

Milano, 18 Ottobre 2010

**TEST PREDITTIVO DI IPOALLERGENICITA'
per AMMORBIDENTI e DETERGENTI per TESSUTI (Ref.T26C)**

METODO: Ref. T26C

COMMITTENTE: **ANDREA GALLO di LUIGI srl**
Via Erzelli, 9
16156 Genova

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO prof. OPIUM**
cod. 00200100 var. 0000

Ref. ISPE: 307/10/01 - 617/10

DATA DI INIZIO DEL TEST: 08/10/10

DATA DI CONCLUSIONE: 15/10/10

CRITERI ETICI E DI QUALITÀ

Questo studio è stato condotto in accordo con i metodi del sistema di gestione qualità, secondo i principi generali di buona pratica di laboratorio (GLP) e di buona pratica clinica (GCP), e secondo i principi definiti nella World Medical Association Declaration of Helsinki.

RIFERIMENTI

I dati riportati in questo rapporto si riferiscono esclusivamente al campione provato. Il rapporto può essere riprodotto solo per intero.

ISPE s.r.l.
Direttore del Laboratorio
Dr. Luigi Rigano

INDICE

| | |
|---|---------|
| 1. SCHEDA CAMPIONE | Pag. 3 |
| 2. INTRODUZIONE | Pag. 4 |
| 3. PRINCIPIO del METODO | Pag. 4 |
| 4. SELEZIONE dei VOLONTARI | Pag. 4 |
| 4.a. Criteri di ammissione e di reclutamento | Pag. 4 |
| 4.b. Criteri di inclusione | Pag. 5 |
| 4.c. Criteri di esclusione | Pag. 5 |
| 4.d. Drop-out | Pag. 5 |
| 4.e. Restrizioni | Pag. 5 |
| 5. METODICA | Pag. 6 |
| 5.a. Modalità di effettuazione | Pag. 6 |
| 5.b. Normalizzazioni e controlli | Pag. 6 |
| 5.c. Lettura dei risultati | Pag. 6 |
| 5.d. Modalità di lettura | Pag. 7 |
| 6. CALCOLO del POTENZIALE ALLERGENICO | Pag. 8 |
| 7. RISULTATI | Pag. 9 |
| 8. CONCLUSIONI | Pag. 10 |
| 9. BIBLIOGRAFIA | Pag. 11 |
| 10. SCHEDA RIEPILOGATIVA delle REAZIONI OSSERVATE | Pag. 12 |

1. SCHEDA CAMPIONE

REF. CAMPIONE: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO prof. OPIUM
cod. 00200100 var. 0000**

Ref. ISPE: 307/10/01 - 617/10

DATA RICEVIMENTO CAMPIONE: 07/10/2010

PRODOTTO:

- FORMA FISICA: liquido
- COLORE: arancione

FORMULA:

- NOTA /sì/
- ALTRE INFORMAZIONI / /

ALTRE INFORMAZIONI RELATIVE ALLA SICUREZZA DEL PRODOTTO:

Nessuna.

ARCHIVIO: 1 controcampione con referenza **Ref. ISPE 307/10/01 - 617/10** e la documentazione relativa a questo studio verranno conservati rispettivamente per 1 e per 10 anni nei nostri archivi. Dopo tali periodi, salvo diversa richiesta del cliente, saranno eliminati.

TEST PREDITTIVO DI IPOALLERGENICITA'
per AMMORBIDENTI e DETERGENTI per TESSUTI (Ref.T26C)

2. INTRODUZIONE

Il test predittivo di ipoallergenicità verifica, in una piccola popolazione di persone, se un prodotto per il lavaggio dei tessuti contiene singoli ingredienti o miscele che possono essere considerati allergeni comuni.

Considerata la particolare tipologia del prodotto (lavaggio dei tessuti) ed il suo normale impiego (utilizzo "a mano" o "in lavatrice"), che non prevede un contatto prolungato del prodotto con la cute, si utilizza una variante del metodo classico del test predittivo di Ipoallergenicità' (= Ref. T12C).

Gli ingredienti contenuti nei prodotti per il lavaggio dei tessuti sono di uso frequente, ed i consumatori sono costantemente a contatto con tali sostanze.

Per tutelare la salute dei soggetti che si sottopongono alla prova, lo studio predittivo di ipoallergenicità per ammorbidenti e detersivi per tessuti non prevede di sensibilizzare i volontari, ma considera eventuali sensibilizzazioni indotte da precedenti e costanti contatti con i potenziali allergeni.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo consiste nell'applicare un campione di tessuto trattato con il prodotto mediante l'ausilio di Finn Chambers (cellette di alluminio con volume di 20 microlitri) sulla schiena o sull'avambraccio dei soggetti selezionati. Il potenziale allergenico del prodotto viene valutato mediante controlli effettuati a tre tempi distinti:

- ✓ a 48 ore (**T₁**) dall'applicazione del prodotto in occlusione,
- ✓ a 24 (**T₂**) e a 48 ore (**T₃**) dalla rimozione dell'occlusione.

4. SELEZIONE DEI VOLONTARI

4.a. Criteri di ammissione e di reclutamento

Ogni soggetto, all'inizio della prova, ha letto e controfirmato il consenso informato redatto dagli sperimentatori.

Sono stati reclutati 20 soggetti di entrambi i sessi (5 di sesso maschile, 15 di sesso femminile) e di età media pari a 43,3 anni.

La selezione è stata effettuata secondo i criteri di inclusione ed esclusione riportati di seguito.

4.b. Criteri di inclusione

- Razza: Caucasica;
- Et : adulti dai 18 ai 65 anni;
- Sesso: femminile e maschile;
- Stato di salute: assenza di patologie in atto o nel periodo immediatamente precedente allo studio;
- Soggetti che fanno uso abituale di prodotti cosmetici.

4.c. Criteri di esclusione

- Soggetti in corso di trattamento topico o sistemico con qualsiasi farmaco che possa influire sull'esito del test;
- Donne in gravidanza o in allattamento;
- Soggetti colpiti da affezioni cutanee;
- Soggetti con precedenti di intolleranza a medicinali e/o prodotti cosmetici;
- Soggetti che si sono sottoposti a prove epicutanee nelle quattro settimane precedenti l'inizio dello studio;
- Soggetti che si sono esposti al sole o hanno effettuato sedute elioterapiche nella settimana precedente l'inizio dello studio.

4.d. Drop - out

Si considerano causa di interruzione dello studio le seguenti ragioni:

- libera scelta del soggetto;
- motivazioni mediche non correlate allo studio (es. malattie, interventi chirurgici, etc.);
- motivazioni correlate allo studio.

I casi di drop-out verificatisi durante lo studio vengono comunque segnalati.

4.e. Restrizioni

Per tutta la durata della prova vengono imposte le seguenti restrizioni:

- applicare prodotti e/o detergenti sulla zona di applicazione del cerotto;
- bagnare il cerotto;
- effettuare attivit  sportive;
- esporsi ai raggi UVA e UVB.

5. METODICA

5.a. Modalità di effettuazione

I campioni di tessuto vengono preparati un giorno prima dell'esecuzione della prova secondo le seguenti modalità:

un fazzoletto di cotone bianco viene trattato (in lavatrice o a mano a seconda della destinazione d'uso del prodotto) con una quantità di prodotto pari alle normali condizioni d'uso secondo quanto indicato dal committente.

Il tessuto così trattato viene quindi lasciato asciugare all'aria, tagliato in pezzetti di circa 50 mm² e conservato in un contenitore di vetro, opportunamente codificato, fino al momento dell'applicazione. All'interno di ogni celletta viene quindi depositato un campione di tessuto.

5.b. Normalizzazioni e controlli

Contemporaneamente all'applicazione del prodotto, vengono applicate, nelle stesse condizioni operative, una celletta vuota e una celletta con un campione di tessuto trattato con sola acqua, come controlli di reazione negativi (bianco e veicoli). In caso di risposta positiva in tali aree, il risultato del volontario viene escluso dal test.

5.c. Lettura dei risultati

A 48 ore dall'applicazione del campione di tessuto trattato con il prodotto vengono rimossi i cerotti e valutate le eventuali reazioni allergiche indotte dal campione (**T₁**).

La lettura dei risultati viene eseguita 30 minuti dopo la rimozione dei cerotti per permettere alla cute di perdere, almeno in parte, l'arrossamento eventualmente provocato dall'occlusione.

24 (**T₂**) e 48 ore (**T₃**) dopo la rimozione dell'occlusione vengono effettuati ulteriori controlli per verificare l'eventuale persistenza di reazioni precedenti e la comparsa di nuove reazioni.

5.d. Modalità di lettura

Le reazioni osservate vengono valutate in base alla seguente scala di valutazione SIDAPA:

| | |
|---------------|---|
| - (NR) | nessuna reazione |
| +/- | reazione dubbia, lieve eritema non uniforme |
| + | eritema uniforme, edema, eventualmente papule o accenno a vescicolazione |
| ++ | eritema, edema, papule e vescicole evidenti, che possono debordare dall'area di applicazione |
| +++ | eritema, edema, papule e vescicole molto evidenti, talvolta confluenti in bolle |

6. CALCOLO del POTENZIALE ALLERGENICO

Per il calcolo del **Potenziale Allergenico** vengono considerate:

- le reazioni dubbie (+/-) che permangono per almeno un controllo successivo;
- tutte le reazioni lievi o conclamate (da + a +++; indipendentemente che permangano o meno per almeno 24 ore).

Non vengono invece prese in considerazione, per il calcolo finale del potenziale allergenico, le reazioni incerte (appena visibili: +/-) che non perdurano per almeno 24 ore.

Tali reazioni vengono comunque segnalate poiché possono essere interpretate sia come un fenomeno irritativo che come indice di un modesto grado di sensibilità del soggetto ad uno o più componenti del prodotto.

Nel calcolo finale del numero di reazioni allergiche totali, una reazione che perdura nel tempo viene considerata una sola volta.

Dalla somma del **numero di reazioni allergiche totali** sopra indicate viene calcolata la conseguente **percentuale di reazioni allergiche**, utilizzando la seguente formula:

$$\text{Percentuale di reazioni allergiche} = \frac{\text{N° reazioni allergiche totali}}{20} \times 100$$

Sulla base di dati riportati in letteratura e in relazione alla percentuale di manifestazioni allergiche ottenute, la presenza/attività di allergeni comuni (**Potenziale Allergenico**) del prodotto testato può essere considerata:

| % DI REAZIONI ALLERGICHE | PRESENZA/ATTIVITÀ DI ALLERGENI COMUNI |
|--------------------------|---------------------------------------|
| 0% ≤ 5% | NULLA |
| > 5% ≤ 10% | DEBOLE |
| > 10% ≤ 30% | MODERATA |
| > 30% ≤ 50% | MEDIA |
| > 50% ≤ 80% | FORTE |
| > 80% | MASSIMA |

| |
|---------------------|
| 7. RISULTATI |
|---------------------|

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO prof. OPIUM**
cod. 00200100 var. 0000

Ref. ISPE: 307/10/01 - 617/10

POTENZIALE ALLERGENICO

| |
|---|
| N° di CASI TRATTATI: 20 |
| N° REAZIONI ALLERGICHE TOTALI (*): 0 |
| PERCENTUALE di REAZIONI ALLERGICHE: 0% |

| | |
|--|---|
| N° casi +/- (reazione dubbia, lieve eritema non uniforme) <u>non</u> perdurati per almeno 24 ore | 0 |
| N° di reazioni irritative osservate | 0 |

(*) vengono considerate tutte le reazioni da + a +++ (perdurate o non perdurate nel tempo) e le reazioni +/- perdurate per almeno 24 ore.

Una reazione che perdura nel tempo viene considerata UNA SOLA VOLTA nel numero di manifestazioni allergiche totali e nel calcolo della percentuale.

8. CONCLUSIONI

Tutti i soggetti selezionati per la prova hanno completato il test.

Il prodotto **USE AMMORDIDENTE SUPERCONCENTRATO prof. OPIUM cod. 00200100 var. 0000, Ref. ISPE 307/10/01 - 617/10**, testato in occlusione per 48 ore e controllato a 24 e a 48 ore dalla rimozione, su 20 volontari adulti sani, ha fornito il seguente risultato:

| | |
|---------------------------------|-----------|
| % di REAZIONI ALLERGICHE | 0% |
|---------------------------------|-----------|

Responsabile del laboratorio
Dr. Adriana Bonfigli

Responsabile della prova
Dr. Valerie Pagani

Il Dermatologo
Dr. Fernanda Distante

9. BIBLIOGRAFIA

1. S. Seidenari: "DIAGNOSTICA NON INVASIVA IN DERMATOLOGIA"; ed. EDRA (1998);
2. V. Zuang: "THE USE OF NON-INVASIVE TECHNIQUES ON HUMAN VOLUNTEERS TO DETERMINE THE SAFETY AND EFFICACY OF COSMETIC PRODUCTS"; a thesis submitted to the University of Nottingham for the degree of Doctor of philosophy, (1999);
3. J. Serup, G.B.E. Jemec: "HANDBOOK OF NON-INVASIVE METHODS AND THE SKIN"; CRC Press, Inc., (1995);
4. C. L. Meneghini, G. Angelini: "LE DERMATITI DA CONTATTO" - Lombardo Editore, Roma (1982);
5. A. Sertoli, P. Fabbri: "I TEST EPICUTANEI NELLA DIAGNOSTICA E NELLA RICERCA ALLERGO IMMUNOLOGICA" - Edizioni Medicea, Firenze (1977);
6. E. M. Jackson: "IRRITATION AND SENSITIZATION" - Cosmetic Science and Technology Series Vol. 8, 23 - 42, Marcel Dekker INC. (1990);
7. C. Pelfini: "EFFETTI INDESIDERATI DA COSMETICI: DALL'INDAGINE SULLA POPOLAZIONE AI TEST EPICUTANEI" - Cosmesi Dermatologica n. 32 (1990);
8. S. Veraldi, A. Bigardi - "I TEST EPICUTANEI" - Doctor Dermatologia, 13-17 (Nov. -Dic. 1991);
9. TEST GUIDELINES FOR THE ASSESSMENT OF HUMAN SKIN TOLERANCE OF POTENTIALLY IRRITANT COSMETIC INGREDIENTS- COLIPA GUIDELINES, August 1997;
10. COSMETIC PRODUCT TEST GUIDELINES FOR THE ASSESSMENT OF HUMAN SKIN COMPATIBILITY- COLIPA GUIDELINES, August 1997;
11. D. Bonamonte et al. "LA RILEVANZA CLINICA NELLA DERMATITE ALLERGICA DA CONTATTO: PROPOSTA DI SCORING" - Annali italiani di Dermatologia allergologica clinica e sperimentale, 2006, 60, 41-46.

| |
|--|
| 10. SCHEDA RIEPILOGATIVA delle REAZIONI OSSERVATE |
|--|

VOLONTARI (IN ORDINE DI RECLUTAMENTO)

| SOGGETTO | REAZIONI CUTANEE | | |
|----------|------------------|----------------|----------------|
| | T ₁ | T ₂ | T ₃ |
| 1 | --- | --- | --- |
| 2 | --- | --- | --- |
| 3 | --- | --- | --- |
| 4 | --- | --- | --- |
| 5 | --- | --- | --- |
| 6 | --- | --- | --- |
| 7 | --- | --- | --- |
| 8 | --- | --- | --- |
| 9 | --- | --- | --- |
| 10 | --- | --- | --- |
| 11 | --- | --- | --- |
| 12 | --- | --- | --- |
| 13 | --- | --- | --- |
| 14 | --- | --- | --- |
| 15 | --- | --- | --- |
| 16 | --- | --- | --- |
| 17 | --- | --- | --- |
| 18 | --- | --- | --- |
| 19 | --- | --- | --- |
| 20 | --- | --- | --- |

LEGENDA (tipi di reazione):

T₁ = dopo 48 ore di applicazione occlusiva di un campione di tessuto trattato con il prodotto, ovvero alla rimozione dell'occlusione

T₂ = 24 h dopo la rimozione dell'occlusione

T₃ = 48 h dopo la rimozione dell'occlusione