



STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV

Šrobárova 49/48
Praha 10
100 00

Ego Harmony s.r.o.
Plavská 2166/3
370 01 České Budějovice
Česká republika

VÁŠ DOPIS ZN.:

ZE DNE:

NAŠE ZN.: 16.3.2021

Č.j. 3689/2021

CTZB 187-3689/21-106, EX 210356

VYŘIZUJE:

TEL./FAX.: RNDr. Hana Bendová, Ph.D.

2 6708 2321

E-MAIL:

hana.bendova@szu.cz

DATUM:

28.4.2021

ODBORNÝ POSUDEK k provedené zkoušce mikrobiologické, stanovení kožní snášenlivosti u lidí a testu oční dráždivosti in vitro (HET-CAM).

PŘEDMĚT ŽÁDOSTI:

K Vaší žádosti ze dne 16.3.2021, k provedení zkoušky mikrobiologické, stanovení kožní snášenlivosti u lidí a testu oční dráždivosti in vitro (HET-CAM), Vám sdělujeme:

PŘEDLOŽENÝ VZOREK:

Oční sérum Argan a Opuncie

Výrobce:

Ego Harmony s.r.o.
Plavská 2166/3
370 01 České Budějovice
Česká republika

PŘEDLOŽENÁ DOKUMENTACE:

Kvalitativní a kvantitativní složení výrobků.

PROVEDENÉ ZKOUŠKY:

Mikrobiologické zkoušení bylo provedeno akreditovanými metodami dle ČSN EN ISO 22717, ČSN EN ISO 22718, ČSN EN ISO 18415, ČSN EN ISO 21149 a neakreditovanou zkouškou podle SOP 5/2.2 (ČSN EN ISO 21150) a SOP 9/2.2 (ČSN EN ISO 16212).

Zkouška stanovení kožní snášenlivosti u lidí byla provedena dle Cosmetic Product Test Guidelines for Assessment of Human Skin Compatibility, COLIPA, Bruxelles, 1997, COLIPA = The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association.

Zkouška oční dráždivosti in vitro (HET-CAM Test) byla provedena dle SOP č. 7/13 Zkouška oční dráždivosti in vitro a protokolu INVITTOX č. 47, 1992.

Zkoušky byly provedeny ve Zkušebních laboratořích č. 1206, akreditovaných ČIA, Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti.

Předložený vzorek byl spotřebován na uvedená vyšetření.

ODBORNÉ POSOUZENÍ:

Zkoušky byly provedeny ve Zkušebních laboratořích č. 1206, akreditovaných ČIA, Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti.

ZÁVĚR:

Mikrobiologické vyšetření neprokázalo kontaminaci *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ani *E.coli*, celkový počet mikrobů je <50 v 1g (ml) a celkový počet kvasinek a plísní je <50 v 1g (ml).

Za podmínek testu nebyla u exponovaných osob zaznamenána reakce ve smyslu erytému, edému ani šupinatění.

Za podmínek testu HET-CAM in vitro, který simuluje vybrané reakce oční tkáně, nebyly u výše uvedeného kosmetického přípravku prokázány dráždivé účinky.



MUDr. Dagmar Jírová, CSc.
vedoucí

Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV
Centrum toxikologie
a zdravotní bezpečnosti
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

PŘÍLOHY:

Protokol o výsledku mikrobiologického zkoušení č. PBU č.2.2/21/35

Protokol o zkoušce stanovení kožní snášenlivosti u lidí, č. CTZB 187-3689/21-106

Protokol o zkoušce oční dráždivosti in vitro (HET-CAM TEST), č. CTZB 187-3689/21-106



Státní zdravotní ústav

Centrum laboratorních činností
Laboratoř pro mikrobiologii potravin, PBU a prostředí
Zkušební laboratoř č. 1206 akreditovaná ČIA podle normy
ČSN EN ISO/IEC 17025:2018



Protokol o výsledku mikrobiologického zkoušení PBU č.2.2/21/35

Zadavatel: ACE Trade s.r.o., Vrbová 621, 562 03 Ústí nad Orlicí

Č. jednací: 187-3689/21-106

Datum příjmu vzorků: 25.3.2021

Mikroorganismus		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	Celkový počet mikrobů	Plísňě a kvasinky
Metoda		SOP 2/2.2 (ČSN EN ISO 22717)	SOP 3/2.2 (ČSN EN ISO 22718)	SOP 4/2.2 (ČSN EN ISO 18415)	SOP 5/2.2 (ČSN EN ISO 21150)	SOP 1/2.2 (ČSN EN ISO 21149)	SOP 9/2.2 (ČSN EN ISO 16212)
	Č.vz. mikr. lab.	Neg./Poz. v 1 g (ml)	Neg./Poz. v 1 g (ml)	Neg./Poz. v 1 g (ml)	Neg./Poz. v 1 g (ml)	v 1 g (ml)	v 1 g (ml)
Oční sérum Argan a Opuncie	277	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	< 50	< 50

< 50 = mez detekce při kvantitativním stanovení; Neg. = nepřítomnost; Pozit. = přítomnost

SOP – standardní operační postup

SOP 4/2.2 dle ČSN EN ISO 18415, čl. 9.8

Zkoušku provedl: Bc. Sonakiya, H. Šmuhařová

Zkoušky provedeny: 29.3. – 6.4.2021

Zkoušky byly provedeny na adrese laboratoře.

Výsledky zkoušek se týkají pouze testovaných vzorků, tak jak byly přijaty od zákazníka.

Tento protokol může být reprodukován jedině celý, jeho část pouze s písemným souhlasem vedoucího laboratoře.

Datum vystavení protokolu: 7.4.2021

Technický vedoucí: Ing. Jana Vrkoslavová, Ph.D.



Končarova

Konec protokolu

PROTOKOL O ZKOUŠCE STANOVENÍ KOŽNÍ SNÁŠENLIVOSTI U LIDÍ

Národní referenční centrum pro kosmetiku
Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti
Státní zdravotní ústav Praha
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

Laboratoře toxikologie
Zkušební laboratoř č. 1206, akreditovaná ČIA

Zadavatel: Ego Harmony s.r.o., Plavská 2166/3, 370 01 České Budějovice
Číslo protokolu: CTZB 187-3689/21-106
Datum testu: 29.3. – 31.3.2021

Seznam vzorků:

1. Oční sérum Argan a Opuncie jednorázový uzavřený test

Vzorky byly testovány metodou jednorázového uzavřeného testu v semiokluzi na horní části zad. Doba expozice byla 4 hodiny, intervaly odečtu 30 minut, 24 a 48 hodin po skončení aplikace.

Zkouška byla provedena dle Cosmetic Product Test Guidelines for Assessment of Human Skin Compatibility, Colipa, Bruxelles 1997 (COLIPA = The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association).

Test byl proveden se souhlasem etické komise SZÚ. Výběr pokusných osob a postup testování se řídí principy zakotvenými v Mezinárodní etické směrnici pro biomedicínský výzkum zahrnující lidské účastníky a byl proveden na principu dobrovolnosti. Testu se zúčastnilo 15 osob, ve věku 20 - 63 let.

Za podmínek testu nebyla u exponovaných osob zaznamenána reakce ve smyslu erytému, edému ani šupinatění.

Datum: 1.4.2021

Za provedení testu: RNDr. Hana Bendová, Ph.D.


STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV
Národní referenční centrum
pro kosmetiku

PROTOKOL O ZKOUŠCE OČNÍ DRÁŽDIVOSTI *IN VITRO*
(HET-CAM TEST)

Zkušební laboratoř: Oddělení laboratoří toxikologie *in vitro* (Státní zdravotní ústav Praha, Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti).

Datum: 20.4. - 27.4.2021

Číslo protokolu: CTZB 187-3689/21-106

Zkoušku provedli: RNDr. S. Janoušek, Mgr. J. Chrz

Za správnost výsledků: MUDr. D. Jírová, CSc.

Zkouška byla provedena dle SOP č.7/13 ZKOUŠKA OČNÍ DRÁŽDIVOSTI *IN VITRO* (modifikace metod dle Luepke, Spielmann, Kalweit a Vinardell (Luepke, N.P., *Fd. Chem. Toxic.* 1985, 23, 287-291; Spielmann H., *Toxicol. in Vitro* 1991, 5, 539-542; Kalweit S., *Toxicol. in Vitro* 1990, 4, 702-706; Vinardell MP., *Toxicol.in Vitro.* 2006, 20 (6), 1066-1070) a protokolu INVITTOX č.47, 1992 (<http://ecvam-sis.jrc.it>).

Byl proveden: test oční dráždivosti dodaného materiálu

ZPRÁVA O PROVEDENÍ TESTU (TEST REPORT)

TESTOVANÝ VZOREK (označ. VZ-x)

VZ-1 : Oční sérum Argan a Opuncie

Zadavatel:

Ego Harmony s.r.o.
Plavská 2166/3
370 01 České Budějovice

Vzorek byl testován bez úpravy (100%).

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV PRAHA
Národní referenční centrum
pro kosmetiku

PRINCIP TESTU:

Test hodnotí vybrané ukazatele oční dráždivosti u chemických látek, biologických materiálů, předmětů běžného užívání a jiných výrobků. Hodnotí se účinek těchto substancí na vaskulární systém chorioalantoidní membrány kuřecího embrya. Ve stanoveném časovém intervalu je analyzován rozsah, dynamika a stupeň poškození cévního řečiště. Jedná se o jednu z *in vitro* alternativních metod v rámci strategie nahrazení Draizova testu oční iritace. Test simuluje některé reakce příslušné oční tkáni na vnější dráždivý podnět.

KONTROLNÍ VZORKY

Pozitivní kontrola - materiál či látka, která vyvolává reprodukovatelnou iritační reakci

Hydroxid sodný (Lachema), finální koncentrace pro přímou aplikaci 0,1N v deionizované vodě.

Laurylsíran sodný (Dodecyl sulphate sodium salt, SIGMA), 1% finální koncentrace pro přímou aplikaci v deionizované vodě.

Negativní kontrola – materiál či látka, která nevyvolává iritační reakci

PBS – pufovaný fyziologický roztok

složení: NaCl 8 g, KH₂PO₄ 0,2 g, KCl 0,2 g, Na₂HPO₄ · 12 H₂O 2,9 g
v 1000 ml deionizované vody.

METODIKA TESTU

Pro metodu jsou využívána devítidenní fertilní vejce, která jsou získávána z akreditovaných chovů (líhně Ústrašice, vejce COBB 500, ROSS 308, JA 757). Inkubace vajec probíhá při 37 ° C, v normální atmosféře s 70 % vlhkostí. Vitalita embryí je průběžně kontrolována. Chorioalantoidní membrána je zpřístupněna v oblasti vzduchové bubliny. V průběhu 5ti minutové expozice se na chorioalantoidní membráně morfologicky vyhodnocuje (pod stereomikroskopem) rozsah poškození cévního a krevního systému a změny v cirkulaci krve. Testovaná substance byla aplikována na chorioalantoidní membránu ve své originální podobě a testována na 6 vejcích. Příslušná hodnota iritačního skóre se vyjádřila jako průměr ± SD z příslušných stanovení.

1) Stanovení iritačního skóre (IS)

Pro účely výpočtu iritačního skóre (IS) se vyhodnocují účinky testované substance a stanovují se 3 časové údaje nástupu prvního projevu reakce cévního systému. Určují se časové intervaly pro hemoragii, cévní vazokonstrikci a hemokoagulaci.

Výpočet

Dle modifikované Kalweitovy rovnice je stanoveno příslušné iritačního skóre (IS):

$$IS = 5 \cdot (301 - \text{sec H}) / 300 + 7 \cdot (301 - \text{sec V}) / 300 + 9 \cdot (301 - \text{sec C}) / 300$$

H= hemoragie, V= vazokonstrikce cévy, C= krevní koagulace

Klasifikace látek dle iritačního skóre látky (IS):

kategorie: nulový - iritant	IS < 0,0 - 0,9 >
kategorie: slabý - iritant	IS < 1,0 - 4,9 >
kategorie: střední - iritant	IS < 5 - 8,9 >
kategorie: silný - iritant	IS < 9,0 - 21 >

2) Morfologický popis a hodnocení odpovědi krevního řečiště

Morfologický nález je součástí celkového hodnocení iritačního účinku testované látky. Morfologické změny se zaznamenávají dle uvedeného schématu v tabulce č.1. Stupeň morfologických změn se hodnotí na 4 stupňové křížkové škále, v závislosti na celkovém rozsahu a intenzitě iritační reakce.

Klasifikace dle celkového morfologického nálezu:

- 0 negativní nález
- + ojedinelá, nepřevažující slabá reakce
- ++ mírná, převažující reakce
- +++ střední reakce
- ++++ silná reakce

Tabulka č.1: Schéma klasifikovaných morfologických změn

Změna	Číselné označení	Morfologický nález
nulová	0	Negativní nález
Vazokonstrikce plexu	1	Změny průtoku krve v kapilárním plexu bez pozorovatelné vazokonstrikce či dilatace okolních arterií či vén
Zástava proudění v plexu	2	Hemostáza v kapilárách, absence dalších hemodynamických změn včetně okolních arteriálních či venózních větvích krevního řečiště
Odkrvení plexu	3	Nepřítomnosti krve a krevní cirkulace v kapilárním plexu
Kapilární mikrovýrony	4	Přítomnost hyperémie, difúzního krvácení nebo zvýšeného proudění krve v kapilárách a malých cévách
Sporadická hemoragie	5	Ojediné petechiální krvácení v kapilárách, resp. malých a středních cévách
Mírná hemoragie	6	Významně rozšířené drobné kapénkové krvácení („injection“- krevní mikrovýrony) v malých a středních cévách
Vazokonstrikce a dilatace větších cév, parciální či úplná hemostáza, lýza středních a větších cév	7	Vazokonstrikční a dilatační reakce malých, středních a větších cév, změny v hemodynamice krevního průtoku, rozsah krevní zástavy či přítomnosti krevních shluků
Změny mikroprostředí, denaturace ovoalbuminu	8	Konformační alterace bílkovin vaječného ovoalbuminu
Nemasivní extravaskulární hemoragie, koagulace v středních arteriích a vénách	9	Extravaskulární krvácení s charakteristickou morfologií „stromečkových“ výronů, přítomnost menších krevních shluků a sraženin, nepravidelnosti cévní morfologie (zahušťování, zředování, tvorba krevních zátek v bifurkacích a deformace větvení)
Rozsáhlá hemoragie a extravaskulární koagulace	10	Masivní krvácení, silná lokální hemoragie, nálezy temných skvrn a krevních shluků, erose velkých a středních cév

VÝSLEDKY:

Vzorek:

Morfologické hodnocení

iritační skóre ± SD číselné označení stupeň reakce

VZ-1: Oční sérum Argan a Opuncie

0,76 ± 0,4 0 0

Pozitivní kontrola:

0,1 N NaOH

16,3 ± 2,1 10 +++++

1 % SLS

14,8 ± 1,4 7 +++

Negativní kontrola:

PBS

0,22 ± 0,2 0 0

Hodnocení výsledků:

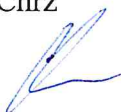
In vitro test HET-CAM neprokázal u výše uvedeného testovaného kosmetického přípravku dráždivé účinky. Na základě hodnocení celkového morfologického nálezu a výpočtu iritačního skóre se jedná o negativní nález a testovaný vzorek lze klasifikovat jako nulový oční iritant.

Závěr:

Za podmínek testu HET-CAM *in vitro*, který simuluje vybrané reakce oční tkáně, nebyly u výše uvedeného kosmetického přípravku prokázány dráždivé účinky.

Datum: 27. 4. 2021

Za provedení testu: Mgr. Jan Chrz



STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV PRAHA
Národní referenční centrum
pro kosmetiku