

5 急性眼刺激性/腐蚀性试验

Acute Eye Irritation/Corrosion Test

1 范围

本规范规定了动物急性眼刺激性或腐蚀性试验的基本原则、要求和方法。
本规范适用于化妆品原料及其产品安全性毒理学检测。

2 试验目的

确定和评价化妆品原料及其产品对哺乳动物的眼睛是否有刺激作用或腐蚀作用及其程度。

3 定义

3.1 眼睛刺激性 eye irritation

眼球表面接触受试物后所产生的可逆性炎性变化。

3.2 眼睛腐蚀性 eye corrosion

眼球表面接触受试物后引起的不可逆性组织损伤。

4 试验的基本原则

受试物以一次剂量滴入每只实验动物的一侧眼睛结膜囊内，以未作处理的另一侧眼睛作为自身对照。在规定的时间内，观察对动物眼睛的刺激和腐蚀作用程度并评分，以此评价受试物对眼睛的刺激作用。观察期限应能足以评价刺激效应的可逆性或不可逆性。

动物如果在试验的任何阶段出现严重抑郁、痛苦的表现，应当给予人道地处死，依据试验情况对受试物进行适当评价。动物出现角膜穿孔、角膜溃疡、角膜4分超过48h、缺乏光反射超过72h、结膜溃疡、坏疽、腐烂等情况，通常为不可逆损伤的症状，也应当给予人道地处死。

5 试验方法

5.1 受试物

液体受试物一般不需稀释，可直接使用原液，染毒量为0.1mL。若受试物为固体或颗粒状，应将其研磨成细粉状，染毒量应为体积0.1mL或重量不大于100mg（染毒量应进行记录）。

受试物为强酸或强碱（pH值 ≤ 2 或 ≥ 11.5 ），或已证实对皮肤有腐蚀性或强刺激性时，可以不再进行眼刺激性试验。

气溶胶产品需喷至容器中，收集其液体再使用。

5.2 实验动物和饲养环境

首选健康成年白色家兔。至少使用3只家兔。试验前动物要在实验动物房环境中至少适应3d时间。在试验开始前的24h内要对试验动物的两只眼睛进行检查（包括使用荧光素钠检查）。有眼睛刺激症状、角膜缺陷和结膜损伤的动物不能用于试验。

实验动物及实验动物房应符合国家相应规定。选用标准配合饲料，饮水不限制。

5.3 试验步骤

5.3.1 轻轻拉开家兔一侧眼睛的下眼睑，将受试物 0.1 mL（100mg）滴入(或涂入)结膜囊中，使上、下眼睑被动闭合 1s，以防止受试物丢失。另一侧眼睛不处理作自身对照。滴入受试物后 24h 内不冲洗眼睛。若认为必要，在 24h 时可进行冲洗。

5.3.2 若上述试验结果显示受试物有刺激性，需另选用 3 只家兔进行冲洗效果试验，即给家兔眼滴入受试物后 30s，用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗至少 30s。

5.3.3 临床检查和评分：在滴入受试物后 1、24、48、72h 以及第 4d 和第 7d 对动物眼睛进行检查。如果 72 h 未出现刺激反应，即可终止试验。如果发现累及角膜或有其他眼刺激作用，7d 内不恢复者，为确定该损害的可逆性或不可逆性需延长观察时间，一般不超过 21d，并提供 7d、14d 和 21d 的观察报告。除了对角膜、虹膜、结膜进行观察外，其他损害效应均应当记录并报告。在每次检查中均应按表 1 眼损害的评分标准记录眼刺激反应的积分。

可使用放大镜、手持裂隙灯、生物显微镜或其他适用的仪器设备进行眼刺激反应检查。在 24h 观察和记录结束之后，对所有动物的眼睛应用荧光素钠作进一步检查。

5.3.4 对用后冲洗的产品（如洗面奶、发用品、育发冲洗类）只做 30s 冲洗试验，即滴入受试物后，眼闭合 1s，至第 30s 时用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗 30s，然后按 5.3.3 进行检查和评分。

5.3.5 对染发剂类产品，只做 4s 冲洗试验，即滴入受试物后，眼闭合 1s，至第 4s 时用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗 30s，然后按 5.3.3 进行检查和评分。

表 1 眼损害的评分标准

眼损害	积分
角膜：混浊（以最致密部位为准）	
无溃疡形成或混浊	0
散在或弥漫性混浊，虹膜清晰可见	1
半透明区易分辨，虹膜模糊不清	2
出现灰白色半透明区，虹膜细节不清，瞳孔大小勉强可见	3
角膜混浊，虹膜无法辨认	4
虹膜：正常	0
褶皱明显加深，充血、肿胀、角膜周围有中度充血，瞳孔对光仍有反应	1
出血、肉眼可见破坏，对光无反应（或出现其中之一反应）	2
结膜：充血（指睑结膜、球结膜部位）	
血管正常	0
血管充血呈鲜红色	1
血管充血呈深红色，血管不易分辨	2
弥漫性充血呈紫红色	3
水肿	
无	0
轻微水肿（包括瞬膜）	1
明显水肿，伴有部分眼睑外翻	2

眼损害	积分
水肿至眼睑近半闭合	3
水肿至眼睑大半闭合	4

6 结果评价

化妆品原料—以给受试物后动物角膜、虹膜或结膜各自在 24、48 和 72h 观察时点的刺激反应积分的均值和恢复时间评价，按表 2 眼刺激反应分级判定受试物对眼的刺激强度。

表 2 原料眼刺激性反应分级

可逆眼损伤	2A 级（轻刺激性） 2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊≥1；虹膜≥1；结膜充血≥2；结膜水肿≥2 和上述刺激反应积分在≤7 天完全恢复
	2B 级（刺激性） 2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊≥1；虹膜≥1；结膜充血≥2；结膜水肿≥2 和上述刺激反应积分在<21 天完全恢复
不可逆眼损伤	①任 1 只动物的角膜、虹膜和/或结膜刺激反应积分在 21 天的观察期间没有完全恢复 ②2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊≥3 和/或虹膜>1.5

注：当角膜、虹膜、结膜积分为 0 时，可判为无刺激性，介于无刺激性和轻刺激性之间的为微刺激性。

化妆品产品—以给受试物后动物角膜、虹膜或结膜各自在 24、48 或 72h 观察时点的刺激反应的最高积分均值和恢复时间评价，按表 3 眼刺激反应分级判定受试物对眼的刺激强度。

表 3 产品眼刺激性反应分级

可逆眼损伤	微刺激性	动物的角膜、虹膜积分=0；结膜充血和/或结膜水肿积分≤2，且积分在<7 天内降至 0
	轻刺激性	动物的角膜、虹膜、结膜积分在≤7 天降至 0
	刺激性	动物的角膜、虹膜、结膜积分在 8—21 天内降至 0
不可逆眼损伤	腐蚀性	①动物的角膜、虹膜和/或结膜积分在第 21 天时>0 ②2/3 动物的眼刺激反应积分：角膜浑浊≥3 和/或虹膜=2

注：当角膜、虹膜、结膜积分为 0 时，可判为无刺激性。

7 试验结果的解释

急性眼刺激性试验结果从动物外推到人的可靠性很有限。白色家兔在大多数情况下对刺激性或腐蚀性的物质较人类敏感。若用其他品系动物进行试验时也得到类似结果，则会增加从动物外推到人的可靠性。