

Milano, 22 giugno 2015

**VALUTAZIONE del POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO
di PRODOTTI per TESSUTI mediante
PATCH TEST OCCLUSIVO a 48 ORE**

METODO: Ref. T21C

COMMITTENTE: **ANDREA GALLO di LUIGI srl**
Via Erzelli, 9
16152 GENOVA

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO OPIUM**
Cod. 00200100 var. 0060

Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15

DATA DI INIZIO DEL TEST: 10/06/2015

DATA DI CONCLUSIONE: 19/06/2015

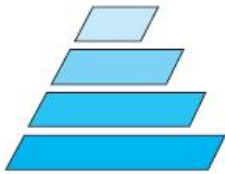
CRITERI ETICI E DI QUALITÀ

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

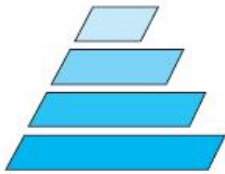
I dati riportati in questo rapporto si riferiscono esclusivamente al campione provato.
Il rapporto può essere riprodotto solo per intero.

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



INDICE

1. SCHEDA CAMPIONE	Pag. 3
2. OBIETTIVO dello STUDIO	Pag. 4
3. SELEZIONE dei VOLONTARI	Pag. 4
3.a. Criteri di ammissione e di reclutamento	Pag. 4
3.b. Criteri di inclusione	Pag. 5
3.c. Criteri di esclusione	Pag. 5
3.d. Drop-out	Pag. 5
3.e. Restrizioni	Pag. 5
4. METODO	Pag. 6
4.a. Modalità di effettuazione	Pag. 6
4.b. Normalizzazioni e controlli	Pag. 6
4.c. Lettura dei risultati	Pag. 7
4.d. Modalità di lettura	Pag. 7
5. CALCOLO del PICI e del PIC indiretto	Pag. 8
6. RISULTATI dello STUDIO	Pag. 9
7. CONCLUSIONI	Pag. 11
8. BIBLIOGRAFIA	Pag. 12
9. SCHEDA RIEPILOGATIVA delle REAZIONI OSSERVATE	Pag. 13



1. SCHEDA CAMPIONE

REF. CAMPIONE: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO OPIUM**
Cod. 00200100 var. 0060

Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15

DATA RICEVIMENTO CAMPIONE: 10/06/2015

PRODOTTO:

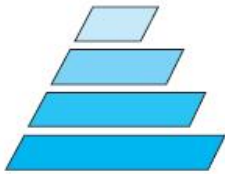
- FORMA FISICA: liquido
- COLORE: arancione chiaro

FORMULA:

- NOTA /sì/
- ALTRE INFORMAZIONI / /

ALTRE INFORMAZIONI RELATIVE ALLA SICUREZZA DEL PRODOTTO:
Nessuna.

ARCHIVIO: 1 controcampione con referenza **Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15** 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.



**VALUTAZIONE del POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO di PRODOTTI per TESSUTI
mediante PATCH TEST OCCLUSIVO a 48 ORE
(Ref.T21C)**

2. OBIETTIVO dello STUDIO

Considerata la particolare tipologia del prodotto (prodotto per tessuti) ed il suo normale impiego che non prevede un contatto prolungato del prodotto con la cute, si utilizza una variante del metodo classico del Patch test occlusivo (=Ref. T11C).

Il prodotto viene applicato con l'ausilio di Finn Chambers (cellette di alluminio con volume di 20 microlitri) sulla schiena e/o sull'avambraccio dei soggetti selezionati.

Il potenziale irritante del prodotto viene valutato mediante controlli effettuati a tre tempi distinti:

- ✓ a 30 minuti (**T₁**) dall'applicazione in occlusione del prodotto tal quale, o diluito ad una specifica concentrazione

*per valutare l'eventuale effetto irritante immediato dovuto al contatto con la cute - Potenziale Irritante Cutaneo Immediato (**PICI**);*

- ✓ a 48 ore (**T₂**) dall'applicazione in occlusione di un campione di tessuto trattato con il prodotto, e
- ✓ a 24 ore dalla rimozione dell'occlusione (**T₃**)

*per valutare il Potenziale Irritante Cutaneo indiretto (**PIC indiretto**).*

Il metodo consente di valutare il potenziale irritante in vivo di prodotti per tessuti.

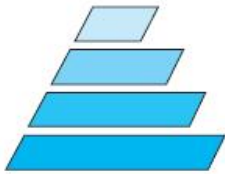
3. SELEZIONE dei VOLONTARI

3.a. Criteri di ammissione e di reclutamento

Il test è condotto in accordo con la dichiarazione di Helsinki su 20 volontari (18 femmine e 2 maschi) di età media pari a 44,7 anni.

I soggetti vengono informati circa la natura, lo scopo e i rischi dello studio, e danno il proprio consenso scritto prima dell'inizio del test.

La selezione è condotta secondo i seguenti criteri:



3.b. Criteri di inclusione

- Razza caucasica.
- Uomini e donne, 18 – 65 anni, in buona salute.
- Soggetti in grado di attenersi alle direttive dello studio e di presentarsi ad ogni controllo per l'intera durata dello studio.
- Soggetti che hanno completato il processo di informazione e firmato il consenso informato
- Soggetti che accettano di non esporsi al sole o a lampade UV per la durata dello studio.

3.c. Criteri di esclusione

- Donne in stato di gravidanza o allattamento.
- Soggetti con precedenti episodi di ipersensibilità cutanea a prodotti cosmetici o sensibili a qualsiasi componente del prodotto da testare.
- Soggetti in corso di trattamento topico o sistemico con qualsiasi farmaco che possa influire sull'esito del test (antinfiammatori, corticosteroidi, etc).
- Soggetti con patologie sistemiche o disturbi cutanei (come eczema, psoriasi, acne severa, colore della pelle disomogeneo, etc) che possano influire sull'esito del test o aumentare il rischio per il volontario.
- Soggetti che si sono sottoposti a prove epicutanee nelle 4 settimane precedenti la data di inizio dello studio.

3.d. Drop – out

Si considerano causa di interruzione dello studio le seguenti ragioni:

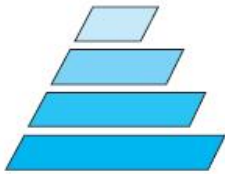
- libera scelta del soggetto;
- motivazioni mediche non correlate allo studio (es. malattie, interventi chirurgici, etc.);
- motivazioni correlate allo studio.

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

3.e. Restrizioni

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

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



4. METODO

4.a. Modalità di effettuazione

Le sostanze da testare vengono poste direttamente nelle Finn Chambers cellette di alluminio di diametro 8 mm, area 50 mm² e volume 20 microlitri.

Le Finn Chambers vengono applicate sulla cute entro pochi minuti dal riempimento, per evitare l'evaporazione o l'essiccamento del prodotto.

L'applicazione delle cellette viene effettuata in doppio per ciascun campione: una celletta, contenente il prodotto tal quale, o diluito ad una specifica concentrazione, viene applicata sull'avambraccio (per la determinazione del PICI) e un'altra celletta, contenente un campione di tessuto trattato con il prodotto, viene applicata sulla schiena (per la determinazione del PIC indiretto), dopo aver eliminato il sebo dalla cute.

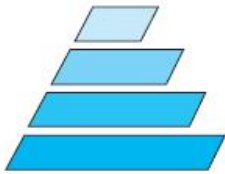
I campioni di tessuto vengono preparati un giorno prima dell'esecuzione della prova secondo le seguenti modalità:

Un fazzoletto di cotone bianco viene trattato 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 (dopo il lavaggio, nel caso di prodotti per lavaggio dei tessuti), 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 depositato un campione di tessuto.

4.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 non trattato oppure di tessuto trattato con sola acqua nel caso di prodotti per il lavaggio dei tessuti, come controlli di reazione negativi (bianco e veicoli). In caso di risposta positiva in tali aree, il risultato del volontario viene escluso dal test.



4.c. Lettura dei risultati

A 30 minuti dall'applicazione del prodotto tal quale, o diluito a specifica concentrazione, viene rimossa la prima serie di cellette e viene valutato il **Potenziale Irritante Cutaneo Immediato (PIC₁, T₁)**.

Il **Potenziale Irritante Cutaneo indiretto (PIC indiretto)** viene valutato in base alle reazioni cutanee comparse a 48 ore dall'applicazione di un campione di tessuto trattato con il prodotto (**T₂**) e a 24 ore dalla rimozione dell'occlusione (**T₃**).

4.d. Modalità di lettura

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.

Un arrossamento evidente e circoscritto all'area della celletta è indice di irritazione provocata dal prodotto.

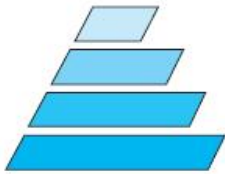
La lettura della reazione viene valutata in base alle seguente scala di valutazione:

-	assenza di eritema
+/-	reazione dubbia
+	eritema roseo-rosso uniforme di grado lieve
++	eritema rosso acceso molto evidente, di grado moderato, limiti netti; possibile edema non uniforme
+++	eritema di grado severo con edema diffuso; possibili vescicole e/o pustole a livello follicolare

Viene inoltre presa in considerazione la comparsa di eventuali **reazioni di natura allergica**. Queste si differenziano dalle reazioni irritative per le seguenti caratteristiche:

- presenza di edema e vescicolazione eczematiformi;
- tendenza della reazione a debordare a macchia d'olio dalla ristretta zona di applicazione dell'allergene;

La comparsa di una reazione allergica è espressione di una sensibilizzazione allergica del soggetto ad uno o più componenti del prodotto.



5. CALCOLO del PICI e del PIC indiretto

Il **Potenziale Irritante Cutaneo Immediato (PICI)** e il **Potenziale Irritante Cutaneo indiretto (PIC indiretto)** vengono valutati separatamente. La capacità irritante del prodotto viene espressa come percentuale d'irritazione valutata considerando il numero e l'entità delle irritazioni provocate dal prodotto sulla totalità dei soggetti.

In particolare vengono considerate le seguenti classi di reazione:

- reazioni positive (da + a +++), osservate al momento della rimozione dell'occlusione (tempo T_2);
- reazioni positive (da + a +++), comparse al tempo T_3 (quindi non visibili alla rimozione dell'occlusione - T_2).

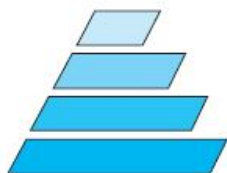
Dalla somma del numero di reazioni riportato per ognuna delle classi sopra indicate si ottiene il **n° totale di casi di irritazione** e viene quindi calcolata la conseguente **percentuale di irritazione** utilizzando la seguente formula:

$$\text{Percentuale di irritazione} = \frac{(\text{N° totale casi irritati}) \times 100}{20}$$

Vengono inoltre segnalate in tabella, sebbene esse non rientrino nel calcolo del potenziale irritante, eventuali reazioni di natura allergica che si differenziano dalle reazioni irritative per le caratteristiche riportate al paragrafo 4.d.

Sulla base dei dati di letteratura, in relazione alla percentuale di irritazione ottenuta, il prodotto testato può essere considerato:

0% ≤ 5%	NON IRRITANTE
> 5% ≤ 10%	DEBOLE IRRITANTE
> 10% ≤ 30%	LIEVE IRRITANTE
> 30% ≤ 50%	MODERATO IRRITANTE
> 50% ≤ 80%	FORTE IRRITANTE
> 80 %	MASSIMO IRRITANTE



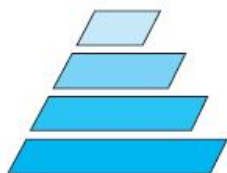
6. RISULTATI dello STUDIO

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO OPIUM**
Cod. 00200100 var. 0060
Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15
(tal quale)

POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO IMMEDIATO (PICI)

(30 minuti dopo l'applicazione del prodotto tal quale, T₁)

N° TOTALE SOGGETTI: 20	
	N° SOGGETTI IRRITATI
n° casi + eritema roseo-rosso uniforme di grado lieve	0
n° casi ++ eritema rosso acceso molto evidente, di grado moderato, limiti netti, possibile edema non uniforme	0
n° casi +++ eritema di grado severo con edema diffuso, possibili vescicole e/o pustole a livello follicolare	0
N° totale casi di irritazione	0
Percentuale di irritazione	0%

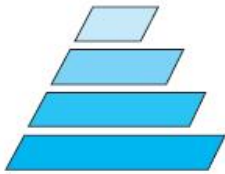


PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO OPIUM**
Cod. 00200100 var. 0060
Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15
(campione di tessuto trattato con il prodotto, 20 ml in 10 l di acqua)

POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO INDIRETTO (PIC indiretto)

**[48 ore dopo l'applicazione del tessuto trattato con il prodotto (T₂) e
24 ore dopo la rimozione dell'occlusione (T₃)]**

N° TOTALE SOGGETTI: 20	
	N° SOGGETTI IRRITATI
n° casi + eritema roseo-rosso uniforme di grado lieve	0
n° casi ++ eritema rosso acceso molto evidente, di grado moderato, limiti netti, possibile edema non uniforme	0
n° casi +++ eritema di grado severo con edema diffuso, possibili vescicole e/o pustole a livello follicolare	0
N° totale casi di irritazione comparsi al tempo T3	0
N° totale casi di irritazione	0
Percentuale di irritazione	0%
n° casi di reazione allergica	0



7. CONCLUSIONI

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

Il prodotto, tal quale, applicato in occlusione per 30 minuti (T_1) sulla cute di 20 volontari adulti sani, non ha provocato nessuna reazione indicativa di un potenziale irritante cutaneo immediato.

Un campione di tessuto trattato con il prodotto e applicato in occlusione per 48 ore, sulla cute di 20 volontari adulti sani, non ha provocato nessuna reazione indicativa di un potenziale irritante cutaneo indiretto, come riscontrato nei controlli effettuati alla rimozione dell'occlusione (T_2) e 24 ore dopo la rimozione (T_3).

In nessuno dei soggetti considerati si sono osservate reazioni di tipo allergico.

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE SUPERCONCENTRATO OPIUM**
Cod. 00200100 var. 0060

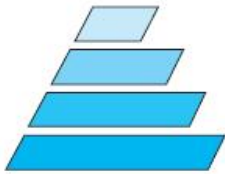
Ref. ISPE: 127/15/03 – 236/15

	% DI IRRITAZIONE
<u>PICI</u> (prodotto tal quale)	0%
<u>PIC indiretto</u> (campione di tessuto trattato con il prodotto)	0%

Responsabile del laboratorio
Dr. Adriana Bonfigli

Responsabile della prova
Dr. Sara Brancato

Il Dermatologo
Dr. Fernanda Distante



8. BIBLIOGRAFIA

Seidenari S. Diagnostica non invasiva in dermatologia. Ed. EDRA 1998.

Serup J, Jemec G B E. Handbook of non-invasive methods and the skin. CRC Press, Inc. 1995.

Angelini G, Bonamonte D, Cassano N, Foti C, Grandolfo M. Dermatiti da contatto. Clinica Dermatologica Università di Bari 1999.

Sertoli A, Fabbri P. I test epicutanei nella diagnostica e nella ricerca allergo immunologica. Edizioni Medicea. Firenze 1977.

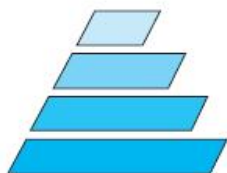
Jackson E M. Irritation and sensitization, in Cosmetic Science and Technology Series. Marcel Dekker Inc.1990: **8**: 23-42.

Pelfini C. Effetti indesiderati da cosmetici: dall'indagine sulla popolazione ai test epicutanei. *Cosmesi Dermatologica* 1990: **32**: 51-62.

Veraldi S, Bigardi A. I test epicutanei. *Doctor Dermatologia*. Nov -Dic. 1991: 13-17.

Test guidelines for the assessment of human skin tolerance of potentially irritant cosmetic ingredients - COLIPA guidelines. August 1997.

Cosmetic product test guidelines for the assessment of human skin compatibility - COLIPA Guidelines. August 1997.



9. 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 30 minuti di applicazione occlusiva del prodotto tal quale

T₂ = dopo 48 h di applicazione occlusiva di un campione di tessuto trattato con il prodotto (ovvero alla rimozione dell'applicazione)

T₃ = 24 ore dopo la rimozione dell'occlusione