



REPORT ON A HUMAN PATCH TEST

Test epicutanei ripetuti per valutare se il prodotto testato può scatenare reazioni di sensibilizzazione allergica. Il metodo utilizzato è una modificazione del test di Shelanski e Shelanski.

Repeated patch test to detect the skin sensitization potency of the tested product.

The testing method is a modification of the Shelanski and Shelanski test.

PLC RESINA

ADVIHAIR srl - via Benini 11- Zola Predosa (BO)

PATCH TEST RIPETUTO (Shelanski e Shelanski Modificato)
REPEAT INSULT PATCH TEST

DSBM Rif. n°: DSBM_SPCO_295_2013_PTipo

Place: Sassari

Date: 30 luglio 2013

Sponsor: ADVIHAIR srl - via Benini 11- Zola Predosa (BO)

Monitor: Prof. Alessio Pirino, MD
Specialista in Allergologia ed Immunologia
Professore Associato Università di Sassari
Dipartimento di Scienze Biomediche

Experimenter: Prof. Vittorio Mazzarello, MD
Specialista in Dermatologia e Venereologia
Professore Associato Università di Sassari
Dipartimento di Scienze Biomediche

1.0 OBIETTIVO / OBJECTIVE:

La valutazione degli effetti avversi verificatisi in seguito all'applicazione ripetuta del prodotto testato sottoposto a test è utile per verificare se tale prodotto topico è sicuro per il suo utilizzo da parte del consumatore oppure se può scatenare reazioni di sensibilizzazione allergica.

Determination of the side effects on skin is useful in the assessment and evaluation of the safety of the tested product which exposure by the dermal rout is likely. Repeated patch test is a reliable method for identifying an allergic hypersensitivity to the tested product.

2.0 MATERIALE DA TESTARE / TEST MATERIAL:

PLC RESINA

2.1 Descrizione del materiale da testare:

Test Material Description:

Il materiale, inviato il 15 maggio 2013 da Ricerca & Comunicazione s.r.l. di Salsomaggiore Terme (PR), si presenta in forma solida.

The sample, received May 17, 2015 from Ricerca & Comunicazione s.r.l., Salsomaggiore Terme (PR), is presented in solid form.

2.2 Ulteriori informazioni fornite dal cliente:

Further information provided by the customer:

a) dichiarazione che il prodotto cosmetico sottoposto a test è formulato utilizzando nessuna sostanza di cui è proibito l'uso in prodotti cosmetici e di igiene corporale (legislazione CEE), che gli agenti conservanti introdotti nella formula del prodotto figurano nella lista positiva pubblicata dalla CEE e sono utilizzati ad una concentrazione conforme all'uso previsto da questa legge ed inoltre non sono presenti sostanze di cui c'è un limite di concentrazione; b) formula qualitativa.

a) declaration that the tested cosmetic product doesn't contain any substance which is forbidden by the EEC legislation as far as the use of cosmetic and personal hygiene products is concerned, that the preservatives in the formula are in the list of accepted components published by the EEC and are used in a concentration provided for by the law and that there are no substances for which exists a concentration limit; b) quality formula.

2.3 Principi etici per la ricerca medica

Ethical Principles for Medical Research

Il test viene condotto in accordo con i principi della dichiarazione di Helsinki (Principi etici per la ricerca medica che coinvolge soggetti umani. Adottata dalla 18a Assemblea Generale dall'AMM a Helsinki, Finlandia, nel giugno 1964 ed emendata dalla 29a Assemblea Generale a Tokyo, Giappone, nell'ottobre 1975, dalla 35a Assemblea Generale a Venezia, Italia, nell'ottobre 1983, dalla 41a Assemblea Generale a Hong Kong, nel settembre 1989, dalla 48a Assemblea Generale a Somerset West, Repubblica del Sud Africa, nell'ottobre 1996 e dalla 52a Assemblea Generale a Edimburgo, Scozia, nell'ottobre 2000).

This test is carried out according to Helsinki declaration. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Adopted by the 18th WMA General Assembly Helsinki, Finland, June 1964 and amended by the 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983, 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989, 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996, 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000.

3.0 SELEZIONE DEI VOLONTARI / SELECTION OF THE VOLUNTEERS

3.1 Criteri di inclusione:

Standards of Inclusion:

a) buono stato di salute generale, b) assenza di patologie cutanee, c) assenza di trattamenti farmacologici in atto, d) impegno a non variare dalla normale routine quotidiana, e) anamnesi negativa per atopia, DAC e gravidanza.

a) good state of general health, b) no dermatopathies, c) no pharmacological treatment in progress, d) promise not to change the usual daily routine, e) no atopy, DAC and pregnancy in the anamnesis.

3.2 Reclutamento:

Recruitment:

I volontari sono stati reclutati tramite avviso nella bacheca del Dipartimento.
The volunteers were recruited via notice in the bulletin of the Department.

4.0 EQUIPAGGIAMENTO / EQUIPMENT:

a) Penna dermatografica, b) bisturi, c) Camera di Finn.

a) Surgical Marking Pen, b) lancet, c) Finn Chamber.

5.0 PROCEDURA / PROCEDURE

5.1 Preparazione dei campioni

Preparation of the samples

Il campione è stato applicato, in funzione delle sue caratteristiche d'uso, tal quale.

Samples of the product was applied following their usual use: as they are.

5.2 Dose di esposizione

Dose level

Sono stati applicati sulla cute ritagli circolari di circa 6mm del prodotto.

Were applied to the skin of about 6mm circular cutouts of the product

5.3 Metodo di applicazione dei campioni

Method of application of the samples

I campioni sono stati testati utilizzando la camera di Finn, un dischetto di alluminio di 7 mm di diametro contenente la quantità suindicata di

campione in esame.

The samples have been tested using the Finn Chamber, a 7 mm aluminum disk containing aforementioned quantity of the sample.

5.3 Esecuzione dei test

Execution of the test

La zona cutanea destinata al saggio (cute del dorso o avambraccio), è stata detersa con una soluzione alcoolica al 70% e successivamente è stata effettuata l'applicazione del prodotto da testare. Tale prodotto è stato tenuto a contatto della cute per 24 ore. Le reazioni cutanee sono valutate clinicamente 24 ore dopo la rimozione della striscia adesiva. I patch successivi al primo vengono applicati sulla stessa area cutanea per un totale di 9 applicazioni. Alla conclusione della fase induttiva i soggetti sono rimasti a riposo per due settimane, in questo periodo non è stato applicato alcun patch. Al termine del periodo di riposo viene effettuato il patch rivelatore di un'avvenuta sensibilizzazione della durata di 48 ore. Il patch test rivelatore viene applicato su di un'area cutanea diversa da quella dei patch test precedenti e le reazioni cutanee vengono valutate dopo 24, 48 e 72 ore dalla rimozione del patch test. Se al termine dello studio clinico nessun volontario presenta una reazione significativa eritematosa e/o edematosa, il prodotto può essere considerato IPOALLERGENICO, nel senso che il prodotto è stato valutato mediante Test Epicutanei Ripetuti su volontari "sani" e non ha provocato sensibilizzazione.

The involved skin area (skin surface of the back or forearm) has been cleaned with a 70% alcoholic solution. The cosmetic product was applied and left in contact with the skin surface for 24 hours. The cutaneous reactions are analysed after the test strip removal. Patches were applied to the same skin site for a total of 9 Induction Phase Applications. At the conclusion of the induction phase, test subjects were rested for approximately 2 weeks, during which no patch were applied. After the rest period a challenge patch was conducted on a virgin skin side of each volunteer. The last patch test, named indicator patch test, is applied and left in contact with the skin surface for 48 hours. The cutaneous reactions are analysed 24, 48 and 72 hours after the test strip removal. Indicator patch test is useful to establish whether a hypersensitive state has been induced.

5.4 Valutazione e calcolo dei risultati

Valuation and reckoning of the results

Dopo la rimozione dei patch le reazioni cutanee sono state valutate in base al punteggio riportato in tabella, che descrive la gravità dell'eritema dell'edema o di altre lesioni cutanee indicative di un'irritazione:

After removal of the patch, dermal reactions was scored and recorded following the grades reported in table:

ERITEMA	ERYTHEMA	Score
Assenza di eritema	No erythema	0
Eritema leggero	Light erythema	1
Eritema ben visibile	Clearly visible erythema	2
Eritema moderato	Moderate erythema	3
Eritema grave	Serious erythema	4

EDEMA	EDEMA	Score
Assenza di edema	No edema	0
Edema molto leggero	Very light edema	1
Edema leggero	Light edema	2
Edema moderato	Moderate edema	3
Edema forte	Strong edema	4

I dati vengono raccolti in una tabella e rappresentati graficamente. Il potere sensibilizzante è classificato in base al numero di volontari che durante o alla fine del periodo di studio manifestano evidenti segni di sensibilizzazione, i criteri sono riportati nella tabella sottostante:

Erythema and edema reaction are summarized in tabular form and graphically represented. The results of the sensitising potency are reckoned by evaluating the number of volunteers who during or at the end of the treatment show a significant erythematous and/or edematous reaction. Sensitization is classified following table:

n° soggetti sensibilizzati	Number of skin sensitization	Classificazione	Classification
0 soggetti su 20	0 out of 20	Bassa sensibilizzazione	Low sensitization
da 0 a 5 soggetti su 20	from 0 to 5 out of 20	Media sensibilizzazione	Middle sensitization
più di 5 soggetti su 20	more 5 out of 20	Forte Sensibilizzazione	High sensitization

6.0 RISULTATI / RESULTS:

Riassunto dei risultati ottenuti e valutazione del potere irritante e sensibilizzante del prodotto sottoposto alla sperimentazione.

Summary of the data found out from the test carried out on the volunteers and evaluation of the possible irritating and skin sensitization potency of the tested product.

6.1 Caratteristiche del campione di studio:

Population Demographics:

20	Numero volontari sottoposti a studio / <i>Number of subject enrolled</i>
20	Hanno completato lo studio / <i>Subject completing study</i>
21-53	Range di età / <i>Age Range</i>
10	Sesso maschile / <i>Male</i>
10	Sesso femminile / <i>Female</i>

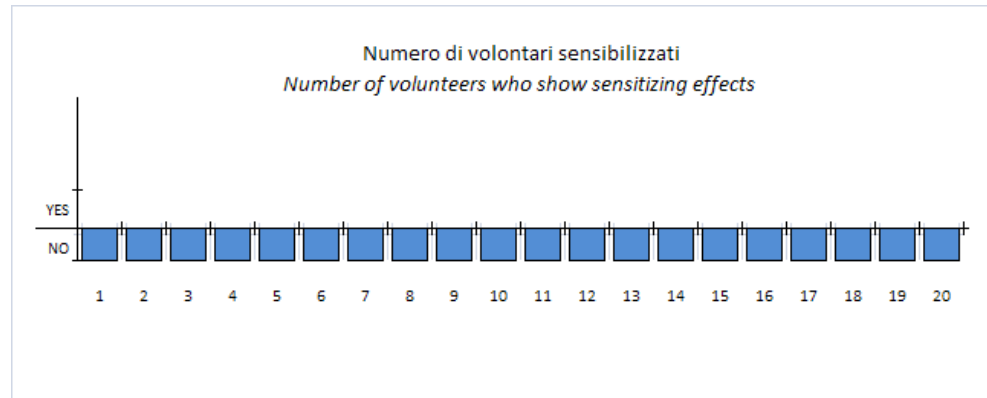
6.2 Reazioni edematose ed eritematose rilevate:

Edema and Erythema reaction found out:

	Numero dei volontari: 20											
	Reazioni cutanee											
	Fase induttiva <i>Induction phase readings</i>									Patch rivelatore <i>Challenge phase reading</i>		
Reazioni osservate <i>Observed reaction</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	24 ore 24 hours	48 ore 48 hours	72 ore 72 hours
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
1	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
3	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
4	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

6.3 Numero dei soggetti sensibilizzati

Number of volunteers who shows skin sensitization



7.0 CONCLUSIONI / CONCLUSIONS

La tabella ed i grafici precedentemente riportati riassumono le reazioni eritematose ed edematose rilevate su ogni volontario dopo la rimozione di ogni singolo patch test. Dall'analisi dei risultati ottenuti possiamo dichiarare che l'applicazione sulla cute del prodotto testato in oggetto non causa irritazione né sensibilizzazione. Concludiamo che esso è ben tollerato ed il rischio di sensibilizzazione è estremamente basso.

The table and the charts listed above contain the values of the erythema and edema indexes found out for each volunteer. On the basis of the data obtained we assess that the application on the skin of the tested product do not cause any skin irritation or sensitization. It is concluded that this product should be well tolerated and that the hazard of sensitization is exceedingly small.

PLC RESINA

ADVIHAIR srl - via Benini 11- Zola Predosa (BO)

E'

NON IRRITANTE, IPOALLERGENICO*
(*dotato di bassa sensibilizzazione)

NON IRRITATING, HYPOALLERGENIC*
(*Low Sensitization)

Monitor

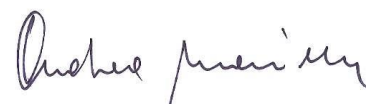
Prof. Alessio Pirino, MD
Allergologo

**Sperimentatore / Experimenter**

Prof. Vittorio Mazzarello, MD
Dermatologo

**Controllo Qualità / Quality Control**

Prof. Andrea Montella, MD
Direttore responsabile del centro di ricerca



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI /BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

Berger, R.S., and J.P. Bowman, 1982, "A Reappraisal of the 21-day Cumulative Irritation Test in Man," J. Toxicol. - Ot. & Ocular Toxicol., 1(2);109-115.

Holdiness, M.R., 1989, "A Review of Contact Dermatitis Associated with Transdermal Therapeutic Systems," Contact Dermatitis, 20(1);3-9.

Lanman, B.M., E.B. Elvers, and C.J. Howard, 1968, "The Role of Human Patch Testing in a Product Development Program," Joint Conference on Cosmetic Sciences, The Toilet Goods Association (currently, the Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association), Washington, D.C., April 21-23, 1968.

Patel, S.M., E. Patrick, and H.I. Maibach, 1976, "Animal, Human, and In Vitro Test Methods for Predicting Skin Irritation," Dermatotoxicology, Chpt. 33, 5th Ed., Eds. F.N. Marzulli, H.I. Maibach, Taylor, and Frances.

Allegati / Enclosures

Modulo di consenso informato, criteri di inclusione ed esclusione, modello di scheda informativa.

Consent form, inclusion and exclusion criteria, informative form.

ALLEGATO 1 / ANNEX 1

MODULO DI CONSENSO INFORMATO
CONSENT FORM

Volontario n° .(sigla identificativa)/ Volunteer number (initials)

Titolo dello studio/ Title

Test epicutaneo per valutare il potenziale irritante di un prodotto cosmetico.
Testing of the skin irritation potency of a cosmetic product.

Obiettivo dello studio/Objective

La valutazione degli effetti avversi (lesioni eritematose ed edematose cutanee) verificatisi in seguito all'applicazione del prodotto cosmetico sottoposto a test è utile per verificare se tale prodotto topico è sicuro per il suo utilizzo da parte del consumatore.

Determination of the side effects (skin erythema and edema) on skin is useful in the assessment and evaluation of the safety of the tested cosmetic product which exposure by the dermal rout is likely.

Committente / Customer

Preparazione dei campioni / Preparation of the samples

I campioni sono applicati in funzione delle loro caratteristiche d'uso.
Samples of the product are applied following their usual use.

Confermo di aver letto il titolo, la finalità dello studio clinico e la scheda informativa (allegato 3). Confermo che mi è stata data l'opportunità di porre domande ed a queste domande mi è stata data risposta esauriente, mi è stato spiegato lo scopo, le modalità e le caratteristiche dello studio clinico, i benefici ed i possibili effetti collaterali. Ho spontaneamente accettato di partecipare allo studio.

I have read the title, the purpose of the trial and the information sheet (Annex 3). I confirm that I was given the opportunity to ask questions and these questions I was given complete answer, I explained the purpose, terms and features of the trial, the benefits and possible side effects. I voluntarily agreed to participate in the study.

Data / Date :

Firma del volontario: / Volunteert's signature:

ALLEGATO 2 / ANNEX 2

**CRITERI DI INCLUSIONE ED ESCLUSIONE
INCLUSION AND EXCLUSION CRITERIA**

Volontario n° .(sigla identificativa):/ *Volunteer number (initials):*

L'età è compresa tra i 18 ed i 60 anni <i>Age: between 18 and 60 years</i>	YES		NO
Buono stato di salute generale <i>Good state of general health</i>	YES		NO
Assenza di patologie cutanee <i>Absence of dermatopathies</i>	YES		NO
Assenza di trattamenti farmacologici in atto <i>Absence of pharmacological treatment in progress</i>	YES		NO
Impegno a non variare dalla normale routine la loro quotidiana attività <i>Promise not to change the usual daily routine</i>	YES		NO
Anamnesi negativa per atopia <i>No atopy in the anamnesis</i>	YES		NO
Donne non in stato di gravidanza <i>No pregnant women</i>	YES		NO
E' stato ottenuto il consenso informato secondo le procedure indicate in protocollo <i>In compliance with the procedures mentioned in the survey the patient, after having been informed, has given his or her consent</i>	YES		NO

**UN SOLO SEGNO NELLA COLONNA DI DESTRA È' MOTIVO SUFFICIENTE PER NON ARRUOLARE IL VOLONTARIO NELLO STUDIO
EVEN ONE MARK ONLY INDICATING "NO" IS ENOUGH TO BAR THE VOLUNTEER FROM THE SURVEY**

ALLEGATO 3 / ANNEX 3

SCHEDA INFORMATIVA INFORMATIVE FORM

Confidenzialità dei dati clinici / The clinical data are strictly confidential

E' possibile che durante o al termine dello studio, funzionari della Società che ha promosso lo studio o funzionari delle Autorità Sanitarie debbano esaminare la sua cartella clinica.

Questi risultati potranno anche essere pubblicati. In ogni caso Lei non sarà mai indicato per nome se non assolutamente necessario e che anche in questo caso solo a persone soggette, come noi, al segreto professionale. Tutte le informazioni che saranno raccolte in questo studio resteranno comunque del tutto confidenziali e Lei non potrà essere identificato da queste informazioni.

During or at the end of the test the promoters of the survey or some Health officers may have to examine your case file. The results could also be published. In any case your name will never be mentioned, unless if absolutely necessary and also in this case only to people - who like us - are subject to professional secrecy. All information gathered in the survey will remain strictly confidential and you won't be identified from it.

Cosa succederà se lei dovesse decidere di non partecipare allo studio? / What happens, if you decide not to take part in the test?

La Sua decisione di prendere parte a questo studio deve essere assolutamente volontaria, non deve sentirsi in nessun modo obbligata a partecipare. Se Lei decidesse di non partecipare allo studio o doevsse interrompere i controlli prima del termine dello studio non andrà incontro a nessun provvedimento da parte nostra né perderà alcuno dei benefici che le sono stati garantiti.

Tuttavia, in caso Lei decidesse di interrompere lo studio, Le chiediamo di informare rapidamente il suo medico.

Your decision to take part in the test must be absolutely voluntary, you must not feel forced to. If you decide not to take part or if you decide to interrupt the treatment before its end you will neither run into any inconvenience nor lose any benefit which you enjoy at the inclusion time. However, if you decide to interrupt it, you should inform your physician promptly.

Lei ha il diritto di porre le richieste di chiarimento che ritiene opportune, sia ora che durante tutto il periodo di studio, rivolgendosi direttamente al medico sottostante che la seguirà per tutta la durata dello studio:

You can ask for an explanation before, during and after the treatment directly to the underlying medical who will attend you throughout the treatment:

Dottor / Specialist _____ Telefono / Phone _____