

Mestrino, 25/09/2023

TEST PREDITTIVO di IPOALLERGENICITA' mediante PATCH TEST OCCLUSIVO a 72 ore / *HYP*ALLERGENICITY FORECAST TEST through 72-HOUR OCCLUSIVE PATCH TEST

Committente / <i>Customer</i>	BLUGENIA Srl Società Benefit VIA BERCHET, 11 35131 PADOVA PD ITALIA
Campione / <i>Sample</i>	ACC34089
Nome del prodotto / <i>Product name</i>	WAVE IL DETERSIVO IN FOGLI
Lotto / <i>Batch</i>	07/21 83-0014877 V01 6
Applicazione / <i>Application</i>	Tessuto lavato
Data di accettazione / <i>Acceptance date</i>	14/09/2023
Eseguito da / <i>Performed by</i>	Dr. Matteo Bordignon
Responsabile dello studio / <i>Study Manager</i>	Cristina Sorgato
Data inizio / <i>Test start</i>	18/09/2023
Data conclusione / <i>Test end</i>	22/09/2023
Modalità di prelievo / <i>Sampling type</i>	Prodotto finito / <i>Finished product</i>

Studio / *Study* N° **RAP34778**

1/10

I risultati ottenuti si riferiscono esclusivamente al campione sottoposto a prova
Il presente studio non può essere riprodotto parzialmente senza approvazione scritta del laboratorio /
Results reported in this study refer exclusively to the tested sample
The present study cannot be reproduced partially without written approval of the laboratory

INDICE /INDEX

1. Scopo del test / *Aim of the test*
2. Ricercatori / *Study investigators*
3. Volontari / *Volunteers*
4. Campioni di prova e condizioni ambientali / *Samples and environment conditions*
5. Dichiarazioni fornite dal cliente / *Customer declarations*
6. Procedura di prova / *Test procedure*
7. Parametri di valutazione e score clinico / *Evaluation parameters and grading*
8. Calcolo del potenziale allergenico / *Calculation of allergenic potential*
9. Risultati / *Results*
10. Conclusioni / *Conclusions*
11. Bibliografia / *Bibliography*

1. SCOPO DEL TEST / AIM OF THE TEST

Il test predittivo di ipoallergenicità verifica, in una piccola popolazione di persone, se un prodotto provoca reazioni cutanee di tipo allergico in consumatori abituali di tali sostanze. Gli ingredienti contenuti nei prodotti sono di uso frequente, pertanto i consumatori sono costantemente a contatto con essi, quindi a probabile rischio di avvenuta sensibilizzazione. Per tutelare la salute dei soggetti che si sottopongono alla prova, lo studio predittivo di ipoallergenicità non prevede di sensibilizzare i volontari, ma considera eventuali sensibilizzazioni indotte da precedenti e costanti contatti con potenziali allergeni.

The hypoallergenicity forecast test aims to discover, in a small number of people, if a product induces cutaneous allergic reactions in usual consumers of those substances, Product ingredients are frequently used, therefore the consumers are in constant contact with them and at probable risk of occurred sensitization.

In order to protect the subject's health, the hypoallergenicity forecast study does not involve the sensitization of the subject's skin but takes into consideration the possible reactions induced by the product on possibly sensitized individuals which have been frequently exposed to potential common allergens.

2. RICERCATORI / STUDY INVESTIGATORS

L'applicazione del prodotto viene eseguita da personale tecnicamente qualificato ed addestrato sotto la supervisione di un medico specialista in dermatologia. Le valutazioni cutanee vengono effettuate da un medico specialista in dermatologia.

The application of the product is made by technically qualified and trained persons with the supervision of a medical dermatologist. Skin evaluations are made by a dermatologist.

3. VOLONTARI / VOLUNTEERS

Il test viene condotto su 20 volontari adulti ambo sessi, selezionati dopo l'applicazione dei criteri di inclusione/esclusione.

Criteri di esclusione:

- Bambini e minorenni;
- Donne incinte o in fase di allattamento;
- Portatori di dermatiti;
- Soggetti con anamnesi positiva per reazioni cutanee di tipo allergico;
- Soggetti in trattamento con antinfiammatori steroidei o non steroidei;
- Soggetti che abbiano partecipato a prove analoghe nel mese precedente.

Prima dell'inizio del test ai partecipanti viene reso noto, tramite scheda informativa, lo scopo e la natura dello studio e i possibili rischi derivanti dalla partecipazione allo studio.

Ai partecipanti viene altresì richiesto un consenso informato scritto alla sperimentazione.

Per ciascun volontario viene compilata una scheda che registra la data del test e i prodotti testati.

The test is run on 20 healthy volunteers of both sexes, selected after application of inclusion/non-inclusion criteria.

Subjects excluded are:

- Children and persons below the age of consent;*
- Pregnant or lactating women;*
- Subjects affected by dermatitis;*
- Subjects under anti-inflammatory drug therapy (either steroidal or non-steroidal);*
- Subjects who participated in analogue tests in the previous month.*

Before the test starts, all participants are made aware of the purpose and nature of the study and of any foreseeable risks involved in participation in the study.

Participants are also asked for written informed consent to the trial.

A form registering the date and the product(s) tested is completed for each volunteer.

4. CAMPIONI DI PROVA E CONDIZIONI AMBIENTALI / SAMPLES AND ENVIRONMENT CONDITIONS

Il prodotto viene registrato nel programma informatico di accettazione di Eurochem Ricerche al momento dell'arrivo e conservato a temperatura ambiente (a meno di specifica indicazione contraria del committente).

Il test viene svolto in ambiente condizionato a temperatura e umidità controllata.

Upon arrival, the product is registered on the Eurochem Ricerche data processing system and kept at room temperature (unless otherwise requested).

The test is performed in an air-conditioned room, with controlled room temperature and relative humidity.

5. DICHIARAZIONI FORNITE DAL CLIENTE / CUSTOMER DECLARATIONS

Dichiarazione che il prodotto cosmetico sottoposto a test ottempera al Regolamento CE sui cosmetici e in particolare che:

- non contiene alcuna sostanza di cui è proibito l'uso in prodotti cosmetici (all. II)
- non contiene alcuna sostanza utilizzata sopra i limiti previsti dal Regolamento cosmetico (all. III)
- i coloranti, i conservanti e i filtri UV impiegati nel prodotto figurano nelle liste positive approvate nella CE e sono utilizzati ad una concentrazione conforme all'uso previsto dal Regolamento cosmetico (allegati IV – V – VI)
- il prodotto e i suoi componenti sono stati analizzati da un esperto qualificato al fine di garantire che le informazioni esistenti sul prodotto e sui suoi componenti giustificano l'esposizione all'uomo e che non ci si attende alcun rischio significativo per i volontari nelle condizioni dello studio proposto e che si ricorre al patch test allo scopo esclusivo di confermare tali conclusioni.

Declaration that the tested cosmetic product is approved by the Regulation EC and in particular:

- *that the product does not contain any substance whose use in cosmetic products is prohibited by the EC Regulation (annex II)*
- *the product does not contain any substance not in accordance with the restrictions of the EC Regulation (annex III)*
- *the colorants, preservatives and UV filters inserted in the product are included in the positive list and are used at a concentration provided for by the Regulation EC (annex IV-V-VI)*
- *the test product and its constituents have been reviewed by a safety expert to ensure that the existing information on the product and on its constituents (as the general toxicological profile of the ingredients, their chemical structure, and the exposure level) justifies human exposure and that no significant risk for the volunteers is to be expected under the condition of the proposed study).*

6. PROCEDURA DI PROVA / TEST PROCEDURE

Il prodotto viene testato su almeno 20 volontari.

Considerata la particolare tipologia del campione (prodotto per il lavaggio dei tessuti) ed il suo normale impiego, che non prevede un contatto prolungato del prodotto con la cute se non accidentale, si utilizza una variante del metodo classico. Tale variante prevede il lavaggio di un tessuto standard (un fazzoletto bianco di cotone è particolarmente indicato per la prova) con le quantità indicate in etichetta a 30°C, e successiva applicazione del tessuto.

I campioni di tessuto devono essere preparati un giorno prima dell'esecuzione della prova.

Il tessuto così trattato viene quindi tagliato in pezzetti di circa 50 mm quadrati e conservato in contenitori di vetro opportunamente codificati

Il campione viene deposto in Finn Chambers di alluminio, che vengono applicate sulla cute del dorso con cerotto poroso. In alternativa è possibile utilizzare i cerotti Curatest F.

I campioni liquidi vengono fatti assorbire su dischetti di carta filtro Whatman 3 di dimensioni uguali a quella della camera di alluminio. I detergenti vengono diluiti in acqua (1:10). Creme e lozioni sono applicate direttamente nella camera con una siringa monouso da insulina. Le polveri sono inumidite con acqua deionizzata e quindi applicate come descritto per le creme. Gli aerosol vengono spruzzati sulla carta da filtro e applicati come descritto per i liquidi, dopo aver lasciato evaporare il propellente.

La cute viene detersa con acqua. I cerotti vengono applicati in regione paravertebrale, a livello scapolare.

I campioni vengono lasciati in situ per 72 ore, ricordando al paziente di non lavare la zona per l'intera durata del test. La rimozione viene eseguita dallo sperimentatore, che provvede a ripulire le aree di applicazione da eventuali residui del prodotto.

The product is tested on at least 20 volunteers.

Considering the particular sample feature (fabric wash product) and its normal use, that involves no prolonged skin contact if not accidental, a change of classical method is used. This change makes use of a standard fabric (a white cotton handkerchief is especially recommended for the test) washed with the labeled quantity of washing product at 30°C, and subsequent fabric application.

Fabric samples have to be prepared the day before test execution.

The prepared fabric is then cut in 50 square mm pieces and preserved in coded glass containers

The sample is posed into aluminum Finn Chambers, or Curatest F, and applied to the skin of the back. Liquid samples are absorbed on Whatman 3 filter paper disks of the same size as that of the aluminum chamber. Detergents are diluted in water at 10% solution. Creams and lotions are directly applied into the Finn Chamber using a single use insulin syringe. Powders are moistened with deionized water and applied as for creams. Aerosol products are sprayed onto blotting paper disks, that are applied to the Finn Chamber after evaporation of the propellant.

The involved skin area is cleaned with water. Plasters are applied to the paravertebral zone, at the interscapular level.

The cosmetic products are left in contact with the skin surface for 72 hours. Removal of the Finn Chamber and cleaning of the skin area from residual cosmetic product is carried out by the experimenter.

7. PARAMETRI DI VALUTAZIONE E SCORE CLINICO / EVALUATION PARAMETERS AND GRADING

La valutazione delle reazioni viene fatta 15 minuti e 24 ore dopo la rimozione delle Finn Chambers (72 e 96 ore dopo l'applicazione del prodotto), seguendo la scala di valutazione SIDAPA riportata in Tab.1:

The visual assessment of skin irritation is made 15 minutes and 24 hours after removal of Finn Chambers (72 and 96 hours after product application), according to the SIDAPA scoring scale reported in Tab.1:

Tab 1.

- (NR)	Assenza di eritema / <i>No erythema</i>
+/-	Reazione dubbia / <i>Doubtful reaction</i>
+	Eritema uniforme, edema, eventuali papule o accenno a vescicolazione / <i>Uniform erythema, oedema, any papules or hint of vesiculation</i>
++	Eritema, edema, papule e vescicole evidenti, che possono debordare dall'area di applicazione / <i>Erythema, oedema, prominent papules and vesicles, which may protrude from the application area</i>
+++	Eritema, edema, papule e vescicole molto evidenti, talvolta confluenti in bolle / <i>Erythema, oedema, very evident papules and vesicles, sometimes confluent in bullae</i>

8. CALCOLO DEL POTENZIALE ALLERGENICO / CALCULATION OF ALLERGENIC POTENTIAL

Per il calcolo del Potenziale allergenico vengono considerate:

- Tutte le reazioni lievi o conclamate (da + a +++; indipendentemente che permangano o meno per almeno 24 ore).

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:

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

Vengono inoltre segnalate in tabella, sebbene esse non rientrino nel calcolo della presenza/attività di allergeni comuni, eventuali reazioni di natura irritativa.

Sulla base dei dati riportati in letteratura e in relazione alla percentuale di manifestazioni allergiche ottenute, la presenza/attività di allergeni comuni (Potenziale Allergenico) nel prodotto testato può essere considerata in base a quanto riportato in Tab.2:

The following type of reactions are considered in detail for the Allergenic Potential calculation:

- Any type of reaction form + to +++ (which persists or not for at least 24 hours)

Reactions that persist for at least 24 hours are considered only ONCE in the calculation of total number of allergic reactions.

The percentage of allergic reactions is obtained based on total allergic reaction cases, by means of the following mathematical calculation:

$$\text{Percentage of Allergic Reactions} = \frac{\text{total allergic reaction number} \times 100}{20}$$

Moreover, possible irritative reactions are reported in the table, although they are not considered in the calculation of presence/activity of common allergens.

On the basis of data reported in literature and according to the obtained percentage of allergic reactions, the presence/activity of common allergens (Allergenic Potential) in the tested product can be considered as reported in Tab.2:

Tab.2

% di REAZIONI ALLERGICHE ALLERGIC REATIONS %	PRESENZA/ATTIVITA' di ALLERGENI COMUNI PRESENCE/ACTIVITY of COMMON ALLERGENS
0% - ≤ 5%	NULLA / NONE
> 5% - ≤ 10%	DEBOLE / MINIMUM
> 10% - ≤ 30%	LIEVE / MILD
> 30% - ≤ 50%	MODERATA / MODERATE
> 50% - ≤ 80%	FORTE / STRONG
> 80%	MASSIMA / MAXIMUM

9. RISULTATI / RESULTS

Prodotto / Product: WAVE IL DETERSIVO IN FOGLI

POTENZIALE ALLERGENICO / ALLERGENIC POTENTIAL	
N° di CASI TRATTATI / TOTAL NUMBER of SUBJECTS	20
N° di REAZIONI ALLERGICHE TOTALI (*) / TOTAL NUMBER of ALLERGIC REACTIONS (*)	0
PERCENTUALE di REAZIONI ALLERGICHE / PERCENTAGE of ALLERGIC REACTIONS	0%
N° di reazioni irritative osservate / N° of irritative reactions observed	0

(*) vengono considerate tutte le reazioni da + a +++ (perdurate o non perdurate nel tempo)

(*) only reactions from + to +++ (that are detectable or not after 24 hours) are considered.

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

Reactions that persist for at least 24 hours are considered only ONCE in the calculation of total number of allergic reactions.

10. CONCLUSIONI / CONCLUSIONS

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

Il prodotto è stato testato in occlusione per 72 ore su 20 volontari sani. Il controllo effettuato a 24 ore dalla rimozione dell'occlusione ha fornito il seguente risultato:

All selected subjects completed the test.

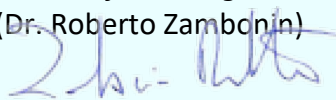
The product was tested under occlusive conditions for 72 hours on 20 healthy volunteers. The check performed 24 hours after the occlusion removal yielded the following result:

Prodotto / Product: **WAVE IL DETERSIVO IN FOGLI**

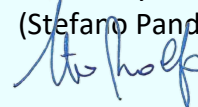
PERCENTUALE di REAZIONI ALLERGICHE / PERCENTAGE of ALLERGIC REACTIONS	0%
--	-----------

Non si sono osservate reazioni di tipo irritativo. /
No irritative reaction was observed.

Responsabile Scientifico
Scientific Manager
(Dr. Roberto Zambonin)



Direttore del laboratorio
Laboratory Manager
(Stefano Pandolfo)



Il Dermatologo
Dermatologist
(Dr. Matteo Bordignon)



11. BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

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.

Bonamonte D. 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.