

# ISPE

Institute of Skin and Product Evaluation

Rapporto di prova 249/08/02

Pag. 1/14

Milano, 30 Giugno 2008

**TEST DI IRRITAZIONE CUTANEA MEDIANTE PATCH TEST  
per AMMORBIDENTI e DETERGENTI per TESSUTI**

METODO: Ref. T21C

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

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE OPIUM Cod. 00201130**  
**Ref. ISPE: 249/08/02 - 258/08**

DATA DI INIZIO DEL TEST: 20/06/'08

DATA DI CONCLUSIONE: 27/06/'08

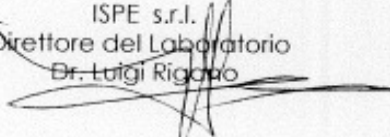
**CRITERI ETICI E DI QUALITÀ**

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 Rigato



**INDICE**

1. SCHEDA CAMPIONE	Pag. 3
2. ORGANIGRAMMA	Pag. 4
3. PRINCIPIO del METODO	Pag. 5
4. SELEZIONE dei VOLONTARI	Pag. 5
4.a. Criteri di ammissione e di reclutamento	Pag. 5
4.b. Criteri di inclusione	Pag. 6
4.c. Criteri di esclusione	Pag. 6
4.d. Drop-out	Pag. 6
4.e. Restrizioni	Pag. 6
5. METODICA	Pag. 7
5.a. Modalità di effettuazione	Pag. 7
5.b. Normalizzazioni e controlli	Pag. 7
5.c. Lettura dei risultati	Pag. 8
5.d. Modalità di lettura	Pag. 8
6. CALCOLO del PICI e del PIC indiretto	Pag. 9
7. RISULTATO dello STUDIO	Pag. 10
8. CONCLUSIONI	Pag. 12
9. BIBLIOGRAFIA	Pag. 13
10. SCHEDA RIEPILOGATIVA delle REAZIONI OSSERVATE	Pag. 14

**1. SCHEDA CAMPIONE**

REF. CAMPIONE: **USE AMMORBIDENTE OPIUM Cod. 00201130**

**Ref. ISPE: 249/08/02 - 258/08**

DATA RICEVIMENTO CAMPIONE: 18/06/'08

PRODOTTO:

- FORMA FISICA: liquido  
- COLORE: azzurro

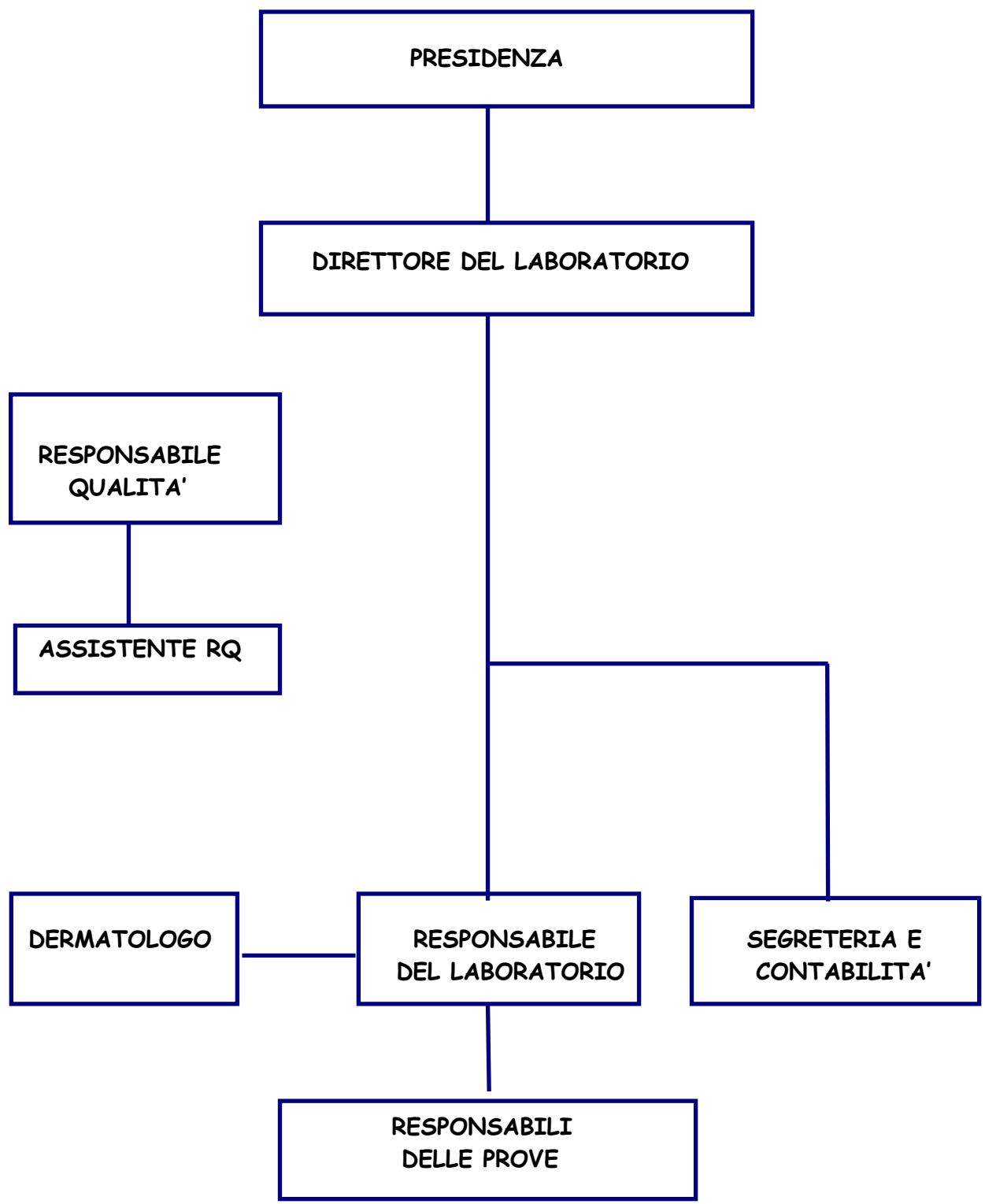
FORMULA:

- NOTA / x /  
- ALTRE INFORMAZIONI / /

ALTRE INFORMAZIONI RELATIVE ALLA SICUREZZA DEL PRODOTTO:  
Nessuna.

ARCHIVIO: 1 controcampione con referenza **Ref. ISPE 249/08/02 - 258/08** e la documentazione relativa a questo studio verranno conservati rispettivamente per 3 e per 10 anni nei nostri archivi. Dopo tali periodi, salvo diversa richiesta del cliente, saranno eliminati.

**2. ORGANIGRAMMA**



**TEST DI IRRITAZIONE CUTANEA MEDIANTE PATCH TEST  
per AMMORBIDENTI e DETERGENTI per TESSUTI  
(Ref. T21C)**

**3. PRINCIPIO DEL METODO**

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 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 (**T<sub>1</sub>**) dall'applicazione in occlusione del prodotto tal quale,  
*per valutare l'eventuale effetto irritante immediato dovuto al contatto con la cute - Potenziale Irritante Cutaneo Immediato (PICI);*
- ✓ a 48 ore (**T<sub>2</sub>**) dall'applicazione in occlusione di un campione di tessuto trattato con il prodotto, e
- ✓ a 24 ore dalla rimozione dell'occlusione (**T<sub>3</sub>**)  
*per valutare il Potenziale Irritante Cutaneo indiretto (PIC indiretto).*

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

**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 (4 di sesso maschile, 16 di sesso femminile) e di età media pari a 43 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;
- Reperibilit ;

#### **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 patch;
- bagnare il cerotto;
- effettuare attivit  sportive;
- esporsi ai raggi UVA e UVB.

## 5. METODICA

### 5.a. Modalità di effettuazione

Le sostanze da testare vengono poste direttamente nelle Finn Chambers cellette di alluminio di diametro 8 mm, area 50 mm<sup>2</sup> 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, 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 (in lavatrice o a mano a secondo 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 mm<sup>2</sup> 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.

### 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 30 minuti dall'applicazione del prodotto tal quale, viene rimossa la prima serie di cellette e viene valutato il **Potenziale Irritante Cutaneo Immediato (PICI, T<sub>1</sub>)**.

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 (T<sub>2</sub>) e a 24 ore dalla rimozione dell'occlusione (T<sub>3</sub>).

### 5.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:

-	<b>assenza di eritema</b>
+/-	<b>lieve eritema non uniforme o cute a carta di sigaretta</b>
+	<b>eritema visibile, colore roseo-rosso</b>
++	<b>eritema ben visibile, rosso acceso, limiti netti, possibile edema non uniforme</b>
+++	<b>eritema intenso con edema diffuso; possibili vescicole e/o papule/pustole a livello follicolare</b>
++++	<b>eritema ed edema molto intensi, debordanti oltre l'area di applicazione; possibili bolle e necrosi</b>

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.

## 6. 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:

- a) reazioni di classe +/- visibili al tempo T<sub>2</sub> e perdurate sino al tempo T<sub>3</sub>;
- b) reazioni positive (da + a ++++), osservate al momento della rimozione dell'occlusione (tempo T<sub>2</sub>);
- c) reazioni di qualsiasi classe (da +/- a ++++) comparse al tempo T<sub>3</sub> (quindi non visibili alla rimozione dell'occlusione - T<sub>2</sub>).

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:

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

Vengono inoltre segnalate in tabella, sebbene esse non rientrino nel calcolo del potenziale irritante, le seguenti reazioni:

- 1) le reazioni +/- (lieve eritema non uniforme o cute a carta di sigaretta) osservate al momento della rimozione dell'occlusione (T<sub>2</sub>) e poi scomparse, quindi non visibili, al controllo T<sub>3</sub>;
- 2) la comparsa di eventuali reazioni di natura allergica che si differenziano dalle reazioni irritative per le caratteristiche riportate al paragrafo 5.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%	MODERATO IRRITANTE
> 30% ≤ 50%	MEDIO IRRITANTE
> 50% ≤ 80%	FORTE IRRITANTE
> 80 %	MASSIMO IRRITANTE

<b>7. RISULTATI DELLO STUDIO</b>
----------------------------------

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE OPIUM Cod. 00201130**  
(tal quale)

Ref. ISPE: 249/08/02 - 258/08

**POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO IMMEDIATO (PICI)**  
(30 minuti dopo l'applicazione del prodotto tal quale, T<sub>1</sub>)

N° TOTALE SOGGETTI: <b>20</b>	
N° SOGGETTI IRRITATI	
n° casi +/- (lieve eritema non uniforme o cute a carta di sigaretta)	0
n° casi + (eritema visibile, colore roseo-rosso)	0
n° casi ++ (eritema ben visibile, rosso acceso, limiti netti, possibile edema non uniforme)	0
n° casi +++ (eritema intenso con edema diffuso, possibili vescicole e/o papule/pustole a livello follicolare)	0
n° casi ++++ (eritema ed edema molto intensi, debordanti oltre l'area di applicazione, possibili bolle e necrosi)	0
<b>N° totale casi di irritazione</b>	<b>0</b>
<b>Percentuale di irritazione</b>	<b>0%</b>

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE OPIUM Cod. 00201130**  
**(campione di tessuto trattato con il prodotto)**

**Ref. ISPE: 249/08/02 - 258/08**

**POTENZIALE IRRITANTE CUTANEO INDIRETTO (PIC indiretto)**  
**[48 ore dopo l'applicazione del tessuto trattato con il prodotto (T<sub>2</sub>) e**  
**24 ore dopo la rimozione dell'occlusione (T<sub>3</sub>)]**

N° TOTALE SOGGETTI: <b>20</b>	
N° SOGGETTI IRRITATI	
n° casi +/- (lieve eritema non uniforme o cute a carta di sigaretta) <u>visibili al tempo T2 e perdurati sino al tempo T3</u>	0
n° casi + (eritema visibile, colore roseo-rosso)	0
n° casi ++ (eritema ben visibile, rosso acceso, limiti netti, possibile edema non uniforme)	0
n° casi +++ (eritema intenso con edema diffuso, possibili vescicole e/o papule/pustole a livello follicolare)	0
n° casi ++++ (eritema ed edema molto intensi, debordanti oltre l'area di applicazione, possibili bolle e necrosi)	0
N° totale casi di irritazione <b>comparsi al tempo T3</b>	1
<b>N° totale casi di irritazione</b>	1
<b>Percentuale di irritazione</b>	<b>5%</b>
N° casi +/- visibili <u>solo al tempo T2</u> (lieve eritema non uniforme o cute a carta da sigaretta)	0
n° casi di reazione allergica	0

**8. CONCLUSIONI**

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

Il prodotto, tal quale, applicato in occlusione per 30 minuti (**T<sub>1</sub>**) 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 un numero di reazioni significativo di un potenziale irritante cutaneo indiretto, come riscontrato nei controlli effettuati alla rimozione dell'occlusione (**T<sub>2</sub>**) e 24 ore dopo la rimozione (**T<sub>3</sub>**).

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

PRODOTTO: **USE AMMORBIDENTE OPIUM Cod. 00201130**

**Ref. ISPE: 249/08/02 - 258/08**

	<b>% DI IRRITAZIONE</b>
<b><u>PICI</u></b> (prodotto tal quale)	<b>0%</b>
<b><u>PIC indiretto</u></b> (campione di tessuto trattato con il prodotto)	<b>5%</b>

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 (1997);
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. COSMETIC PRODUCT TEST. GUIDELINES FOR THE ASSESSMENT OF HUMAN SKIN COMPATIBILITY. COLIPA PUBLICATION - November 1995.

<b>10. SCHEDA RIEPILOGATIVA delle REAZIONI OSSERVATE</b>
----------------------------------------------------------

VOLONTARI (IN ORDINE DI RECLUTAMENTO)

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

**LEGENDA** (tipi di reazione):T<sub>1</sub> = dopo 30 minuti di applicazione occlusiva del prodotto tal qualeT<sub>2</sub> = dopo 48 h di applicazione occlusiva di un campione di tessuto trattato con il prodotto (ovvero alla rimozione dell'applicazione)T<sub>3</sub> = 24 ore dopo la rimozione dell'occlusione