



CERTIFICATO DI ANALISI / ANALYSIS CERTIFICATION

CHALLENGE TEST (FARMACOPEA EUROPEA)

FERRARA, 01/06/2023

COMMITTENTE / CUSTOMER: MEDISILK SPA

DATA DI RICEVIMENTO DEL CAMPIONE / RECEPTION DATE : 06/04/2023

IDENTIFICATIVO PRODOTTO / PRODUCT NAME : CREMA DETERGENTE E TONICO 2 IN 1

PERIODO DI ANALISI / ANALYSIS PERIOD : 18/04/2023 - 22/05/2023

DESCRIZIONE DEL TEST:

Il challenge test ha lo scopo di verificare l'efficacia e la stabilità di un preservante all'interno di una preparazione cosmetica. Il test è stato eseguito seguendo i criteri stabiliti da Farmacopea Europea 10.0 (2019). A tal proposito, vengono trasferiti 30 grammi di prodotto in contenitori sterili e questi vengono inoculati con

TEST DESCRIPTION:

Challenge test is a test to assess the efficacy and the stability of a preservation system of a cosmetic product. The test has been conducted according to Farmacopea Europea 10,0 criteria (2019). 30 g of product have been transferred to sterile containers and then inoculated with

ESCHERICHIA COLI (ATCC 8739)

STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ATCC 6538)

PSEUDOMONAS AERUGINOSA (ATCC 9027)

CANDIDA ALBICANS (ATCC 10231)

ASPERGILLUS BRASILIENSIS (ATCC 16404)

Vengono inoltre inoculate delle aliquote di 30 grammi di soluzione fisiologica (0,9% NaCl) sterile con la medesima carica batterica o fungina; 1 grammo di fisiologica inocolata e di prodotto inocolato vengono diluiti in terreno liquido Eugon LT 100 (terreno inattivante) e poi piastrati per inclusione in Tryptic soy agar (TSA) + 0,07% Lecitina di soia + 0,5% Polisorbato 80 (batteri) e Sabouraud Dextrose agar (SDA) + 1% Polisorbato 80 (miceti).

Le piastrature vengono effettuate subito dopo l'inoculo per la soluzione fisiologica e 2 giorni, 7 giorni, 14 giorni e 28 giorni per il prodotto in esame; i tempi di incubazione sono 24 ore a 35 °C (TSA) per osservare la crescita batterica e da 3 a 5 giorni a 25 °C (SDA) per osservare la crescita di lieviti e muffe.

Viene quindi effettuata la conta delle colonie. I criteri di accettabilità del test utilizzati sono quelli riportati nella tabella 5.1.3.-2 presente in Farmacopea Europea 10 e relativa a preparazioni per uso cutaneo.

30 g of sterile saline solution (0,9 % NaCl) have been inoculated with the same bacterial or mold count; 1g of inoculated saline and product are then diluted in Eugon LT100 broth (inactivating medium) and seeded by inclusion in Tryptic soy agar (TSA) + 0,07% Soy lecithin + 0,5% Polysorbate 80 (for bacterial growth) and Sabouraud dextrose agar (SDA) + 1% Polysorbate 80 (for mold growth).

Diluted inoculated saline has been immediately plated while diluted inoculated products have been plated after 48 hours, 7 days, 14 days, and 28 days; all plates have been incubated for 24 h at 35 °C (TSA) for bacterial growth and from 3 to 5 days at 25 °C (SDA) for mold growth.

Colonies have been counted. Farmacopea Europea 10 (table 5.1.3-2) acceptability criteria have been used, regarding Ear preparations, nasal preparations, preparations for cutaneous application and preparations for inhalation.

		Log ₁₀ reduction			
		2 d	7 d	14 d	28 d
Bacteria	A	2	3	-	NI
	B	-	-	3	NI
Fungi	A	-	-	2	NI
	B	-	-	1	NI

NI: no increase in number of viable micro-organisms compared to the previous reading.

Table 5.1.3.-2. - *Ear preparations, nasal preparations, preparations for cutaneous application and preparations for inhalation*

RISULTATI/RESULTS:

TABELLA 1 / TABLE 1: Risultati espressi in cfu/g / Results expressed as cfu/g

	T ₀	2 giorni/ days	7 giorni/ days	14 giorni/ days	28 giorni/ days
S. aureus	1,0 x 10 ⁶	8,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁴	6,0 x 10 ²	< 10
P. aeruginosa	1,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁵	8,0 x 10 ²	< 10
E. coli	1,0 x 10 ⁶	7,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁴	2,0 x 10 ²	< 10
C. albicans	1,0 x 10 ⁵	-	< 10	< 10	< 10
A. brasiliensis	1,0 x 10 ⁵	-	5,0 x 10 ⁴	3,0 x 10 ²	< 10

TABELLA 2 / TABLE 2: Risultati espressi in riduzione logaritmica (log₁₀) / Results expressed as logarithmic reduction (log₁₀)

	2 giorni/days	7 giorni/ days	14 giorni/ days	28 giorni/ days	Risultato/Result
S. aureus	< 1 log ₁₀	> 1 log ₁₀	> 3 log ₁₀	> 6 log ₁₀	Accettabile/Acceptable CRITERIO B
P. aeruginosa	< 1 log ₁₀	1 log ₁₀	> 3 log ₁₀	> 6 log ₁₀	Accettabile/Acceptable CRITERIO B
E. coli	< 1 log ₁₀	2 log ₁₀	> 3 log ₁₀	> 6 log ₁₀	Accettabile/Acceptable CRITERIO B
C. albicans	-	> 5 log ₁₀	NI	NI	Accettabile/Acceptable CRITERIO A
A. brasiliensis	-	< 1 log ₁₀	> 2 log ₁₀	> 5 log ₁₀	Accettabile/Acceptable CRITERIO A

NI (no increase): nessun aumento rispetto all'osservazione precedente

NI (no increase): No increase in relation to previous observation

GRAFICO 1 / DIAGRAM 1: Grafico rappresentante la riduzione logaritmica (\log_{10}) della carica batterica iniziale in funzione del tempo / Diagram of the logarithmic reduction (\log_{10}) of initial bacterial load vs time

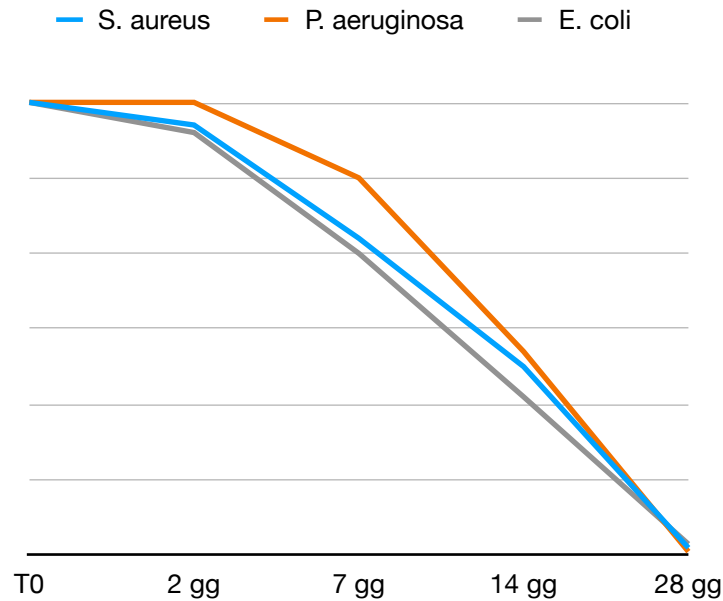
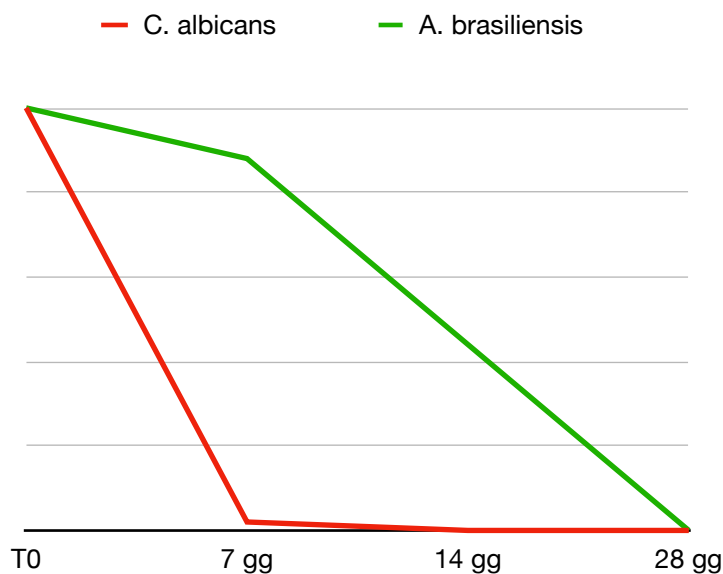


GRAFICO 2 / DIAGRAM 2: Grafico rappresentante la riduzione logaritmica (\log_{10}) della carica fungina iniziale in funzione del tempo / Diagram of the logarithmic reduction (\log_{10}) of initial mold load vs time





CONCLUSIONI:

Relativamente ai batteri, il sistema preservante del prodotto **Crema Detergente e Tónico 2 in 1**, secondo i criteri di accettabilità presenti in Farmacopea Europea 10.0, risulta **IDONEO (CRITERIO B)**.

Relativamente ai miceti, il sistema preservante del prodotto **Crema Detergente e Tónico 2 in 1**, secondo i criteri di accettabilità presenti in Farmacopea Europea 10.0, risulta **IDONEO (CRITERIO A)**.

CONCLUSIONS:

*Related to bacteria, preservative system of the product **Crema Detergente e Tónico 2 in 1**, according to Farmacopea Europea 10.0 criteria, is **ADEQUATE (CRITERION B)**.*

*Related to molds, preservative system of the product **Crema Detergente e Tónico 2 in 1**, according to Farmacopea Europea 10.0 criteria, is **ADEQUATE (CRITERION A)**.*

Il responsabile del Laboratorio di Microbiologia


Prof.ssa Peggy Marconi