respuesta a esa necesidad.

**Breve resumen de la invención**

60 Un aspecto de la presente invención se dirige a una composición que tiene una actividad de conservación de amplio espectro eficaz que comprende (a) alcohol bencílico, (b) ácido salicílico, (c) ácido sórbico y (d) un compuesto seleccionado del grupo que consiste en 1,3-propanodiol, glicerina y una combinación de los mismos. En la composición, el componente (a) está presente a una concentración de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 90 % en peso, el componente (b) está presente a una concentración de aproximadamente el 1 % al 15 % en peso, el componente (c) está presente a una concentración de aproximadamente el 1 % al 4 % en

peso y el componente (d) está presente a una concentración de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 15 % en peso, con la condición de que la cantidad total de los componentes (b) y (c) no sea más del 15 % en peso, todo basándose en el peso total de la composición. La composición puede contener opcionalmente ácido deshidroacético.

Otro aspecto más de la presente invención se dirige a una composición que tiene una actividad de conservación de amplio espectro eficaz que comprende alcohol bencílico, ácido salicílico, ácido sórbico y glicerina en el que el alcohol bencílico está presente a una concentración de aproximadamente el 77 % a aproximadamente el 86 %, el ácido salicílico está presente a una concentración de aproximadamente el 8 % a aproximadamente el 11 %, el ácido sórbico está presente a una concentración de aproximadamente el 2,5 % a aproximadamente el 3,5 % y la glicerina está presente a una concentración de aproximadamente el 3 % a aproximadamente el 5 % en peso, basándose en el peso total de la composición.

Otro aspecto más de la presente invención se dirige a formulaciones tópicas que contienen el conservante de la invención.

### Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una composición de mezcla de conservación estable que tiene una actividad conservante de amplio espectro a pH neutro, ácido y alcalino. La composición contiene: (a) alcohol bencílico, (b) ácido salicílico, (c), ácido sórbico y (d) un compuesto seleccionado del grupo que consiste en 1,3-propanodiol, glicerina y una combinación de los mismos.

La cantidad de componentes (a)-(d) de la mezcla de conservación de acuerdo con la presente invención pueden variar. Preferentemente, el alcohol bencílico constituye de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 90 % en peso, más preferentemente, de aproximadamente el 77 % a aproximadamente el 86 % en peso, basándose en el peso total de la composición. El ácido salicílico está presente a una concentración de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 15 %, preferentemente de aproximadamente el 3 % al 12 %, más preferentemente del 8 % al 11 %; el ácido sórbico está presente a una concentración de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 4 %, preferentemente del 2,5 % a aproximadamente el 3,5 % en peso y el componente (d) está presente a una concentración del 1 % al 5 %, preferentemente del 1 % al 10 % en peso, más preferentemente del 2 % al 5 % en peso, basándose en el peso total de la composición. Preferentemente, la cantidad total de los componentes (b) y (c) no es más del 15 % en peso basándose en el peso total de la composición. En algunas realizaciones, los porcentajes en peso totales de los componentes (a), (b), (c) y (d) combinados es el 100 %.

Opcionalmente, la mezcla conservante de la invención puede contener adicionalmente ácido deshidroacético. Si está presente, la cantidad total de ácido salicílico, ácido sórbico y ácido deshidroacético no es más del 15 % en peso basándose en el peso total de la mezcla conservante. En una realización, la relación en peso de ácido deshidroacético a componente (d) de la mezcla conservante es de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:1.

En algunas realizaciones de la invención, las mezclas conservantes son libres o sustancialmente libres de agua. En otras realizaciones, las mezclas son libres o sustancialmente libres de ácido benzoico. Como se usa en el presente documento, "esencialmente libre" se entiende que significa que la composición contiene preferentemente menos de 1000 ppm, más preferentemente menos de 100 ppm y más preferentemente cero ppm, de agua o ácido benzoico.

En una realización preferida, la invención proporciona una composición de mezcla conservante que comprende de aproximadamente el 77 % en peso a aproximadamente el 86 % en peso de alcohol bencílico, de aproximadamente el 8 % en peso a aproximadamente el 11 % en peso de ácido salicílico, de aproximadamente el 2,5 % en peso a aproximadamente el 3,5 % en peso de ácido sórbico y de aproximadamente el 2 % en peso a aproximadamente el 5 % en peso de glicerina en peso, basándose en el peso total de la composición.

Como se usa en el presente documento, la frase "actividad de conservación eficaz" significa que su actividad es tal que la composición o la formulación se protege durante un periodo de tiempo sostenido, en particular durante la denominada "vida útil" del producto. La "vida útil" de un producto se determina de acuerdo con métodos generalmente conocidos en la técnica.

La frase "amplio espectro" como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones significa un conservante que tiene buenas propiedades conservantes frente a un amplio espectro de microorganismos que comúnmente producirían el deterioro o la descomposición de productos de cuidado personal, tales como cosméticos, y diversos productos con otras aplicaciones tales como composiciones farmacéuticas, sistemas conservantes de madera, industrial y salud e higiene.

Las mezclas conservantes de la invención tienen un nivel de ácido orgánico relativamente alto, sin embargo son estables a bajas temperaturas. Son eficaces a bajas concentraciones y tienen amplio espectro de actividad frente a diversos tipos de microorganismos. Las mezclas conservantes de la invención también tienen un rendimiento antimicrobiano sorprendentemente bueno a pH neutro, ácido y alcalino bajo y pueden incorporarse en un amplio

intervalo de formulaciones.

La composición de la presente invención puede fabricarse mezclando alcohol bencílico, ácido salicílico, ácido sórbico y componente (d) en cualquier orden. Puede incorporarse adecuadamente en diversos productos, por ejemplo, formulaciones de cuidado personal, composiciones farmacéuticas, sistemas conservantes de madera, industrial y productos de salud e higiene.

En una realización, la presente invención se refiere adicionalmente a formulaciones tópicas que contienen una mezcla de conservación como se define en el presente documento. Preferentemente, la mezcla de conservación está presente a una concentración de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 1,5 %, más preferentemente de aproximadamente el 0,6 % a aproximadamente el 1 % basándose en el peso total de la formulación tópica. Las composiciones tópicas comprenden formulaciones dermatológicas (o formulaciones farmacéuticas tópicas) así como formulaciones cosméticas. Las formulaciones tópicas pueden contener otros ingredientes o aditivos usados en formulaciones dermatológicas o cosméticas, incluyendo otros principios activos.

Las formulaciones de acuerdo con la presente invención se formulan en formas que son útiles en productos de cuidado personal, especialmente en emulsiones.

Las formulaciones tópicas de acuerdo con la presente invención pueden contener ingredientes o aditivos adicionales tales como disolventes, tensioactivos, emulsionantes, factores de consistencia, acondicionadores, emolientes, ingredientes de cuidado de la piel, humectantes, espesantes, lubricantes, cargas, anti-oxidantes, otros conservantes, ingredientes activos, en particular ingredientes dermatológicamente activos, fragancias y similares, así como mezclas de los mismos. Los ingredientes activos como se menciona en el presente documento comprenden, por ejemplo, anti-inflamatorios, anti-bacterianos, anti-fúngicos y agentes similares. Se prefieren particularmente los ingredientes activos adecuados para las aplicaciones tópicas.

Los tensioactivos adecuados comprenden: sulfatos de alquilo por ejemplo lauril sulfato sódico, lauril sulfato amónico; cetearil sulfato sódico; sulfoacetatos de alquilo por ejemplo lauril sulfoacetato sódico; sulfatos de éter de alquilo por ejemplo lauret sulfato sódico; tridecet sulfato sódico; olet sulfato sódico; lauret sulfato amónico; sulfosuccinatos de éter de alquilo por ejemplo lauret sulfosuccinato disódico; glucósidos de alquilo por ejemplo glucósido de decilo, glucósido de laurilo; isetionatos de alquilo anfotéricos por ejemplo betaína de cocamidopropilo; cocoanfoacetato sódico; lauroanfoacetato sódico, lauroanfodiacetato disódico; cocoanfodiacetato disódico; lauroanfopropionato sódico; lauroanfodipropionato disódico, sales de potasio o amonio de los anfóteros anteriormente mencionados; betaína de caprilo/capramidopropilo; betaína de undecilenamidopropilo; betaína de lauroamidopropilo; y éteres de poliglicol de alcoholes grasos.

Los emulsionantes adecuados son por ejemplo aniónicos como sales de ácidos grasos por ejemplo estearato sódico o palmitato sódico, jabones orgánicos por ejemplo mono-, di- o trietanolaminooleato, compuestos sulfatados o sulfonatados por ejemplo lauril sulfato sódico o sulfonato de cetilo sódico, saponinas, lameponas, catiónicos como sales de amonio cuaternario; no iónicos como alcoholes grasos, éster de ácido graso con ácidos grasos saturados o insaturados, polioxietilénesteres o polioxietiléneteres de ácidos grasos, polímeros de óxido de etileno y óxido de propileno o propilenglicol, anfotéricos como fosfatidas, proteínas como gelatina, caseína, alquilamidobetaínas, betaínas de alquilo y anfoglicinatos, fosfatos de alquilo, fosfatos de alquilpolioxietileno o los ácidos correspondientes, derivados de silicona, por ejemplo dimeticoncopliol de alquilo.

Los factores de consistencia adecuados son por ejemplo alcoholes grasos o sus mezclas con ésteres de ácidos grasos, por ejemplo alcohol de lanolina acetilada, estearatos de aluminio, carbómero, alcohol cetílico, oleato de glicerilo, estearato de glicerilo, estearato de glicerilo (y) estearato de PEG 100, estearato de magnesio, sulfato de magnesio, ácido oleico, ácido esteárico, alcohol estearílico, miristato de miristilo, palmitato de isopropilo, cera de abejas y equivalentes sintéticos de los mismos, carbómeros y similares. Los acondicionadores adecuados son por ejemplo lactato de alquilamidoamonio, cloruro de cetrinio y metosulfato de diestearoiletilo hidroxietilmonio y alcohol cetearílico, dimeticona de cetilo, ricinoleato de cetilo, dimeticona, lauret-23, lauret-4, polideceno, palmitato de retinilo, hidrolizados de proteína cuaternizada, celulosa cuaternizada y derivados de almidón, copolímeros cuaternizados de ácido acrílico o metacrílico o sales, derivados de silicona cuaternizada.

Los emolientes adecuados son por ejemplo isononanoato de cetearilo, octanoato de cetearilo, oleato de decilo, estearato de isooctilo, cococaprilato/caprato, hidroxiestearato de etilhexilo, isononanoato de etilhexilo, isoestearato de isopropilo, miristato de isopropilo, oleato de oleilo, laurato de hexilo, parafina líquida, lanolina PEG-75, cocoato de glicerilo PEG-7, petrolato, ciclometicona de ozokerita, dimeticona, copoliol de dimeticona, éter de dicaprililo, *Butyrospermum parkii*, *Buxus chinensis*, canola, cera de carnauba, *Copernicia cerifera*, *Oenothera biennis*, *Elaeis guineensis*, *Prunus dulcis*, escualano, *Zea mays*, *Glycine soja*, *Helianthus annuus*, lanolina, aceite de ricino hidrogenado, aceite de coco hidrogenado, poliisobuteno hidrogenado, cocoato de sacarosa, estearoxi dimeticona, alcohol lanolínico, isohexadecano.

Los ingredientes de cuidado de la piel adecuados son por ejemplo extractos vegetales, bisabolol, agentes antiinflamatorios, urea, alantoína, pantenol y derivados del pantenol, fitantriol, vitaminas A, E, C, D, ceramidas de origen animal o vegetal, lecitinas y similares.

Los humectantes adecuados son por ejemplo butilenglicol, alcohol cetílico, dimeticona, tartrato de dimiristilo, gliceret-26 de glucosa, glicerina, estearato de glicerilo, proteína de leche hidrolizada, ácido láctico, lactosa y otros azúcares, lauret-8, lecitina, octoxiglicerina, PEG-12, PEG 135, PEG-150, PEG-20, PEG-8, pentilenglicol, hexilenglicol, fitantriol, éter de metilglucosa poli cuaternio-39 PPG-20, propilenglicol, hialuronato sódico, lactato sódico, PCA sódico, sorbitol, succinoglucano, cera de abejas sintética, citrato de alquilo tri-C14-45, almidón.

Los espesantes adecuados son por ejemplo copolímero de acrilatos/metacrilato estearat-20, carbómero, almidón de carboximetilo, cera blanca, polímero reticular de dimeticona/dimeticona de vinilo, alginato de propilenglicol, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, sílice, dimetilsilato de sílice, goma xantana, copolímero de butilenos hidrogenados/etileno/estireno.

Los lubricantes adecuados son por ejemplo ácido adípico, ácido fumárico y sus sales, ácido benzoico y sus sales, triacetato de glicerina, lauril sulfato sódico o magnésico, estearato magnésico, polietilenglicol sólido, polivinilpirrolidona, ácido bórico, monolaurato o mono-palmitato, alcohol miristílico, alcohol cetílico, alcohol cetilestearílico, talco, sales de calcio o magnesio de ácidos grasos superiores, mono-, di- o triglicéridos de ácidos grasos superiores, politetrafluoroetileno.

Los antioxidantes adecuados son por ejemplo sulfitos, por ejemplo sulfito sódico, tocoferol o derivados de los mismos, ácido ascórbico o derivados de los mismos, ácido cítrico, galato de propilo, glicolato de quitosán, cisteína, N-acetilcisteína más sulfato de cinc, tiosulfatos, por ejemplo tiosulfato sódico, polifenoles y similares.

Las composiciones pueden comprender adicionalmente ingredientes activos, por ejemplo antimicrobianos, anti-inflamatorios, extractos vegetales, bisabolol, pantenol, tocoferol, principios activos para aplicaciones anti-picor, anti-irritantes o anti-caspa o agentes anti-edad tales como retinol, melibiosa y similares. Otros principios activos adecuados son por ejemplo *Medicago officinalis*, *Actinidia chinensis*, alantoína, *Aloe barbadensis*, *Anona cherimolia*, *Anthemis nobilis*, *Arachis hypogaea*, *Arnica montana*, *Avena sativa*, beta-caroteno, bisabolol, *Borago officinalis*, glicol de butilenos, *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis*, alcanfor, *Candida bombicola*, glicina de capriloilo, *Carica papaya*, *Centaurea cyanus*, cloruro de cetilpiridinio, *Chamomila recutita*, *Chenopodium quinoa*, *Chinchona succirubra*, *Chondrus crispus*, *Citrus aurantium dulcis*, *Citrus grandis*, *Citrus limonum*, *Cocos nucifera*, *Coffea arabica*, *Crataegus monogina*, *Cucumis melo*, imidazoldioxolan de diclorofenilo, *Entheromorpha compressa*, *Equisetum arvense*, etoxidiglicol, pantenol de etilo, farnesol, ácido ferúlico, *Fragaria chiloensis*, *Gentiana lutea*, *Ginkgo biloba*, glicerina, laurato de glicerilo, *Glycyrrhiza glabra*, *Hamamelis virginiana*, heliotropina, glicéridos de palma hidrogenados, citratos, aceite de ricino hidrolizado, proteína de trigo hidrolizada, *Hypericum perforatum*, *Iris florentina*, *Juniperus communis*, *Lactis proteinum*, lactosa, *Lawsonia inermis*, linalool, *Linum usitatissimum*, lisina, aspartato magnésico, *Magnifera indica*, *Malva sylvestris*, manitol, mel *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita*, mentol, lactato de mentilo, *Mimosa tenuiflora*, *Nymphaea alba*, olaflur, *Oryza sativa*, pantenol, parafina líquida, PEG-20M, ácido de jojoba PEG-26, alcohol de jojoba PEG-26, aceite de ricino PEG-35, aceite de ricino hidrogenado PEG-40, aceite de ricino hidrogenado PEG-60, ácido caprílico/cáprico PEG-8, *Persea gratissima*, petrolato, aspartato potásico, sorbato potásico, propilenglicol, *Prunus amygdalus dulcis*, *Prunus armeniaca*, *Prunus persica*, palmitato de retinilo, *Ricinus communis*, *Rosa canina*, *Rosmarinus officinalis*, *Rubus idaeus*, ácido salicílico, *Sambucus nigra*, sarcosina, *Serenoa serrulata*, *Simmondsia chinensis*, betaglucano de carboximetilo sódico, aminoácidos de cocoilo sódico, hialuronato sódico, pralina de palmitoilo sódica, estearoxitrimetilsilano, alcohol estearílico, TEA sulfurizado-ricinoleato, talco, *Thymus vulgaris*, *Tilia cordata*, tocoferol, acetato de tocoferilo, tridecet-9, *Triticum vulgare*, tirosina, glicina de undecilenoilo, urea, *Vaccinium myrtillus*, valina, óxido de cinc, sulfato de cinc.

Las mezclas conservantes de la invención pueden usarse en emulsiones (tanto aceite en agua como agua en aceite), en soluciones acuosas, en emulsiones PIT (temperatura de inversión de fases), en soluciones oleaginosas, en composiciones cosméticas espumantes (espumas) y en las denominadas emulsiones múltiples, por ejemplo en emulsiones triples (tales como emulsiones agua/aceite/agua).

Las mezclas conservantes de la presente invención también pueden formularse como cremas, geles, líquidos o lociones. Pueden usarse en champús, acondicionadores del cabello, tintes para el cabello, preparaciones para el cabello, lociones para después del afeitado, jabones de baño y detergentes, preparaciones para fragancias, productos de cuidado para el sol, productos para bronceado artificial, preparaciones corporales y para el cabello, limpiadores personales, preparaciones para el afeitado, tónicos, apósitos y otras ayudas para el acicalamiento del cabello, preparaciones humectantes, preparaciones para el cuidado de la piel, toallitas y similares. Estas composiciones pueden usarse también en diversos productos de higiene no personal.

Las formulaciones tópicas de la invención se preparan añadiendo otros ingredientes a una composición como se define en el presente documento o la adición a una mezcla de ingredientes una composición como se define en el presente documento. De forma alternativa, dichas formulaciones pueden fabricarse también mezclando los ingredientes individualmente o por mezcla grupo a grupo. Posteriormente pueden añadirse otros ingredientes específicos, tales como perfumes.

La presente invención se describe adicionalmente en detalle por medio de los siguientes Ejemplos. Todas las partes

y los porcentajes son en peso y todas las temperaturas son en grados Celsius salvo que se indique de otra manera explícitamente.

### Ejemplos

5

#### EJEMPLO 1 ESTABILIDAD DE LOS CONCENTRADOS CONSERVANTES

10 Procedimiento: Se prepararon las mezclas conservantes ETC 1-6 y las mezclas comparativas A-G como se muestra en la Tabla 1 y en la Tabla 2, mezclando los componentes junto con calentamiento suave. Las mezclas se almacenaron bien en un refrigerador (2 - 4 °C) o en un congelador (-17 °C) y después se dejaron calentar a temperatura ambiente. Las características de las mezclas a 2 °C y después de congelarse a -17 °C se resumen en la Tabla 1 y en la Tabla 2.

15 Resultados: Como se muestra en la Tabla 1, cuando la cantidad total de ácido salicílico, ácido sórbico y ácido deshidroacético es menos del 15 % en peso, el uso de co-disolvente, 1,3-propanodiol y glicerina ayuda estabilizando estos ácidos en alcohol bencílico a bajas temperaturas. Aunque el co-disolvente no previene la congelación de las mezclas a -17 °C, permite que las mezclas se descongelen y se redisuelvan rápidamente con o sin mezcla limitada.

20 Como se muestra en la Tabla 2, cuando la cantidad total de ácido salicílico y de ácido sórbico era mayor del 15 %, aunque estuviera presente el co-disolvente 1,3-propanodiol, las mezclas se congelaron después del almacenamiento a 2-4 °C. Después de que las mezclas se almacenaran a -17 °C, los cristales se decantaron y se necesitó mezcla para re-disolver los precipitados.

Tabla 1: Efecto de los co-disolventes (1,3-propanodiol y glicerina) en las características de la mezcla tras la refrigeración y la congelación

n° de mezcla	Alcohol bencílico	Acido salicílico	Acido sorbico	Acido deshidroacético	1,3-propanodiol	Glicerina	Características a 2 °C y después de congelar a -17 °C
ECT 1	83%	11%	3%	-	3%	-	Sólido transparente a 2 °C, los cristales se decantaron después del ciclo de congelación/descongelación
ECT 2	83%	4%	3%	7%	3%	-	Sólido transparente a 2 °C, los cristales se decantaron después del ciclo de congelación/descongelación
ECT 3	83%	8%	3%	3%	3%	-	Sólido transparente a 2 °C, los cristales formados por el ciclo de congelación/descongelación se re-disolvieron sin mezcla
ECT 4	83%	11%	3%	-	-	3%	Sólido transparente a 2 °C, muy pocos cristales formados por el ciclo de congelación/descongelación se re-disolvieron todos sin mezcla
ECT 5	83%	4%	3%	7%	-	3%	Sólido transparente a 2 °C, los cristales formados por el ciclo de congelación/descongelación se re-disolvieron sin mezcla
ECT 6	83%	8%	3%	3%	-	3%	Sólido transparente a 2 °C, menos cantidad cristales formados por el ciclo de congelación/descongelación se re-disolvieron todos sin mezcla

**Tabla 2: Efecto del co-disolvente (1,3-propanodiol) en las características de la mezcla tras el almacenamiento refrigerado**

Mezcla (comparativa)	Alcohol bencílico	Ácido salicílico	Ácido sórbico	1,3-propanodiol	Características después del almacenamiento en el refrigerador (2-4 °C)	Características después del ciclo de congelación /descongelación
A	81,0 %	13,0 %	6,0 %	-	Congelado en frío, de vuelta a la solución con mezcla	Capa muy gruesa de cristales decantados, de vuelta a la solución después de aproximadamente 1 hora de mezcla
B	80,0 %	13,0 %	6,0 %	1,0 %	Congelado en frío, de vuelta a la solución con mezcla	Capa gruesa de cristales decantados, de vuelta a la solución después de aproximadamente 40 minutos de mezcla
C	81,0 %	12,5 %	5,5 %	1,0 %	Congelado en frío, de vuelta a la solución con mezcla	Una capa de cristales se decantó, de vuelta a la solución después de aproximadamente 10 minutos de mezcla
D	79,0 %	13,0 %	6,0 %	2,0 %	No se congeló completamente (pastoso), de vuelta a la solución con mezcla	Capa muy gruesa de cristales decantados, de vuelta a la solución después de aproximadamente 10 minutos de mezcla
E	80,0 %	12,5 %	5,5 %	2,0 %	No se congeló completamente (pastoso), de vuelta a la solución con mezcla	Capa gruesa de cristales decantados, de vuelta a la solución después de aproximadamente 10 minutos de mezcla
F	80,0 %	12,0 %	5,0 %	3,0 %	No se congeló, unos pocos cristales ppt, de vuelta a la solución con mezcla	Una capa fina de cristales se decantó, de vuelta a la solución después de aproximadamente 5 minutos de mezcla
G	79,0 %	12,5 %	5,5 %	3,0 %	Se congeló, pero muy rápidamente se fusionó para dar una solución con unos pocos cristales ppt, de vuelta a la solución con mezcla	Una capa fina de cristales se decantó, de vuelta a la solución después de aproximadamente 10 minutos de mezcla

**EJEMPLO 2. EFICIENCIA MICROBIOLÓGICA - Mezclas de conservación al 1 %**

**Procedimiento de ensayo de estimulación CTFA:** Se siguió un protocolo de estimulación similar al método CTFA para evaluar la eficiencia frente a un amplio espectro de microorganismos. Los cinco inóculos separados fueron: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) y *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416) mezclados, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) y *Enterobacter gergoviae* (ATCC 33028) mezclados, *Candida albicans* (ATCC 10231) y una mezcla de mohos: *Aspergillus niger* (ATCC 16404) y 2 *Penicillium* sp. aislados de productos cosméticos. Las muestras (35 gramos cada una) se inocularon con aproximadamente 2.000.000 bacterias por gramo o 100.000 células de levadura o esporas de mohos por gramo. Las estimulaciones individuales se prepararon de medios de bacterias durante toda la noche y de cultivos de levaduras y de cultivos de mohos fuertemente esporulantes, de 7 a 10 días de edad. Todas las muestras se dispusieron en placas cuantitativamente para los organismos viables después de 24 horas y semanalmente durante hasta 4 semanas. Las muestras inoculadas con esporas de mohos también se pusieron en placa después de 48 horas. Las muestras se re-estimularon después de cuatro semanas (o más pronto donde fuera apropiado) y se siguió el mismo régimen de muestreo.

**Criterios “de pase” recomendados:** CTFA recomienda al menos una reducción del 99,9 % de la reducción de las bacterias vegetativas y al menos un 90 % de la reducción de las levaduras y los mohos en 7 días siguiendo a cada estimulación sin aumento en el recuento a partir de entonces.

**Formulaciones de ensayo:**

Las formulaciones usadas para demostrar la eficiencia de las presentes mezclas eran como sigue.

- i. Loción aceite en agua, pH 6,5, AR12-034
- ii. Acondicionador del cabello, pH 3,99, AR13-069 (el mismo que AR5-024)
- iii. Desmaquillador, pH 5,15, AR12-067 (nº de ref. KKL9-181)
- iv. Loción, pH 7,85, KKL 14-46
- v. Emulsión agua en aceite, pH N/D, AR12-068
- vi. Desmaquillador, pH 8,1, KKL 14-45

Los concentrados conservantes se añadieron a estas formulaciones para dar una concentración final del 1 %.

Sumario de los Resultados de Ensayo:

(i) Loción aceite en agua, pH 6,5, AR12-034 (Datos mostrados en las Tablas 3 a 5d)

La exploración inicial con las mezclas ECT1, ECT2 y ECT 3 mostró una reducción excelente de todos los organismos estimulados se dio en 24 horas en las muestras conservadas y todos se redujeron a < 10 ufc/g en una semana, mientras que los controles sin conservar tenían altos recuentos durante el periodo de ensayo.

**Tabla 3. Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de una loción aceite en agua a pH 6,5**

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u> <u>UFC/g</u>	<u>Estimulación nº 2</u> <u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	2,9x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>6</sup>	2,9x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,0x10 <sup>6</sup>	1,2x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	8,5x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	9,0x10 <sup>4</sup>	9,0x10 <sup>4</sup>

**Tabla 4. Inóculo recuperado de una loción aceite en agua sin conservar a pH 6,5 a “0” horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u> <u>UFC/g</u>	<u>Estimulación nº 2</u> <u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,3x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	3,1x10 <sup>6</sup>	7,0x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	7,9x10 <sup>6</sup>	4,2x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	6,8x10 <sup>4</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	8,0x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>

Tabla 5a. - Loción aceite en agua sin conservar a pH 6,5 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1				Estimulación nº 2			
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas
<i>S. aureus</i>	1,4x10 <sup>6</sup>	-	4,8x10 <sup>5</sup>	3,3x10 <sup>4</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>	-	1,1x10 <sup>6</sup>	6,0x10 <sup>3</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	9,4x10 <sup>5</sup>	-	3,0x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>	5,9x10 <sup>6</sup>	-	4,5x10 <sup>6</sup>	9,9x10 <sup>5</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10 <sup>2</sup>	-	1,6x10 <sup>2</sup>	<10	2,4x10 <sup>6</sup>	-	2,8x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	3,6x10 <sup>4</sup>	-	2,0x10 <sup>4</sup>	2,6x10 <sup>4</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>	-	8,9x10 <sup>4</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,8x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>

5

Tabla 5b. - Loción aceite en agua a pH 6,5 con ECT-1 al 1 % - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1				Estimulación nº 2			
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10*	-	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>C. albicans</i>	3,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
Moho mixto	1,0x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	2,0x10 <sup>2</sup>	6,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10

\* Contaminación por *Bacillus*

Tabla 5c. - Loción aceite en agua a pH 6,5 con ECT-2 al 1 % - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1				Estimulación nº 2			
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas
<i>S. aureus</i>	7,9x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	4,9x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>C. albicans</i>	2,9x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	1,8x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10
Moho mixto	1,2x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10*	5,0x10 <sup>3</sup>	8,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10

\* Contaminación por *Bacillus*

10

Tabla 5d. - Loción aceite en agua a pH 6,5 con ECT-3 al 1 % - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1				Estimulación nº 2			
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas
<i>S. aureus</i>	1,1x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	9,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	-	<10	<10
<i>C. albicans</i>	1,8x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	1,4x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10
Moho mixto	6,0x10 <sup>3</sup>	4,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	1,7x10 <sup>3</sup>	<10	<10	<10

(ii) Acondicionador para el cabello, pH 3,99, AR13-069 (el mismo que AR5-024) (Datos mostrados en las Tablas 6 a 8c)

5 Se dio una reducción excelente de todos los organismos en 24 horas en las muestras conservadas y todas se redujeron a < 10 UFC/g en una semana. Aunque *S. aureus* murió en una semana en las muestras sin conservar, la eficiencia de los conservantes contra este organismo era obvia al tiempo de muestreo de 24 horas.

**Tabla 6. Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de un acondicionador para el cabello**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	2,1x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>6</sup>	3,5x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	3,8x10 <sup>6</sup>	4,4x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	4,8x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,4x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>

10

**Tabla 7. Inóculo recuperado de un acondicionador para el cabello sin conservar a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	9,2x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	1,4x10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>8</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	1,4x10 <sup>6</sup>	1,0x10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	3,1x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>7</sup>
Moho mixto	4,8x10 <sup>4</sup>	2,9x10 <sup>4</sup>

Tabla 8a. - Acondicionador para el cabello sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1								Estimulación nº 2									
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	3,5x10 <sup>5</sup>	-	<10	<10	<10	<10	3,5x10 <sup>5</sup>	-	<10	<10	<10	<10	3,5x10 <sup>5</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	9,4x10 <sup>5</sup>	-	3,4x10 <sup>5</sup>	9,0x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>8</sup>	2,6x10 <sup>8</sup>	9,4x10 <sup>5</sup>	-	1,2x10 <sup>8</sup>	5,5x10 <sup>7</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>	3,5x10 <sup>6</sup>	9,4x10 <sup>5</sup>	-	1,2x10 <sup>8</sup>	5,5x10 <sup>7</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>	3,5x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	4,9x10 <sup>5</sup>	-	>10 <sup>6</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	6,0x10 <sup>8</sup>	3,0x10 <sup>8</sup>	4,9x10 <sup>5</sup>	-	5,6x10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	4,9x10 <sup>5</sup>	-	5,6x10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	3,3x10 <sup>5</sup>	-	3,3x10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>	3,3x10 <sup>5</sup>	-	2,0x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>7</sup>	6,2x10 <sup>6</sup>	2,8x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>5</sup>	-	2,0x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>7</sup>	6,2x10 <sup>6</sup>	2,8x10 <sup>7</sup>
Moho mixto	2,1x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>	3,5x10 <sup>3</sup>	2,3x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>	1,2x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	6,0x10 <sup>3</sup>	2,6x10 <sup>4</sup>	3,6x10 <sup>4</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>	2,1x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	6,0x10 <sup>3</sup>	2,6x10 <sup>4</sup>	3,6x10 <sup>4</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>

Tabla 8b. - Acondicionador para el cabello con ECT-4 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,0x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	6,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Tabla 8c. - Acondicionador para el cabello con ECT-6 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	1,2x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

(iii) Desmaquillador, pH 5,15, AR12-067 (Datos mostrados en las Tablas 9 a 11c)

5 Ocurrió una reducción excelente de todos los organismos estimulados en 24 horas en las muestras conservadas y todas se redujeron a <10 ufc/g en una semana. *S. aureus* y el inóculo de *K. pneumoniae*/*E. gergoviae* murieron en una semana en la muestra sin conservar. El corto tiempo de supervivencia de estos organismos hace los resultados algo inconcluyentes pero hay alguna evidencia de la eficiencia en el tiempo de muestreo de 24 horas.

**Tabla 9 Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de un desmaquillador**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	2,1x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>6</sup>	3,5x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	3,8x10 <sup>6</sup>	4,4x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	4,8x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,4x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>

10 **Tabla 10 Inóculo recuperado de un desmaquillador sin conservar, pH 5,15 a "0" horas Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	3,4x10 <sup>4</sup>	5,4x10 <sup>5</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	6,0x10 <sup>5</sup>	3,7x10 <sup>5</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	9,4x10 <sup>5</sup>	1,8x10 <sup>5</sup>
<i>C. albicans</i>	2,9x10 <sup>5</sup>	9,1x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	7,0x10 <sup>4</sup>	7,3x10 <sup>4</sup>

Tabla 11a. Desmaquillador sin conservar. pH 5,15 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	9,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	7,3x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	5,3x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10	9,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	3,3x10 <sup>5</sup>	-	1,8x10 <sup>6</sup>	3,5x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>10</sup>	7,8x10 <sup>6</sup>	-	2,8x10 <sup>6</sup>	6,1x10 <sup>6</sup>	5,3x10 <sup>6</sup>	7,7x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,8x10 <sup>4</sup>	-	1,9x10 <sup>4</sup>	8,0x10 <sup>3</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>4</sup>	5,6x10 <sup>4</sup>	-	6,6x10 <sup>4</sup>	3,2x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,5x10 <sup>4</sup>	5,0x10 <sup>4</sup>	2,4x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	5,0x10 <sup>4</sup>	7,7x10 <sup>4</sup>	4,2x10 <sup>4</sup>	3,3x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>

Tabla 11b. Desmaquillador con ECT-4 al 1%, pH 5,15 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>				<u>Estimulación nº 2</u>						
	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>
<i>S. aureus</i>	2,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	1,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Tabla 11c. Desmaquillador con ECT-6 al 1%, pH 5,15 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	<u>24 horas</u>	<u>48 horas</u>	<u>1 semana</u>	<u>2 semanas</u>	<u>3 semanas</u>	<u>4 semanas</u>	<u>24 horas</u>	<u>48 horas</u>	<u>1 semana</u>	<u>2 semanas</u>	<u>3 semanas</u>	<u>4 semanas</u>
<i>S. aureus</i>	9,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

(iv) Loción, pH 7,85, KKL 14-46 (Datos mostrados en las Tablas 12 a 14c)

5 Se dio una reducción excelente de todos los organismos estimulados en 24 horas en las muestras conservadas y todas se redujeron a <10 ufc/g en una semana. Esta fórmula es más difícil de conservar que los otros cuatro productos ensayados. Todos los organismos estimulados sobreviven en el control sin conservar y los *P. aeruginosa*/*B. cepacia* aumentaron >90 % entre las semanas uno y dos.

**Tabla 12. Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de producto**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,8x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	3,3x10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	4,0x10 <sup>6</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	1,7x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	2,3x10 <sup>5</sup>	1,9x10 <sup>5</sup>

10

**Tabla 13. Inóculo recuperado de loción a pH 7,85 sin conservar a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	2,3x10 <sup>6</sup>	1,7x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	2,9x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,3x10 <sup>6</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>
<i>C. albicans</i>	1,3x10 <sup>5</sup>	1,8x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	3,5x10 <sup>5</sup>	2,8x10 <sup>5</sup>

Tabla 14a. - Loción a pH 7,85 sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1								Estimulación nº 2									
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	1,3x10 <sup>6</sup>	-	1,6x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>	-	1,6x10 <sup>4</sup>	9,5x10 <sup>3</sup>	6,0x10 <sup>3</sup>	8,0x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>6</sup>	-	1,6x10 <sup>4</sup>	9,5x10 <sup>3</sup>	6,0x10 <sup>3</sup>	8,0x10 <sup>3</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	1,3x10 <sup>6</sup>	-	9,5x10 <sup>5</sup>	1,8x10 <sup>6</sup>	5,4x10 <sup>5</sup>	7,0x10 <sup>5</sup>	4,9x10 <sup>6</sup>	-	6,7x10 <sup>5</sup>	7,3x10 <sup>4</sup>	5,1x10 <sup>3</sup>	2,3x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>6</sup>	-	6,7x10 <sup>5</sup>	7,3x10 <sup>4</sup>	5,1x10 <sup>3</sup>	2,3x10 <sup>3</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	>10 <sup>6</sup>	-	8,5x10 <sup>6</sup>	12x10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>	4,3x10 <sup>7</sup>	1,1x10 <sup>8</sup>	-	1,6x10 <sup>8</sup>	1,2x10 <sup>8</sup>	9,5x10 <sup>7</sup>	9,8x10 <sup>7</sup>	>10 <sup>6</sup>	-	1,6x10 <sup>8</sup>	1,2x10 <sup>8</sup>	9,5x10 <sup>7</sup>	9,8x10 <sup>7</sup>
<i>C. albicans</i>	1,1x10 <sup>5</sup>	-	1,0x10 <sup>5</sup>	3,0x10 <sup>5</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	2,8x10 <sup>5</sup>	-	2,0x10 <sup>5</sup>	1,7x10 <sup>5</sup>	9,5x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	1,1x10 <sup>5</sup>	-	2,0x10 <sup>5</sup>	1,7x10 <sup>5</sup>	9,5x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	2,3x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>	9,0x10 <sup>4</sup>	3,6x10 <sup>5</sup>	5,9x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	5,2x10 <sup>5</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>

\* Contaminación bacteriana

Tabla 14b. - Loción a pH 7,85 con ECT-4 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>					<u>Estimulación nº 2</u>						
	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>
<i>S. aureus</i>	7,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	2,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	8,7x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10	1,3x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	1,8x10 <sup>3</sup>	1,9x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10	9,0x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10

Tabla 14c. - Loción a pH 7,85 con ECT-6 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	2,5x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10	7,7x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	6,5x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	4,8x10 <sup>2</sup>	5,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10

(v) Emulsión agua en aceite, pH N/D, AR 12-068 (Datos mostrados en las Tablas 15 a 17c)

Aunque *S. aureus* y los inóculos de *K. pneumoniae*/*E. gergoviae* murieron en una semana en la muestra sin conservar y los *P. aeruginosa*/*B. cepacia* se redujeron a < 10 ufc/g en dos semanas, todos los organismos estimulados en las muestras conservadas se redujeron a < 10 ufc/g en 24 horas.

5

**Tabla 15. Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de producto**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,8x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	2,7x10 <sup>8</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	1,9x10 <sup>8</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,4x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	1,5x10 <sup>5</sup>	19x10 <sup>5</sup>

**Tabla 16. Inóculo recuperado de una emulsión agua en aceite sin conservar a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

10

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,8x10 <sup>5</sup>	6,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	2,5x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,9x10 <sup>5</sup>	1,8x10 <sup>5</sup>
<i>C. albicans</i>	2,5x10 <sup>5</sup>	3,2x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	2,7x10 <sup>4</sup>	9,0x10 <sup>3</sup>

Tabla 17a. - Emulsión agua en aceite sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>						<u>Estimulación nº 2</u>					
	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>
<i>S. aureus</i>	8,6x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10	9,9x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	5,6x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10	9,7x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	3,1x10 <sup>4</sup>	-	2,9x10 <sup>3</sup>	<10	<10	<10	5,6x10 <sup>5</sup>	-	2,4x10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	6,8x10 <sup>5</sup>	3,4x10 <sup>5</sup>
<i>C. albicans</i>	4,6x10 <sup>4</sup>	-	1,3x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>	2,9x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	-	5,0x10 <sup>4</sup>	7,2x10 <sup>4</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>	5,3x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,2x10 <sup>4</sup>	2,5x10 <sup>4</sup>	9,7x10 <sup>3</sup>	3,3x10 <sup>3</sup>	4,0x10 <sup>3</sup>	7,0x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	2,6x10 <sup>4</sup>	6,6x10 <sup>4</sup>	2,1x10 <sup>4</sup>	4,1x10 <sup>4</sup>	3,4x10 <sup>5</sup>

Tabla 17b. - Emulsión agua en aceite con ECT-4 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Tabla 17c. - Emulsión agua en aceite con ECT-6 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1								Estimulación nº 2			
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

(vi) Desmaquillador, pH 8,1, KKL 14-45 (Datos mostrados en las Tablas 18 a 20c)

Se dio una reducción excelente de todos los organismos estimulados en 24 horas en las muestras conservadas y todas se redujeron a 10 ufc/g en una semana. Aunque *S. aureus* y *C. albicans* murieron en una semana en la muestra sin conservar, había alguna diferenciación entre las muestras conservadas y sin conservar a 24 horas.

5

**Tabla 18. Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de desmaquillador, pH 8,1**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	2,4x10 <sup>6</sup>	4,4x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>6</sup>	4,0x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	3,8x10 <sup>6</sup>	5,1x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,3x10 <sup>5</sup>	4,2x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	2,3x10 <sup>5</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>

**Tabla 19. Inóculo recuperado de un desmaquillador, pH 8,1 a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

10

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	7,3x10 <sup>5</sup>	9,4x10 <sup>5</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	9,4x10 <sup>5</sup>	8,8x10 <sup>6</sup>
<i>P. + B. cepacia</i>	7,0x10 <sup>5</sup>	6,2x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	3,4x10 <sup>4</sup>	2,2x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	6,3x10 <sup>4</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>

Tabla 20a. - Desmaquillador sin conservar, pH 8,1 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	1,0x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	5,1x10 <sup>6</sup>	-	8,0x10 <sup>6</sup>	6,8x10 <sup>6</sup>	7,0x10 <sup>8</sup>	2,5x10 <sup>6</sup>	5,5x10 <sup>6</sup>	-	9,2x10 <sup>6</sup>	1,7x10 <sup>6</sup>	2,2x10 <sup>6</sup>	8,0x10 <sup>5</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	4,5x10 <sup>6</sup>	-	6,6x10 <sup>6</sup>	1,5x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,5x10 <sup>6</sup>	9,8x10 <sup>6</sup>	-	8,7x10 <sup>6</sup>	2,0x10 <sup>6</sup>	6,8x10 <sup>6</sup>	3,2x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	4,0x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	<10	<10	9,1x10 <sup>3</sup>	-	1,4x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	<10	<10
Moho mixto	1,1x10 <sup>4</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	2,5x10 <sup>4</sup>	2,9x10 <sup>4</sup>	7,0x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>

Tabla 20b. - Desmaquillador, pH 8,1 con ECT-4 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>						<u>Estimulación nº 2</u>					
	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>	<u>24</u> <u>horas</u>	<u>48</u> <u>horas</u>	<u>1</u> <u>semana</u>	<u>2</u> <u>semanas</u>	<u>3</u> <u>semanas</u>	<u>4</u> <u>semanas</u>
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Tabla 20c. - Desmaquillador, pH 8,1 con ECT-6 al 1%. - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	7,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	2,6x10 <sup>3</sup>	<10	<10	<10	<10	<10

Conclusiones: Las mezclas conservantes de ECT pueden proteger eficazmente formulaciones cosméticas contra el crecimiento bacteriano y fúngico, a niveles de uso moderados incluso a pH alcalino.

**EJEMPLO 3. EFICIENCIA MICROBIOLÓGICA - Mezclas de conservación al 0,6 %**

Para determinar un intervalo de uso eficaz, se repitió el Ejemplo 2 con mezclas de ECT 4 a una tasa de dosificación del 0,6 %.

Sumario de los resultados de ensayo:

El ECT 4 ensayado al 0,6 % era eficaz en 4 de las 5 formulaciones de cuidado personal cumpliendo las recomendaciones de la CTFA para al menos un 99,9 % de reducción de las bacterias vegetativas y al menos un 90 % de las levaduras y los mohos en 7 días siguiendo cada estimulación sin aumento en el recuento a partir de entonces. No era eficaz, sin embargo, en la formulación de desmaquillador a alto pH.

Acondicionador para el cabello, pH 3,99, AR13-069 (el mismo que AR5-024) (Datos mostrados en las Tablas 21 a 23b)

Se dio una reducción excelente de todos los organismos estimulados en 24 horas en las muestras conservadas. Todos los organismos estimulados se redujeron a <10 ufc/g en una semana siguiendo a cada estimulación. La formulación cumplió las recomendaciones de la CTFA.

**Tabla 21 Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de acondicionador para el cabello**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	3,4x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,5x10 <sup>5</sup>	8,2x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	7,2x10 <sup>4</sup>	5,7x10 <sup>4</sup>

**Tabla 22 Inóculo recuperado de un acondicionador para el cabello a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,9x10 <sup>6</sup>	4,0x10 <sup>7</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	1,2 x10 <sup>6</sup>	1,0x10 <sup>8</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	2,2x10 <sup>6</sup>	1,5x10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	2,4x10 <sup>5</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>
Moho mixto	1,0x10 <sup>5</sup>	8,1x10 <sup>4</sup>

Tabla 23a. - Acondicionador para el cabello sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	1,7x10 <sup>4</sup>	-	8,0x10 <sup>6</sup>	>10 <sup>7</sup>	4,6x10 <sup>7</sup>	5,6x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>7</sup>	-	7,1x10 <sup>7</sup>	4,9x10 <sup>7</sup>	4,9x10 <sup>7</sup>	3,5x10 <sup>7</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	3,7x10 <sup>6</sup>	-	>3,0x10 <sup>7</sup>	1,8x10 <sup>8</sup>	8,6x10 <sup>7</sup>	5,6x10 <sup>7</sup>	9,3x10 <sup>7</sup>	-	1,1x10 <sup>8</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>	6,6x10 <sup>7</sup>	6,2x10 <sup>7</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,6x10 <sup>7</sup>	-	1,1x10 <sup>8</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>	1,5x10 <sup>8</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>	1,1x10 <sup>8</sup>	-	1,0x10 <sup>8</sup>	3,1x10 <sup>8</sup>	2,3x10 <sup>8</sup>	3,0x10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	3,7x10 <sup>5</sup>	-	8,8x10 <sup>6</sup>	3,7x10 <sup>6*</sup> (3,4x10 <sup>6</sup> )	7,2x10 <sup>6*</sup> (5,4x10 <sup>7</sup> )	5,8x10 <sup>6*</sup> (7,6x10 <sup>7</sup> )	8,8x10 <sup>6*</sup> (1,2x10 <sup>8</sup> )	-	5,3x10 <sup>6*</sup> (9,0x10 <sup>7</sup> )	7,0x10 <sup>6*</sup> (1,2x10 <sup>8</sup> )	1,1x10 <sup>6*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	3,8x10 <sup>6*</sup> (>3,0x10 <sup>7</sup> )
Moho mixto	3,4x10 <sup>4</sup>	2,2x10 <sup>4</sup>	3,1x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>3</sup>	3,9x10 <sup>3</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	2,5x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>4</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>

Tabla 23b. - Acondicionador para el cabello con ECT-4 al 0,6% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Desmaquillador, pH 5,15, AR12-067 (nº de ref. KKL9-181), (Datos mostrados en las tablas 24 a 26b)

Se dio una reducción excelente de todos los organismos estimulados en 24 horas con la mezcla de ECT 4 al 0,6 %. Todos los organismos estimulados se redujeron a <10 ufc/g en una semana siguiendo a cada estimulación. La formulación cumplió las recomendaciones de la CTFA.

5

**Tabla 24 Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de desmaquillador**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	1,6x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	3,4x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,5x10 <sup>5</sup>	8,2x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	7,2x10 <sup>4</sup>	5,7x10 <sup>4</sup>

**Tabla 25 Inóculo recuperado de un desmaquillador sin conservar, pH 5,15 a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

10

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	3,7x10 <sup>5</sup>	6,9x10 <sup>5</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	5,5x10 <sup>5</sup>	7,4x10 <sup>5</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	9,0x10 <sup>5</sup>	4,9x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	2,0x10 <sup>5</sup>	1,1x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	6,5x10 <sup>4</sup>	9,7x10 <sup>4</sup>

Tabla 26a. - Desmaquillador sin conservar a pH 5,15 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	2,3x10 <sup>2</sup>	-	<10	<10	<10	<10	1,7x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	2,6x10 <sup>5</sup>	-	1,5x10 <sup>4</sup>	<10	1,0x10 <sup>1</sup>	<10	1,8x10 <sup>5</sup>	-	6,1x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,8x10 <sup>5</sup>	-	4,3x10 <sup>6</sup>	5,8x10 <sup>6</sup>	4,3x10 <sup>6</sup>	2,8x10 <sup>6</sup>	4,8x10 <sup>6</sup>	-	6,0x10 <sup>6</sup>	6,3x10 <sup>6</sup>	5,2x10 <sup>6</sup>	7,1x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,3x10 <sup>5</sup>	-	4,3x10 <sup>4</sup>	5,5x10 <sup>4</sup>	3,8x10 <sup>4</sup>	4,2x10 <sup>4</sup>	5,6x10 <sup>4</sup>	-	1,6x10 <sup>3*</sup> (>3,0x10 <sup>5</sup> )	2,3x10 <sup>5*</sup> (>3,0x10 <sup>5</sup> )	5,0x10 <sup>4*</sup> (4,6x10 <sup>6</sup> )	5,2x10 <sup>4*</sup> (4,6x10 <sup>6</sup> )
Moho mixto	6,5x10 <sup>4</sup>	4,1x10 <sup>4</sup>	6,5x10 <sup>4</sup>	3,2x10 <sup>4</sup>	6,5x10 <sup>4</sup>	5,7x10 <sup>4</sup>	7,9x10 <sup>4</sup>	4,7x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>5</sup>	7,2x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>5</sup>	5,5x10 <sup>4</sup>

Tabla 26b. - Desmaquillador con ECT4 al 0,6%, pH 5,15 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	1,3x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

(i) Loción, pH 7,85, KKL 14-46 (Datos mostrados en las Tablas 27 a 29b)

5 La presente formulación se contaminó antes del inicio del presente ensayo y se observó previamente que era más susceptible a la contaminación que los otros cuatro productos ensayados. Se dio una reducción excelente de todos los organismos estimulados con la mezcla de ECT 4 al 0,6 % en 24 horas. Todos los organismos estimulados se redujeron a <10 ufc/g en una semana siguiendo a cada estimulación. La formulación cumplió las recomendaciones de la CTFA.

**Tabla 27. - Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de producto**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,5x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	1,7x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,3x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	5,2x10 <sup>4</sup>	7,1x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,9x10 <sup>4</sup>	3,9x10 <sup>4</sup>

10

**Tabla 28. - Inóculo recuperado de una loción sin conservar a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	>3,0x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	>3,0x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>7</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,9x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>
<i>C. albicans</i>	1,0x10 <sup>6</sup> (2,5x10 <sup>7</sup> *)	4,2x10 <sup>5</sup> (5,8x10 <sup>6</sup> *)
Moho mixto	2,3x10 <sup>4</sup> (>3,0x10 <sup>7</sup> *)	3,0x10 <sup>4</sup> (6,3x10 <sup>6</sup> *)
*contaminante bacteriano		

Tabla 29a. - Loción sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	>3,0x10 <sup>7</sup>	-	1,4x10 <sup>7</sup>	2,9x10 <sup>7</sup>	4,3x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>7</sup>	-	2,1x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>7</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	>3,0x10 <sup>7</sup>	-	2,4x10 <sup>7</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>	3,4x10 <sup>7</sup>	1,7x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>7</sup>	-	1,4x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>7</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,7x10 <sup>7</sup>	-	3,2x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>8</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>7</sup>	-	2,0x10 <sup>7</sup>	3,8x10 <sup>7</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>	3,7x10 <sup>7</sup>
<i>C. albicans</i>	1,2x10 <sup>6*</sup> (>3,0x10 <sup>7</sup> )	-	1,3x10 <sup>7</sup>	7,0x10 <sup>5</sup> (9,9x10 <sup>6</sup> )	4,3x10 <sup>6*</sup> (6,9x10 <sup>7</sup> )	3,1x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	4,8x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	-	5,0x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	2,6x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	2,2x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	2,9x10 <sup>5</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )
Moho mixto	1,2x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>7</sup> )	1,7x10 <sup>4*</sup> (2,0x10 <sup>7</sup> )	1,8x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>5</sup> )	4,0x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	1,7x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	1,0x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	3,0x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	3,1x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	2,4x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	1,1x10 <sup>5*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	3,1x10 <sup>4*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )	1,1x10 <sup>5*</sup> (>3,0x10 <sup>6</sup> )

\* Contaminación bacteriana

Tabla 29b. - Loción con ECT 4 al 0,6% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	<u>24</u> horas	<u>48</u> horas	<u>1</u> semana	<u>2</u> semanas	<u>3</u> semanas	<u>4</u> semanas	<u>24</u> horas	<u>48</u> horas	<u>1</u> semana	<u>2</u> semanas	<u>3</u> semanas	<u>4</u> semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	2,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	1,4x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10	<10

(i) Emulsión agua en aceite, pH N/D, AR12-068 (Datos mostrados en las Tablas 30 a 32b)

Aunque los inóculos de *S. aureus*, *K. pneumoniae*/*E. gergoviae* y *Ps. aeruginosa*/*B. cepacia* murieron en una semana en la muestra sin conservar siguiendo a la primera estimulación, todos los organismos estimulados en las muestras conservadas se redujeron a <10 ufc/g en 48 h. La formulación cumplió las recomendaciones de la CTFA.

5

**Tabla 30.-Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de producto**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	1,5x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	1,7x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,3x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	5,2x10 <sup>4</sup>	7,1x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,9x10 <sup>4</sup>	3,9x10 <sup>4</sup>

**Tabla 31.- Inóculo recuperado de una emulsión agua en aceite sin conservar (68A) a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

10

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	4,2x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	5,5x10 <sup>5</sup>	2,4x10 <sup>5</sup>
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	1,2x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>5</sup>
<i>C. albicans</i>	4,0x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>4</sup>
Moho mixto	1,7x10 <sup>4</sup>	3,9x10 <sup>4</sup>

Tabla 32a. - Emulsión agua en aceite sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>						<u>Estimulación nº 2</u>					
	<u>24 horas</u>	<u>48 horas</u>	<u>1 semana</u>	<u>2 semanas</u>	<u>3 semanas</u>	<u>4 semanas</u>	<u>48 horas</u>	<u>1 semana</u>	<u>2 semanas</u>	<u>3 semanas</u>	<u>4 semanas</u>	
<i>S. aureus</i>	7,0x10 <sup>4</sup>	-	<10	<10	<10	<10	2,4x10 <sup>5</sup>	<10	<10	<10	<10	
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	1,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	8,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	6,0x10 <sup>1</sup>	<10	4,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	
<i>C. albicans</i>	8,0x10 <sup>2</sup>	-	1,8x10 <sup>2</sup>	2,7x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	3,2x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>4</sup>	8,5x10 <sup>3</sup>	5,4x10 <sup>3</sup>	6,9x10 <sup>3</sup>	6,6x10 <sup>3</sup>	
Moho mixto	2,8x10 <sup>3</sup>	2,9x10 <sup>3</sup>	1,8x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	5,1x10 <sup>2</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>	2,2x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	2,3x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	

Tabla 32b. - Emulsión agua en aceite con ECT 4 al 0,6% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1						Estimulación nº 2					
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	-	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	7,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

(i) Desmaquillador, pH 8,1, KKL 14-45 (Datos mostrados en las Tablas 33 a 35b)

5 La presente formulación con ECT 4 al 0,6 % no cumplió las recomendaciones de la CTFA para una disminución del 90 % en hongos en 1 semana. Las muestras sin conservar tenían muy poca supervivencia de los *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, pero los *Pseudomonas*, *Burkholderia*, levaduras y hongos sobrevivieron. La formulación no cumplió las recomendaciones de la CTFA, mientras que un 1 % de dosis dio buena actividad (véase la Tabla 20b). El ensayo fue discontinuo después de que la segunda estimulación se tuviera que hacer debido al fallo del producto.

10 **Tabla 33.-Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de desmaquillador, pH 8,1 (45A-C)**

	<b>Estimulación nº 1</b>	<b>Estimulación nº 2</b>
<b>Organismo</b>	<b>UFC/g</b>	<b>UFC/g</b>
<i>S. aureus</i>	1,5x10 <sup>6</sup>	-
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	1,7x10 <sup>6</sup>	-
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,3x10 <sup>6</sup>	-
<i>C. albicans</i>	5,2x10 <sup>4</sup>	-
Moho mixto	1,9x10 <sup>4</sup>	-

**Tabla 34.- Inóculo recuperado de un desmaquillador, pH 8,1 (45A) a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<b>Estimulación nº 1</b>	<b>Estimulación nº 2</b>
<b>Organismo</b>	<b>UFC/g</b>	<b>UFC/g</b>
<i>S. aureus</i>	6,1x10 <sup>3</sup>	-
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,7x10 <sup>5</sup>	-
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	5,2x10 <sup>2</sup>	-
<i>C. albicans</i>	1,2x10 <sup>4</sup>	-
Moho mixto	6,5x10 <sup>4</sup>	-

15

Tabla 35a. - Desmaquillador sin conservar, pH 8,1 - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	4,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	cultivo	cultivo	4,3x10 <sup>6</sup>	2,5x10 <sup>6</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>C. albicans</i>	8,1x10 <sup>2</sup>	-	2,6x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Moho mixto	4,7x10 <sup>4</sup>	4,1x10 <sup>4</sup>	4,7x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	6,3x10 <sup>3</sup>						

Ensayo terminado

Tabla 35b. - Desmaquillador, pH 8,1 con ECT 4 al 0,6% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo	Estimulación nº 1					Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	24 horas	48 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	-	<10	<10	<10	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	3,0x10 <sup>1</sup>	-	<10	<10	-	<10	<10	<10	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	-	<10	<10	<10	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	1,4x10 <sup>3</sup>	-	4,0x10 <sup>1</sup>	<10	-	<10	<10	<10	-	-	-	-
Moho mixto	2,1x10 <sup>4</sup>	4,2x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>4</sup>	-	4,0x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-

Ensayo terminado

Para determinar si la actividad inesperada del ECT 4 a pH alto (8,1) puede atribuirse solamente a la actividad del alcohol bencílico el desmaquillador de alto pH se conservó con ECT4 al 1 % y con alcohol bencílico al 0,83 % (cantidad equivalente encontrada en el ECT4 al 1 %).

5 Sumario de los resultados:

10 Los datos mostraron que el ECT4 es más eficaz que lo que lo es el alcohol bencílico solo, las Tablas 39 y 40 muestran que el alcohol bencílico solo no era suficientemente eficiente contra la estimulación de mohos mixtos. El desmaquillador de alto pH conservado solamente con alcohol bencílico no cumplía las recomendaciones de la CTFA para un mínimo del 90 % de reducción en mohos en 7 días; la muestra con ECT4 al 1 % cumple estos criterios. Esto es inesperado ya que no se esperaba que los ácidos orgánicos del ECT4 tuvieran ninguna actividad en este pH alto.

**Tabla 36.-Inóculo - Unidades formadoras de colonias añadidas por gramo (UFC/g) de producto**

<u>Organismo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<i>S. aureus</i>	2,5x10 <sup>6</sup>	2,0x10 <sup>6</sup>
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	3,7x10 <sup>6</sup>	3,0x10 <sup>6</sup>
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	1,8x10 <sup>6</sup>	3,0x10 <sup>6</sup>
<i>C. albicans</i>	1,3x10 <sup>5</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>
Moho mixto	1,1x10 <sup>5</sup>	2,2x10 <sup>4</sup>

15 **Tabla 37.-Inóculo recuperado de un producto sin conservar a "0" horas - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)**

	<u>Estimulación nº 1</u>	<u>Estimulación nº 2</u>
<u>Organismo</u>	<u>UFC/g</u>	<u>UFC/g</u>
<i>S. aureus</i>	5,5x10 <sup>4</sup>	NP
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	2,3x10 <sup>5</sup>	NP
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	3,7x10 <sup>5</sup>	NP
<i>C. albicans</i>	7,4x10 <sup>5</sup>	NP
Moho mixto	9,0x10 <sup>4</sup>	NP
NP = no en placa, sobrecrecimiento de bacterias estimuladas contaminantes		

Tabla 38.- Sin conservar - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo de ensayo	Estimulación nº 1							Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	7 días	14 días	21 días	28 días	24 horas	48 horas	7 días	14 días	21 días	28 días		
<i>S. aureus</i>	3,7x10 <sup>4</sup>	-	*	*	NP	NP	NP	-	NP	NP	NP	NP		
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	6,7x10 <sup>4</sup>	-	*	*	NP	NP	NP	-	NP	NP	NP	NP		
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	4,0x10 <sup>5</sup>	-	*	*	NP	NP	NP	-	NP	NP	NP	NP		
<i>C. albicans</i>	2,7x10 <sup>5</sup>	-	*	*	NP	NP	NP	-	NP	NP	NP	NP		
Moho mixto	8,0x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>5</sup>	*	*	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP		

\* Sobrecrecimiento de bacterias estimuladas contaminantes  
 NP = no en placa, sobrecrecimiento de bacterias estimuladas contaminantes

Tabla 39.- Desmaquillador con ECT 4 al 1% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

Organismo de ensayo	Estimulación nº 1							Estimulación nº 2						
	24 horas	48 horas	7 días	14 días	21 días	28 días	24 horas	48 horas	7 días	14 días	21 días	28 días		
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	<10		
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	<10		
<i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i>	2,1x10 <sup>3</sup>	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	<10		
<i>C. albicans</i>	1,8x10 <sup>5</sup>	-	<10	<10	<10	<10	NP	<1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10		
Moho mixto	5,0x10 <sup>4</sup>	5,0x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>3</sup>	4,2x10 <sup>2</sup>	2,8x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	NP	1,0x10 <sup>2</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>	6,0x10 <sup>1</sup>	1,0x10 <sup>1</sup>	<10		
NP = no en placa														

Tabla 40.- Desmaquillador a pH 8,1 con alcohol bencílico al 0,83% - Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g)

<u>Organismo de ensayo</u>	<u>Estimulación nº 1</u>						<u>Estimulación nº 2</u>					
	<u>24 horas</u>	<u>48 horas</u>	<u>7 días</u>	<u>14 días</u>	<u>21 días</u>	<u>28 días</u>	<u>48 horas</u>	<u>7 días</u>	<u>14 días</u>	<u>21 días</u>	<u>28 días</u>	
<i>S. aureus</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	
<i>K. pneumoniae + E. gergoviae</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	
<i>P. aeruginosa + B. cepacia</i>	<10	-	<10	<10	<10	<10	NP	<10	<10	<10	<10	
<i>C. albicans</i>	3,1x10 <sup>4</sup>	-	1,6x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	NP	<1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	
Moho mixto	2,1 x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>5</sup>	3,0x10 <sup>4</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>4</sup>	5,1x10 <sup>3</sup>	NP	3,4x10 <sup>3</sup>	3,6x10 <sup>3</sup>	9,0x10 <sup>3</sup>	4,0x10 <sup>2</sup>	

NP = no en placa

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que tiene una actividad de conservación de amplio espectro eficaz, que comprende: (a) alcohol bencílico, (b) ácido salicílico, (c) ácido sórbico y (d) un compuesto seleccionado del grupo que consiste en 1,3-propanodiol, glicerina y una combinación de los mismos, en la que el componente (a) está presente a una concentración del 70 % al 90 % en peso, el componente (b) está presente a una concentración del 1 % al 15 % en peso, el componente (c) está presente a una concentración del 1 % al 4 % en peso y el componente (d) está presente a una concentración del 1 % al 15 % en peso, con la condición de que la cantidad total de los componentes (b) y (c) no sea mayor del 15 % en peso, todo ello basado en el peso total de la composición.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1 en donde la composición está libre de agua.
- 15 3. La composición de la reivindicación 1 en la que el porcentaje total de los componentes (a), (b), (c) y (d) combinado es el 100 %.
- 20 4. La composición de la reivindicación 1 en la que el componente (a) está presente a una concentración del 77 % al 86 % en peso, el componente (b) está presente a una concentración del 3 % al 12 % en peso, el componente (c) está presente a una concentración del 2,5 % al 3,5 % en peso y el componente (d) está presente a una concentración del 1 % al 10 % en peso, basándose en el peso total de la composición.
- 25 5. La composición de la reivindicación 1 en la que el componente (d) es glicerina presente a una concentración del 2 % al 5 %.
- 30 6. La composición de la reivindicación 1 en la que el componente (d) es 1,3-propanodiol presente a una concentración del 2 % al 5 %.
- 35 7. La composición de la reivindicación 1 que comprende adicionalmente ácido deshidroacético, en la que la cantidad total de ácido salicílico, ácido sórbico y ácido deshidroacético no es mayor del 15 % de la composición.
- 40 8. La composición de la reivindicación 7 en la que el ácido deshidroacético y el componente (d) están presentes en un intervalo de relación de 3:1 a 1:1.
- 45 9. La composición de la reivindicación 1 en la que el componente (a) está presente a una concentración del 77 % al 86 %, el componente (b) está presente a una concentración del 8 % al 11 %, el componente (c) está presente a una concentración del 2,5 % al 3,5 % y el componente (d) es glicerina presente a una concentración del 2 % al 5 %, todo ello basado en el peso total de la composición.
- 50 10. Una formulación tópica que comprende una composición de la reivindicación 1 y aditivos seleccionados del grupo que consiste en disolventes, tensioactivos, emulsionantes, factores de consistencia, acondicionadores, emolientes, ingredientes para el cuidado de la piel, humectantes, espesantes, lubricantes, cargas, anti-oxidantes, otros conservantes, principios activos, fragancias y mezclas de los mismos.
11. La formulación tópica de la reivindicación 10 en donde la composición de la reivindicación 1 está presente a una concentración del 0,5 % al 1,5 % basándose en el peso de la formulación.
12. La formulación tópica de la reivindicación 11 en donde la composición de la reivindicación 1 está presente a una concentración del 0,6 % al 1 % basándose en el peso de la formulación.
13. La formulación tópica de la reivindicación 10 en donde la formulación está en forma de una emulsión de aceite en agua.
14. La formulación tópica de la reivindicación 10 en donde la formulación está en forma de una emulsión de agua en aceite.