



# CERTIFICATO DI ANALISI / ANALYSIS CERTIFICATION

## CHALLENGE TEST (FARMACOPEA EUROPEA)

FERRARA, 22/08/2022

**COMMITTENTE / CUSTOMER:** AGRINSICILIA SOC. COOP. AGRICOLA E SOCIALE ARL

**DATA DI RICEVIMENTO DEL CAMPIONE / RECEPTION DATE :** 21/06/22

**IDENTIFICATIVO PRODOTTO / PRODUCT NAME :** OPUNTIA FICUS INDICA - OPUNTIA GEL 100

**PERIODO DI ANALISI / ANALYSIS PERIOD :** 28/06/2022 - 01/08/2022

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 <sub>10</sub> 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*

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

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

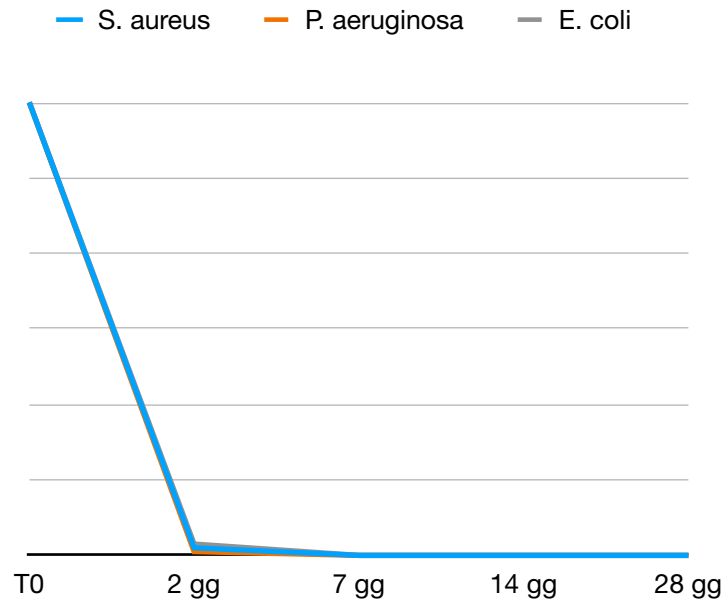
**TABELLA 2 / TABLE 2:** Risultati espressi in riduzione logaritmica (log<sub>10</sub>) / Results expressed as logarithmic reduction (log<sub>10</sub>)

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

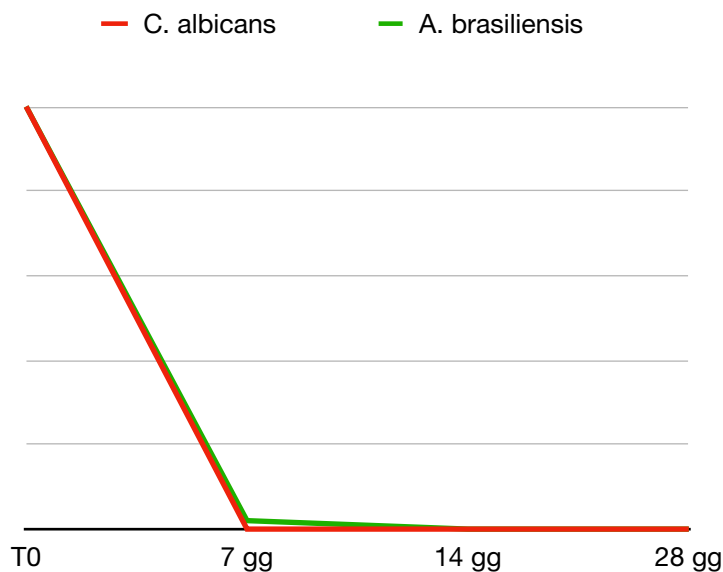
NI (no increase): nessun aumento rispetto all'osservazione precedente

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 **Opuntia Ficus Indica - Opuntia Gel 100**, secondo i criteri di accettabilità presenti in Farmacopea Europea 10.0, risulta **IDONEO (criterio A)**.

Relativamente ai miceti, il sistema preservante del prodotto **Opuntia Ficus Indica - Opuntia Gel 100**, secondo i criteri di accettabilità presenti in Farmacopea Europea 10.0, risulta **IDONEO (criterio A)**.

### **CONCLUSIONS:**

*Related to bacteria, preservative system of the product **Opuntia Ficus Indica - Opuntia Gel 100**, according to Farmacopea Europea 10.0 criteria, is **ADEQUATE (criterion A)**.*

*Related to molds, preservative system of the product **Opuntia Ficus Indica - Opuntia Gel 100**, according to Farmacopea Europea 10.0 criteria, is **ADEQUATE (criterion A)**.*

Il responsabile del Laboratorio di Microbiologia

Prof.ssa Peggy Marconi