

---

# *La contaminazione microbiologica e la stabilità dei prodotti cosmetici*

**Silvia Boracchi**

**AGER - Monza**

SITOX

*16 aprile 2013*

**CORSO di VALUTAZIONE della  
SICUREZZA dei COSMETICI**

Si parla di...

---



# MICROORGANISMI

# Contenuti

---

- Il ruolo della qualità microbiologica nella sicurezza del prodotto cosmetico
- Qualità e stabilità microbiologica dei prodotti cosmetici: Challenge test, determinazione del Pa
- Il Risk Assessment microbiologico

## Cosmetici e contaminazioni microbiche

---

- Una "buona" qualità microbiologica è un importante prerequisito di sicurezza dei prodotti cosmetici
- La pelle e le mucose sono protette dagli attacchi microbici da un meccanismo di barriera naturale e da vari altri meccanismi di difesa
- Tuttavia, questi meccanismi possono essere danneggiati e piccoli traumi possono favorire l'instaurarsi di infezioni microbiche

# Meccanismi di difesa

---

## ASPECIFICI

Superficiali barriere anatomiche  
sostanze antibatteriche (*sebo, lisozima*)  
meccanismi di allontanamento (*desquamazione, cilia, lacrime, saliva, ecc.*)  
flora commensale (*competitiva/antagonista*)

Profondi reazioni infiammatorie  
fagocitosi (*leucociti, monociti*)

## SPECIFICI

difese immunitarie

# Colonizzanti

---

## Microorganismi COLONIZZANTI

(*SIMBIONTI* o *COMMENSALI*)

- sono in grado di albergare nell'ospite senza determinare malattia (rapporto *mutualistico* con l'ospite)

### La μflora cutanea:

- Nell'adulto, ca 2mq di cute (10<sup>12</sup> batteri?)
- 10<sup>2</sup> - 10<sup>6</sup> batteri/cm<sup>2</sup>

Staphylococcus (S.warneri, albus, hominis, epidermidis...)

Micrococcus (M.luteus)

Corynebacterium

Propionibacterium

Gram negativi (Enterobacter, Klebsiella, E.coli...)

Candida, Malassezia furfur, ecc.

# Patogeni

---

## Microorganismi PATOGENI

- "Microorganismi capaci di causare malattia nell'ospite"

### Patogeni primari

causano regolarmente malattia ameno in una porzione degli ospiti con difese non compromesse

### Patogeni opportunisti

causano malattia solo in quegli ospiti le cui difese sono compromesse (*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*)

→ Molti  $\mu$ organismi elencati fra i residenti "normali" possono diventare patogeni in certe condizioni

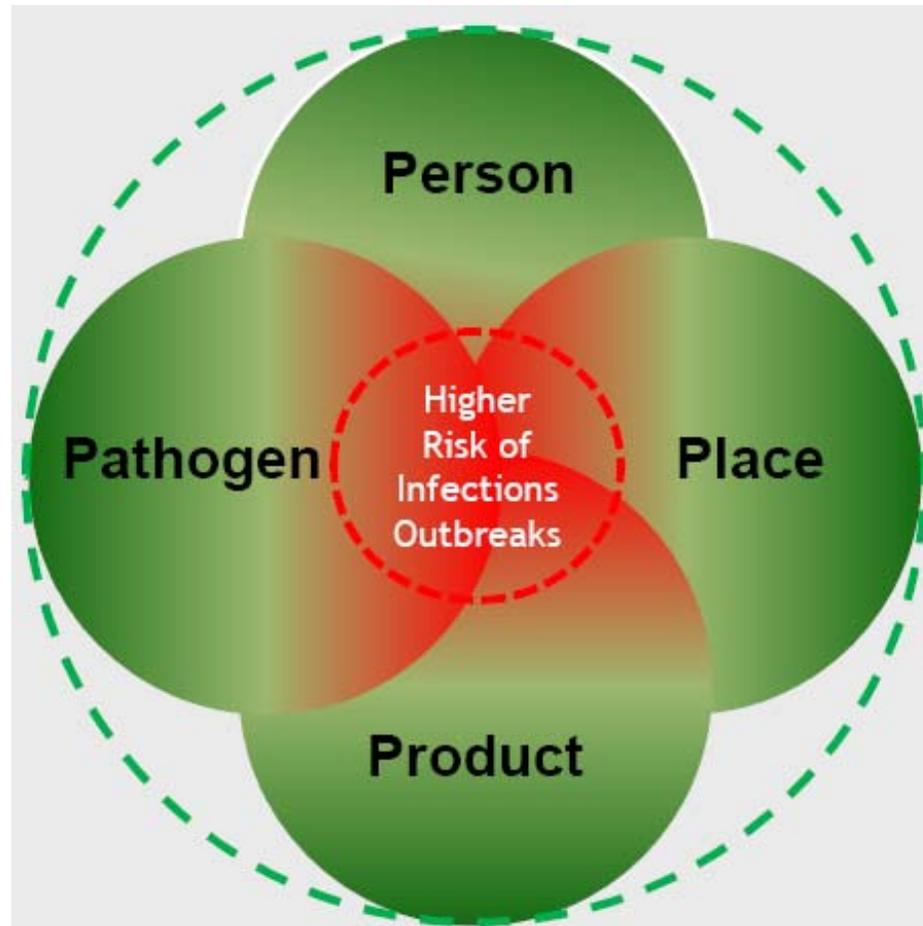
## Fattori che influenzano l'infezione

---

<i>Del germe</i>	<i>Dell'ospite</i>
<b>Virulenza</b>	<b>Difese naturali</b>
<b>Carica infettante</b>	<b>Stato immunitario</b>

# Fattori che influenzano l'infezione

---



- individuo **sano**
- uso **personale, esterno, su cute con barriera integra**
- organismo **benigno**
  
- individuo **suscettibile**
- uso **condiviso, su cute con barriera compromessa**
- organismo **patogeno virulento**

## I casi storici

---

- Letteratura su cosmetici perioculari ('60 / '70):
  - mascara contaminati da *P. aeruginosa* (Atlanta, 1977)  
→ ulcere corneali
  - altri cosmetici per l'area perioculare da *S.epidermidis* o altri cocchi Gram + → congiuntiviti/blefariti
- Crema per mani contaminata da *S.aureus* in ospedale → infezioni in diversi pazienti
- Gravi infezioni batteriche (*B.cepacia*) dovute all'uso di una lozione per il corpo contaminata in un ospedale spagnolo (Barcellona, 2006: batteriemia, infezioni urinarie e del tratto respiratorio)

## I casi storici

---

### Spagna, 2006:

- la lozione contaminata era stata applicata dalle infermiere a pazienti allettati
- test microbiologici → conferma che il prodotto era stato contaminato nelle fasi di produzione, trasporto o stoccaggio prima dell'applicazione
- la presenza di bassi livelli di contaminazione nei cosmetici non é causa probabile di problemi in consumatori sani, ma può causare infezioni gravi in individui con funzioni immunitarie compromesse

*Burkholderia cepacia* è un batterio Gram negativo che può presentare resistenza a diversi agenti antimicrobici

# I casi storici

---

## Allegato 1 al Regolamento 1223/2009:

### 3. Qualità microbiologica

Le specifiche microbiologiche della sostanza o miscela e del prodotto cosmetico. Va prestata particolare attenzione ai prodotti cosmetici da impiegare nella zona perioculare, sulle membrane mucose in generale, sulla cute lesa, su bambini di età inferiore a tre anni, su persone anziane e persone che evidenziano deficit del sistema immunitario.

Risultati del challenge test per la verifica della capacità di conservazione.

# La qualità microbiologica dei cosmetici

---



## **THE SCCS'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC SUBSTANCES AND THEIR SAFETY EVALUATION 8<sup>TH</sup> REVISION**

### **4-4 GUIDELINES ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE FINISHED COSMETIC PRODUCT**

# La qualità microbiologica dei cosmetici

---

## 4-4.2 Quantitative and qualitative limits (SCCS, 2012)

*Category 1:* Products specifically intended for children under 3 years, to be used in the eye area and on mucous membranes.

*Category 2:* Other products.

Category 1:  $< 10^2$  cfu/g-ml

Category 2:  $< 10^3$  cfu/g-ml

*S.aureus*, *P.aeruginosa*, *C.albicans* sono considerati i principali patogeni potenziali nei prodotti cosmetici → la loro presenza non deve essere dimostrabile in 0.5 g-ml (Cat.1) o 0.2 g-ml (Cat.2) di prodotto

# La stabilità microbiologica dei cosmetici

---

## 4-4.3 Challenge testing (*SCCS, 2012*)

- L'efficacia della preservazione di un prodotto cosmetico deve essere valutata sperimentalmente per assicurare la stabilità microbiologica
- Il Challenge test consiste nell'inoculo artificiale di un prodotto finito, seguito da una valutazione della diminuzione di contaminazione a tempi prefissati
- Non esistono metodiche universali o indicate per legge  
→ il produttore é responsabile della metodologia scelta

# Test di Stabilità

---

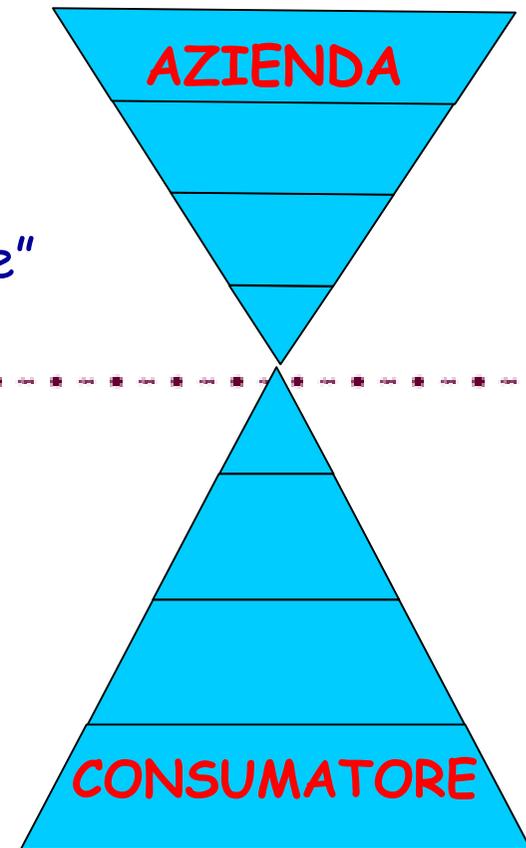
Un prodotto cosmetico deve poter mantenere la propria stabilità microbiologica durante le fasi di

PRODUZIONE  
STOCCAGGIO  
RIEMPIMENTO  
TRASPORTO

CONTAMINAZIONE  
**INTRINSECA**  
"durante la produzione"

APERTURA  
USO a casa,  
al lavoro, in luoghi  
pubblici

CONTAMINAZIONE  
**ESTRINSECA**  
"in use"



## Variabili nelle metodiche di Challenge

---

Esistono diverse metodiche sperimentali in uso nell'industria cosmetica:

- CTFA Microbiology Guidelines (2007)
- European Pharmacopoeia 7.0 (2010)
- USP 34 (2011)
- ISO 11930 (2012)

## Variabili nelle metodiche di Challenge

---

- Microorganismi di saggio
- Valore dell'inoculo iniziale
- Criteri di accettabilità

Ma anche:

- Terreni e diluenti (neutralizzante!)
- Metodi di conta dei microorganismi
- Volume dell'inoculo acquoso
- .....

## Variabili nelle metodiche di Challenge

	<b>Livello di contaminazione iniziale (cfu/ml)</b>	<b>μ-organismi di saggio</b>	<b>Criteri di accettabilità</b>
<b>CTFA (2007)</b>	<b>Batteri:</b> $10^6$ <b>Miceti:</b> $10^5$	Colture pure o miste, di collezione oppure <i>in-house</i>	<b>Batteri</b> Riduzione 99.9% in 7 g <b>Miceti</b> Riduzione 90% in 7 g No aumento fino al 28 g
<b>ISO 11930 (2012)</b>	<b>Batteri:</b> $10^5 / 10^6$ <b>Miceti:</b> $10^4 / 10^5$	S.aureus ATCC 6538 P.aeruginosa ATCC 9027 E.coli ATCC 8739 C.albicans ATCC 10231 A.brasiliensis ATCC 16404	<b>Criterio A</b> <b>Criterio B</b>

# Standard ISO 11930

---

## CRITERI DI ACCETTABILITA'

		Log reduction		
		7d	14d	28d
Bacteria	A	3	NI	NI
Fungi ( <i>C.albicans</i> )	A	1	NI	NI
Fungi ( <i>A.brasiliensis</i> )	A	-	-	1

NI = No Increase

# Standard ISO 11930

## CRITERI DI ACCETTABILITA'

		Log reduction		
		7d	14d	28d
Bacteria	A	3	NI	NI
	B	-	3	NI
Fungi ( <i>C.albicans</i> )	A	1	NI	NI
	B	-	1	NI
Fungi ( <i>A.brasiliensis</i> )	A	-	-	1
	B	-	NI	NI

NI = No Increase

# Standard ISO 11930

---

## Standard ISO 11930 (2012)

*Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product*

- Metodica di Challenge test (é una linea guida... aspetti tecnici modificabili!)
- Procedura per la valutazione complessiva della protezione antimicrobica del prodotto

## Standard ISO 11930

---

- La valutazione complessiva tiene in considerazione il *microbiological risk assessment* e i risultati dei test di efficacia preservante
- Esistono 2 criteri di valutazione dei risultati (A e B): si ammette l'accettabilità secondo il criterio B qualora esistano degli ulteriori fattori di controllo non legati alla formulazione (es: packaging)
- Nel caso il prodotto non incontri né il criterio A né il B, la valutazione andrà condotta sulla sola base del risk assessment

# Risk assessment microbiologico

---

- Identificazione del **pericolo**:  
possibile sviluppo di microrganismi nel prodotto →
  - danno alla salute del consumatore
  - deterioramento del prodotto
- Quantificazione dell'**esposizione**:
- Quantificazione del **rischio**: la probabilità che gli eventi dannosi si verifichino é molto bassa in alcuni tipi di prodotto (prodotti "ostili")
- E' responsabilità del produttore dimostrare che il prodotto é sicuro e il livello di rischio é accettabile

# Standard ISO 29261

---

## Standard ISO 29261 (2010)

*Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products*

- Analisi del rischio microbiologico sulla base della combinazione di una serie di fattori "sub-letali":
  - Aw (acqua libera, termodinamicamente disponibile)
  - pH
  - contenuto di alcool
  - presenza di ingredienti ostili (agenti ossidanti, gas propellenti, Al cloridrato)
  - condizioni di produzione
  - packaging

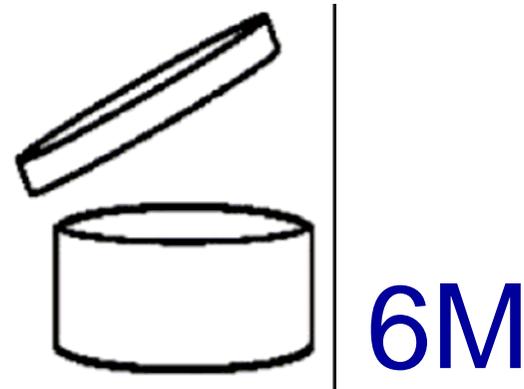
## Stabilità microbiologica nella UE

---

- Per prodotti con durata minima < 30 mesi, si deve indicare la data di scadenza in etichetta
- Per prodotti con durata minima > 30 mesi, si deve indicare il PaO in etichetta

**PaO = periodo in cui il prodotto rimane sicuro per il consumatore dopo l'apertura e può essere utilizzato senza effetti nocivi**

→ non obbligatorio se il concetto di conservazione dopo l'apertura non é rilevante



## Rischi di contaminazione estrinseca

---

- Uso per periodi troppo lunghi dopo l'apertura
- Uso condiviso tra persone diverse
- Conservazione del cosmetico senza tappo
- Contatto diretto del prodotto con le dita o superfici ambientali
- Introduzione di materiale estraneo (acqua)
- ... anche "misuse" di cui il produttore non é responsabile!

## Linee Guida sul PaO

---

- Nota della Commissione EU (2004):  
[http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/wd-04-entr-cos\\_28\\_rev\\_version\\_adoptee20040419\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/wd-04-entr-cos_28_rev_version_adoptee20040419_en.pdf)
- Linea Guida COLIPA (2004)  
*Guidelines for compliance with the PaO requirement*
- Raccomandazione AFSSAPS (2006)  
*Recommendations relating to PaO assessment*
- Ministero Salute/ISS/Unipro (2009)  
*Raccomandazioni per la determinazione delle condizioni per le quali il Pao può essere omesso dalle etichette*

## PaO: alcune premesse

---

- Il deterioramento di un cosmetico (e il conseguente rischio potenziale per il consumatore) possono essere dovuti a:
  - effetti dannosi di microorganismi
  - degradazione fisico-chimica
- Importanza predominante della valutazione del rischio microbiologico
- La responsabilità dell'indicazione del PaO, o la sua omissione, ricade sul responsabile dell'immissione sul mercato (ma il valutatore é coinvolto!)
- Non esistono metodi ufficiali per la determinazione del PaO; le aziende potranno utilizzare dati e metodi disponibili internamente

## Quando il PaO può essere omesso?

**Casi in cui il PaO non si considera rilevante:**

**1. *Prodotti spray/confezionati sotto vuoto***

No apertura fisica → il prodotto nel contenitore non viene a contatto con l'esterno, no pericolo di contaminazione microbica

**2. *Prodotti monouso***: il prodotto viene utilizzato in un' unica applicazione

**3. *Prodotti che non presentano rischi durante l'uso***: va effettuata un'analisi di rischio microbiologico, prendendo in considerazione diversi fattori ( $A_w$ , pH, % di etanolo, presenza di ingredienti che ostacolano la proliferazione microbica...)

Quando non ci si trova in nessuno di questi casi (= non ci sono condizioni che ostacolano lo sviluppo di contaminazione durante l'uso) ***il PaO va determinato e indicato in etichetta***

---

***... grazie per l'attenzione***