



**Università
degli Studi
di Ferrara**



CENTRO DI COSMETOLOGIA

UNIVERSITA' DI FERRARA

Direttore: prof. Michele Simonato

Via Fossato di Mortara 17/19 – 44121 Ferrara

Tel., segreteria, fax: 0532.455.295

cosm@unife.it

Laboratorio in cui è stato effettuato il test: Laboratorio del Professor Gavioli:

Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Università degli Studi di Ferrara.

Responsabile del Laboratorio: Prof. Riccardo Gavioli.

Esecutori dei test: Dott.ssa Eleonora Gallerani, Dott. Francesco Nicoli.

Committente:

NAMI PROJECT S.r.l.s.

www.namiorganic.com

Formulazione testata:

- **NAMI LOZIONE POLIFUNZIONALE a base probiotica
viso, corpo capelli**

Test effettuato: Test di citotossicità.

Metodica utilizzata: NRU (Neutral Red Uptake) secondo la normativa ISO 10993-5:2009

Solventi utilizzati per solubilizzare i composti da testare: terreno di coltura, in quanto formulazione idrofila.

Concentrazioni testate: 10% v/v, 1% v/v, 0.1% v/v, 0.01% v/v.

Modello cellulare utilizzato: Fibroblasti murini (NIH 3T3), coltivati in terreno DMEM (Dulbecco's Modification of Eagle's medium, EuroClone) con aggiunta di L-glutammina, penicillina, streptomicina e 10% FCS (Fetal Calf serum, SIGMA), mantenute a 37°C, 90%±5% di umidità e 5%±1% CO₂/air. Le cellule sono coltivate fino a raggiungere l'80% di confluenza (stimata come densità cellulare visualizzata al microscopio), trattate con tripsina e risospese in terreno di coltura. Prima dell'utilizzo della coltura cellulare, ne viene accertata la normale crescita e moltiplicazione per due successivi cambi di terreno.

Condizioni di esecuzione del test: il test è stato condotto in condizioni di sterilità. Tutte le operazioni sono svolte sotto cappa a flusso laminare dotata di filtro HEPA (WBH 48MP). Il trattamento con i prodotti in esame è stato svolto in triplicato. Il prodotto testato è stato disciolto in etanolo. La soluzione così ottenuta è stata diluita serialmente in terreno e messa a contatto con le cellule.



Università
degli Studi
di Ferrara



CENTRO DI COSMETOLOGIA

UNIVERSITA' DI FERRARA

Direttore: prof. Michele Simonato

Via Fossato di Mortara 17/19 – 44121 Ferrara

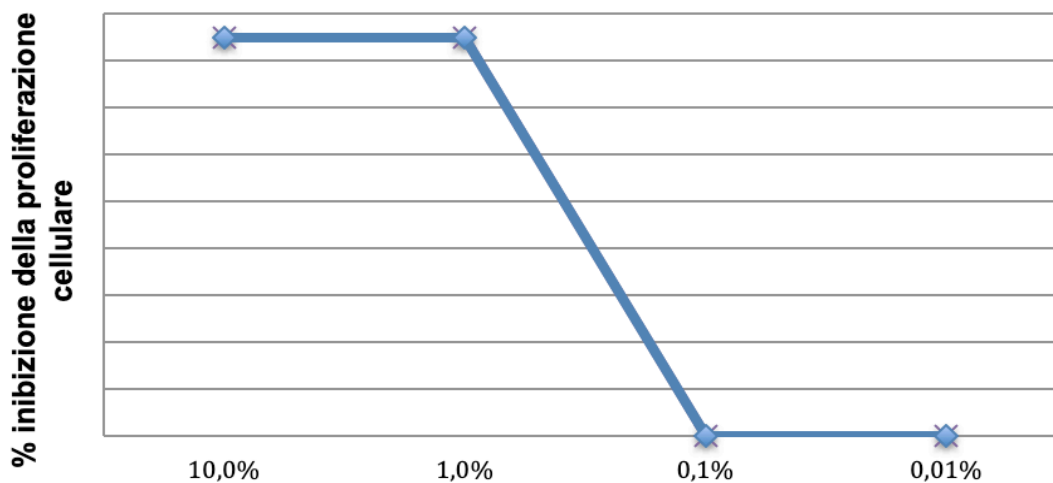
Tel., segreteria, fax: 0532.455.295

cosm@unife.it

Dopo 24 ore di trattamento la morfologia e l'aspetto delle cellule sono state valutate al microscopio ottico prima dell'aggiunta del rosso neutro (SIGMA) alla concentrazione finale di 25µg/ml. Dopo 3 ore di trattamento, le cellule sono state lavate e lisate. La concentrazione del rosso neutro (espressa in densità ottica – OD) viene valutata alla lunghezza d'onda di 540nm attraverso spettrofotometro (SUNRISE-TECAN).

Risultati: i dati sono espressi come percentuale di inibizione della crescita cellulare e mostrati come media \pm deviazione standard, calcolate su tre esperimenti ed elaborate mediante programma Microsoft Excel. La IC₅₀ del prodotto analizzato corrisponde a 0,6 % v/v.

Formulazione test: NAMI POLIFUNZIONALE base probiotica



Data: 29-03-2019

[Prof. Riccardo Gavioli]

[Dott.ssa Eleonora Gallerani]

[Dott. Francesco Nicoli]



Università
degli Studi
di Ferrara



CENTRO DI COSMETOLOGIA

UNIVERSITA' DI FERRARA

Direttore: prof. Michele Simonato

Via Fossato di Mortara 17/19 – 44121 Ferrara

Tel., segreteria, fax: 0532.455.295

cosm@unife.it

Conclusione

Valutazione della citotossicità (NRU) secondo la norma UNI EN ISO 10993-5:2009

La valutazione della citotossicità con il colorante vitale Neutral Red Uptake (NRU) viene eseguito al fine di valutare la potenziale irritazione cutanea di un prodotto cosmetico utilizzando colture *in vitro* di cheratinociti/fibroblasti.

Il saggio permette di misurare l'eventuale danno causato dalla sostanza in esame alle membrane cellulari dei cheratinociti/fibroblasti. Le cellule vengono esposte a concentrazioni scalari del prodotto e trattate con il colorante rosso neutro (NR) che si accumula nei lisosomi citoplasmatici mediante un trasporto attivo che necessita dell'integrità delle membrane cellulari. Questo test quindi è in grado di fornire informazioni sulla loro integrità e, indirettamente, sulla vitalità delle cellule direttamente proporzionale all'assorbanza (Densità ottica: OD 540 nm) misurata allo scopo di ottenere una valutazione del potenziale citotossico delle sostanze testate.

Interpretazione risultati.

I risultati sono stati espressi come % di inibizione della crescita cellulare e ottenuti da una media dei dati delle diluizioni scalari del prodotto di prova:

- **NAMI LOZIONE POLIFUNZIONALE a base probiotica**
viso, corpo capelli

Il risultato medio ottenuto corrisponde a $IC_{50} = 0.6\% \text{ v/v}$ è stato calcolato utilizzando il rapporto tra le OD₅₄₀ delle cellule trattate con il prodotto test e le OD₅₄₀ delle cellule non trattate (controllo) x 100 (dove OD = densità ottica / optical density) e indica che la percentuale di inibizione della crescita cellulare è molto bassa, perciò non sono presenti effetti citotossici significativi sulle cellule trattate alle concentrazioni del prodotto in esame .