



上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 非动物试验主流下的 眼刺激替代检测方法

上海出入境检验检疫局

邱璐 研究员

2015年6月

[qiulu@shciq.gov.cn](mailto:qiulu@shciq.gov.cn)

公共微信号：申江替代论坛



上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 非动物试验的法规要求

欧盟化妆品法规(EC ) 1223/2009

REACH法规，GHS

UK禁止动物实验对household产品或成分进行安全性评价（2015年9月）

OECD标准体系的大量接收

各国测试指南中替代试验内容的增加

我国GB体系中的“copy”（化学品）

化妆品卫生规范改版的“指日可待”



## 化妆品对眼睛不良反应

\* 化妆品成分可能导致眼刺激或者眼腐蚀性

**赵康峰**等报道了对846种化妆品样品进行眼刺激性检测的调查，结果表明产生眼轻刺激或以上的反应的发用类和肤用清洁类分别占47.5%，20%。发用类中约10%产生的刺激作用持续21d（均为染发剂）。

\* 发用产品眼刺激检测的重要性

特别是婴幼儿产品

社会不良影响





上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 眼刺激动物试验-Draize

\* 动物：家兔 兔眼



\* 干预：结膜囊内

\* 方式：冲洗（4s,30s），不冲洗。根据用途

\* 观察：结膜，角膜，虹膜



## 眼刺激（腐蚀性）替代试验

Eye corrosion	Bovine corneal opacity permeability (BCOP) test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007)	ESAC (2007) JaCVAM (2009)	OECD TG 437 (2009; revised 2013) <sup>10</sup>
	Cytosensor Microphysiometer modified	<i>In vitro</i>	ESAC 40 (2009) <sup>7</sup>	ICCVAM (2010) <sup>8</sup>	Draft OECD TG (2012)
	Fluorescein Leakage	<i>In vitro</i>	ESAC (2009) <sup>9</sup>	JaCVAM (2012)	OECD TG 460 (2012) OECD Summary Document No. 180
	Isolated chicken eye (ICE) test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007)	ESAC (2007) JaCVAM (2009)	OECD TG 438 (2009; revised 2013) <sup>10</sup>
	Short Time Exposure (STE) test method <sup>21</sup>	<i>In vitro</i>			Draft OECD TG (2014)
	Routine use of topical anesthetics, systemic analgesics, and humane endpoints	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2010)		Updated OECD TG 405 (2012) OECD GD No. 19
	Sequential testing strategy for eye irritation and corrosion	<i>In vitro/Ex vivo/In vivo</i>	ICCVAM <sup>16</sup>		Updated OECD TG 405 (2012)



## 眼刺激（腐蚀性）替代试验

Eye irritation	Cytosensor Microphysiometer modified	<i>In vitro</i>	ESAC (2009) <sup>7</sup>	ICCVAM (2010) <sup>8</sup>	Draft OECD TG (2012)
	Short Time Exposure (STE) test method <sup>21</sup>	<i>In vitro</i>	ICCVAM (2013)		Draft OECD TG (2014)
	Reconstructed Human Cornea-like Epithelium (RhCE) Test Method <sup>22</sup>	<i>In vitro</i>	EURL ECVAM		Draft OECD TG (2014)
	Bovine Corneal Opacity Permeability (BCOP) Test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007)	ESAC (2007) JaCVAM (2009)	OECD TG 437 (2009; revised 2013) <sup>10</sup>
	Isolated chicken eye (ICE) test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007)	ESAC (2007) JaCVAM (2009)	OECD TG 438 (2009; revised 2013) <sup>10</sup>
	Routine use of topical anesthetics, systemic analgesics, and humane endpoints	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2010)		Updated OECD TG 405 (2012) OECD GD No. 19
	Sequential testing strategy for eye irritation and corrosion	<i>In vitro/Ex vivo/In vivo</i>	ICCVAM <sup>16</sup>		Updated OECD TG 405 (2012)



上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 强眼刺激（腐蚀性）替代试验

Hen's egg test-chorioallantoic membrane (HET-CAM)	<i>In vitro</i>	EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive
Isolated rabbit eye test	<i>Ex vivo</i>	EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive



上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 眼刺激（腐蚀性）替代试验

## 体外平台：

---- 细胞：HET-CAM, CAMVA, FL, Cytosensor

---- 3D模型：EpiOcular, RhCE

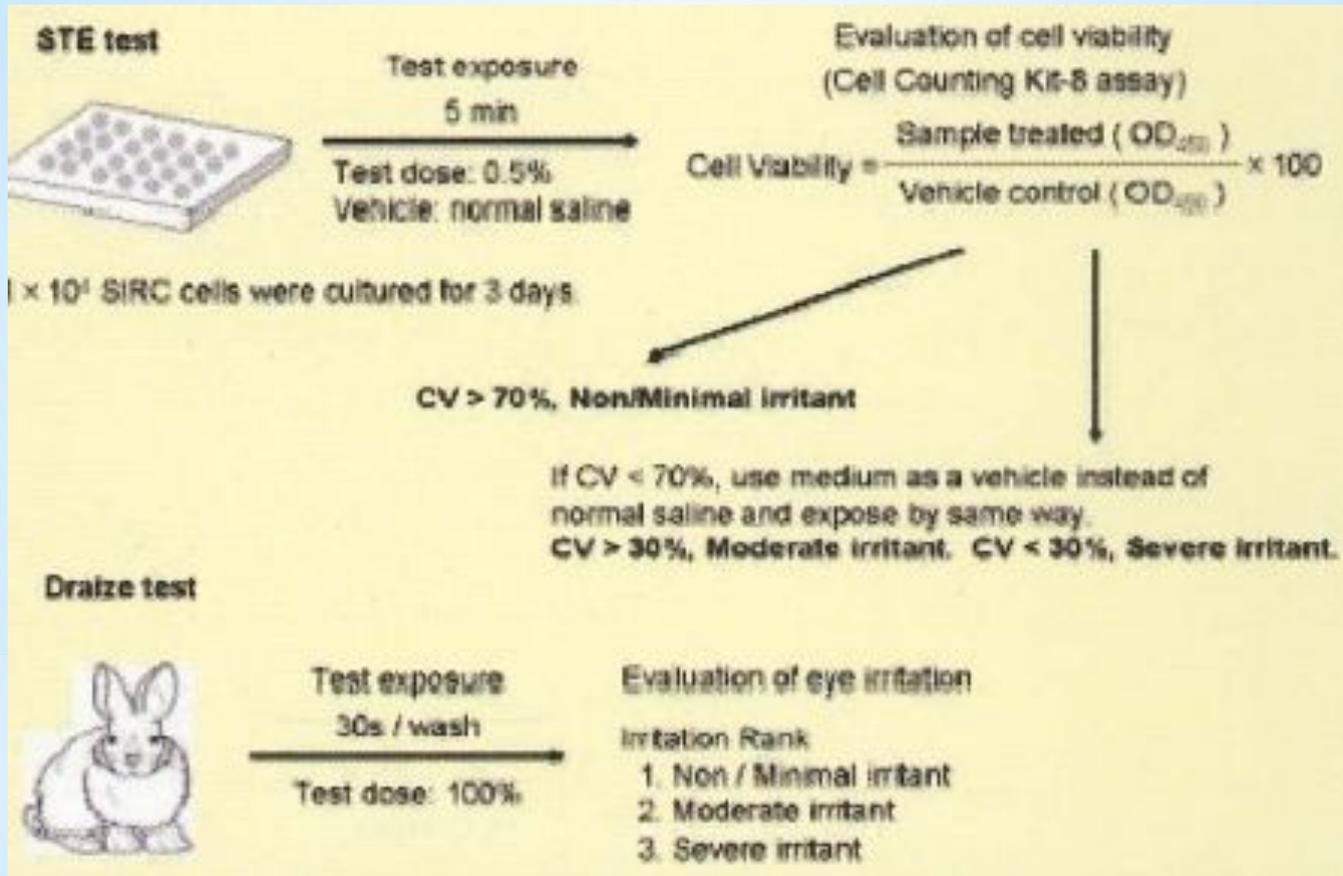
---- 低感知完整组织：HET-CAM, CAMVA,

---- 离体组织：BCOP, ICE

----



## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-STE TEST





## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-STE TEST

表 两种试验对分类产品结果的比较

样品分类	数量（个）	STE与Draize相比		
		一致率（百分比%）	假阳性（个）	假阴性（个）
发用类	15	10/15 (66.7%)	5	0
护肤清洁类	10	5/10 (50.0%)	5	0
护肤类	24	23/24 (95.8%)	1	0
家用	5	3/5 (60.0%)	2	0
其他	4	2/4 (50.0%)	0	2
合计	58	43	13	2



## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-STE TEST

### 结论：

1. 与Draize的结果相比，一致率=74.1%，STE试验的灵敏度=95.2%，特异度=78.4%，假阳性率=21.6%，假阴性率=4.8%。
2. 所有分类产品中，护肤类产品在两种试验中的结果的一致率最高，为95.8%，其次为发用类和家用类，分别为66.7%和60.0%，护肤清洁类和其他类均为50.0%。
3. 极个别呈现假阴性，比如花露水。

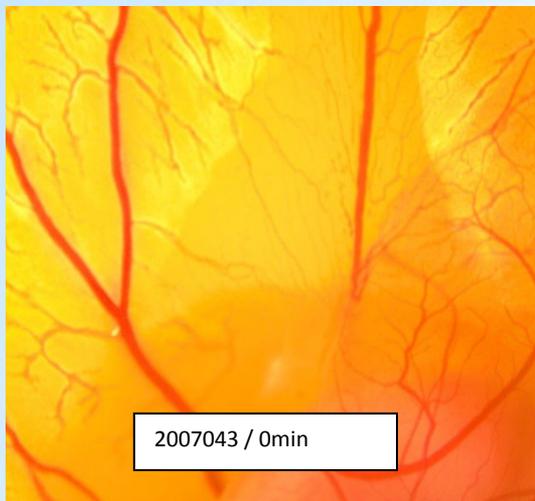


上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



# 眼刺激（腐蚀性）替代试验-HET-CAM





# 上海出入境检验检疫局

Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau



## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-HET-CAM

编号(code)	类别(sort)	Draize结果(result)	HET-CAM结果(result)
2007006	眼霜 (eye cream)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007020	润发乳 (conditioner)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007021	洗发露 (shampoo)	重度 (severe)	中度(moderate)
2007025	眼霜 (eye cream)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007026	眼霜 (eye cream)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007030	洁面乳 (face cleaner)	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007036	染发剂 (hair dye)	中度-重度 (moderate- severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007042	眼唇霜 (eye cream)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007043	遮瑕疵霜 (concealer)	中度(moderate)	强/腐蚀性 (severe)
2007045	洗发露 (shampoo)	重度 (severe)	中度(moderate)
2007047	洗发露 (shampoo)	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007048	洗发露 (shampoo)	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007049	洁面乳 (face cleaner)	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007052	洁肤露 (body wash)	中度(moderate)	强/腐蚀性 (severe)
2007053	沐浴露 (body wash)	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
2007054	花露水 (toilet water)	无/轻 (non/slight)	强/腐蚀性 (severe)
2007056	矿泉水喷雾 (spray)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007056	矿泉水喷雾 (spray)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
2007057	洗面膜泥 (face wash)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)

# 眼刺激（腐蚀性）替代试验-HET-CAM

名称(name)	Draize结果(result)	HET-CAM结果(result)
Ethanol	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
Tween80	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Isopropyl Myristate	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Tween20	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Polyoxyethylene(10) Hydrogenated Caster Oil	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Butanol	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
Glycerol	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Benzalkonium Chloride	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
SDS	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
Ca Mercaptoacetate Trihydrate	中度(moderate)	中度(moderate)
Na N-Dodecanoylsarcosinate	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)
Sucrose Fatty Acid Ester	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Polyethylene Glycol Monolaurate (10E.O.)	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
4-Dimethylaminobenzoic Acid 2-Ethylhexyl Ester	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Cyclopentane	无/轻 (non/slight)	无/轻 (non/slight)
Toluene	无/轻 (non/slight)	中度(moderate)
1-Octanol	无/轻 (non/slight)	中度(moderate)
n-Hexanol	中度(moderate)	中度(moderate)
Acetone	重度 (severe)	强/腐蚀性 (severe)

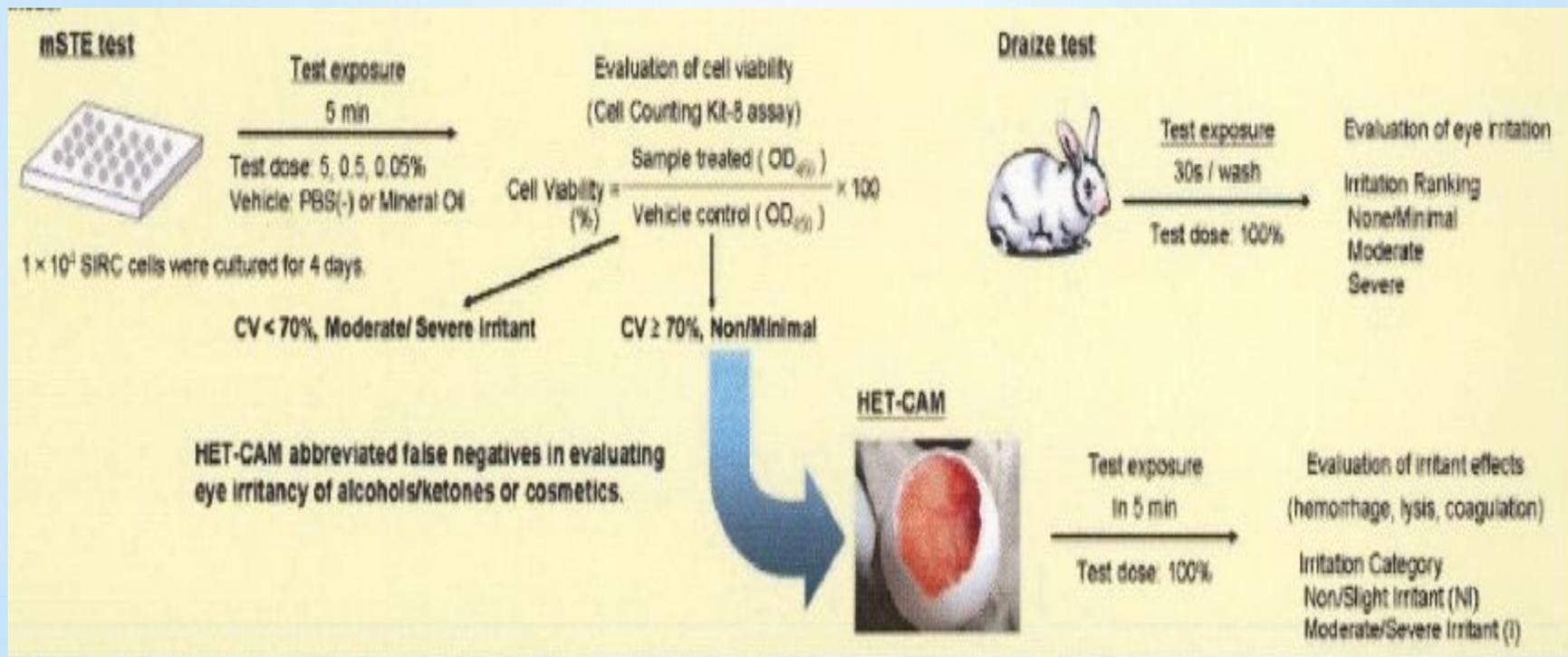
# 眼刺激（腐蚀性）替代试验-HET-CAM

## 结论：

- 1.对19种化妆品原料的检测，同样与Draize结果比较，两者的一致性达89.5%，灵敏度和特异度分别为100%和81.8%。
- 2.对23种不同种类产品的测试中，将Draize试验结果作为标准进行比较，两者的一致性达73.9%，灵敏度和特异度分别为85.7%和77.8%。
3. HET-CAM系统更适合对单纯化学品原料进行眼刺激试验。

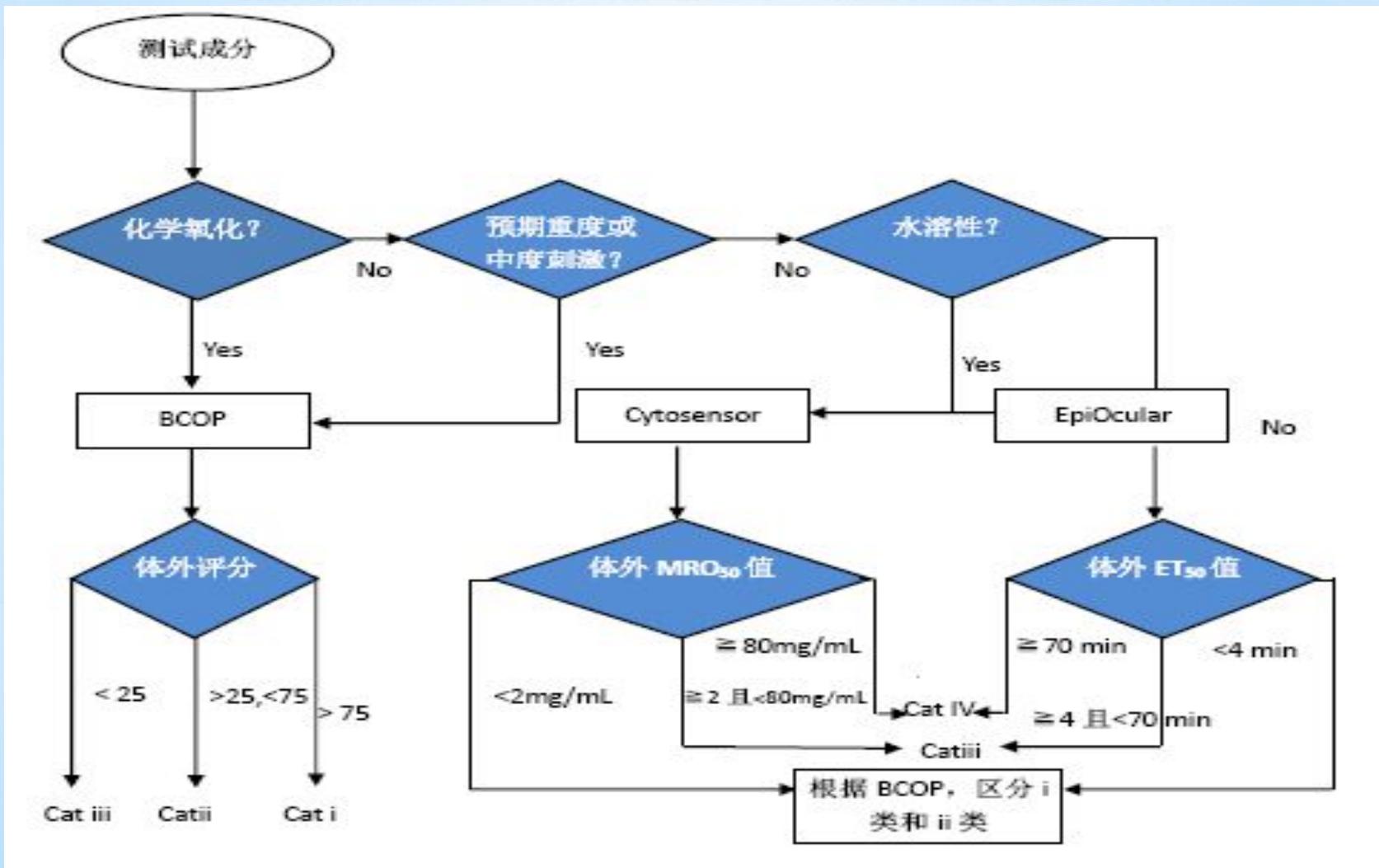


## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-组合





## 眼刺激（腐蚀性）替代试验-组合



# Thanks!

