

ICS 71.100.70  
C2682  
Y42

# 上海日用化学品行业协会团体标准

T/SHRH 011-2018

---

全国团体标准信息平台

## 化妆品 眼刺激性测试 鸡胚绒毛尿囊膜试验

Cosmetics Eye irritation Test - HET-CAM Test

全国团体标准信息平台

2018-12-01 发布

2018-12-30 实施

---

上海日用化学品行业协会 发布

# 目 次

前言.....	2
1. 范围.....	3
2. 规范性引用文件.....	3
3. 术语和定义.....	3
4. 原理.....	3
5. 材料和设备.....	4
6. 试验方法.....	4

全国团体标准信息平台

# 前 言

本标准按照GB/T1.1-2009给出规则起草。

本标准由上海日用化学品行业协会提出和归口。

本标准起草单位：上海出入境检验检疫动植物与食品检验检疫技术中心、上海家化联合股份有限公司、伽蓝（集团）股份有限公司、上海相宜本草化妆品股份有限公司、上海中翊日化有限公司、上海市质量监督检验技术研究院、玫琳凯（中国）有限公司、上海天祥质量技术服务有限公司、上海清轩生物科技有限公司、汉高（中国）投资有限公司、广东博溪生物科技有限公司、东阿阿胶股份有限公司、上海日用化学品行业协会。

本标准主要起草人：卞俐娜、丁诗璇、张丽婷、陈田、吴建铭、吕智、孙培文、林艺青、戴彦韵、万向红、李琼、高宏旗、金坚、陈亦华

全国团体标准信息平台

# 化妆品眼刺激性/腐蚀性的鸡胚绒毛尿囊膜试验

## 1 范围

本标准规定了化妆品（及原料）眼刺激性鸡胚绒毛尿囊膜试验测试方法。

本标准可用于产品配方的筛选。

本标准可作为化妆品眼刺激性体外试验方法。

本标准可作为眼刺激性评估体外组合方法之一。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

SN/T 2285 化妆品体外替代试验实验室规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 眼刺激性 eye irritation

眼球表面直接接触受试物后引起的眼及周围粘膜可逆性炎性变化。

### 3.2 眼腐蚀性 eye corrosion

眼球表面直接接触受试物后引起的眼及周围粘膜不可逆性组织损伤。

### 3.3 绒毛尿囊膜 chorioallantoic membrane, CAM

胚龄 4d~5d 时，由绒毛膜体壁中胚层和尿囊膜脏层中胚层融合而成，其组织学结构有三层。

### 3.4 出血 hemorrhage

血液从 CAM 膜血管内流出血管外，可以表现为血管外出现点状出血或絮状的弥漫性出血等多种形式。

### 3.5 凝血 coagulation

血管内、外蛋白的变性，表现为血管内血流变慢或血栓形成，血管呈现棕黑色，血管外出现浑浊和不透明。

### 3.6 刺激分数 Effective Score (ES)

产生不同程度出血、凝血和血管融解刺激反应的分值。

### 3.7 血管融解 blood vessel lysis

CAM 膜上小血管壁破裂，血管融解消失。

## 4 原理

绒毛尿囊膜（CAM）是一个呼吸性膜，包围在鸡胚周围。由于鸡胚尿囊膜表面血管丰富，可以看作一个完整的生物体，本试验利用孵化的鸡胚中期绒毛尿囊膜血管系统完整、清晰和透明的特点，将一定

量受试物直接与鸡胚尿囊膜接触，作用规定时间之后观察绒毛尿囊膜毒性效应指标（如：出血、凝血和血管融解）的变化，给予评分，计算数学平均值用于评估受试物的眼刺激性。

## 5 材料与设备

5.1 体视显微镜（最好带 CCD 摄像头）

5.2 照蛋器

5.3 孵蛋箱

5.4 电子计时器

5.5 微量加样器及一次性枪头

5.6 无菌生理盐水

5.7 牙科弯头镊

## 6 试验方法

### 6.1 基本要求

试验环境和操作需符合SN/T 2285规范要求。

试验鸡胚保持于孵蛋箱中，使用时再个别取出。在规定的暴露时间终止后立刻拍照，迅速观察出血、凝血和血管融解的毒性效应程度，给予评分。由于是主观判断，试验人员必须接受培训和监督考评。

### 6.2 试验准备

#### 6.2.1 鸡胚品系

白莱杭鸡（White Leghorn chicken）等品种的受精鸡胚，鸡胚重量50g-60g，优先选用SPF鸡胚，鸡胚质量符合相关标准的要求。

#### 6.2.2 孵化条件

孵化温度 $37.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度55%-70%，翻蛋频率3次/h-6次/h。

#### 6.2.3 鸡胚准备

孵化至第8日用照蛋器照蛋检查，弃未受精、无活性的鸡胚，选取血管发育良好的鸡胚，在蛋壳表面标记气室位置。

#### 6.2.4 受试物制备

不论样品性状如何，产品可以使用原样或者目标浓度进行试验。如果为液体，取0.3 mL作用于CAM。如果为固体，先研磨成细粉末或者削成薄片，再用少量双蒸水湿润称取0.3g后作用于CAM。如样品为膏状物，可将受试物涂布于塑料薄膜表面，翻转薄膜，将样品面与CAM接触。

注：着色力强的有色样本或者粘性非常强的样本不适合本方法。也可以先进行稀释，然后再进行试验。

#### 6.2.5 阴性对照

通常选用 0.9%的氯化钠溶液。

#### 6.2.6 阳性对照

阳性对照应当是能够产生严重反应的物质，如 1%SDS、0.1mol/L 氢氧化钠。

## 7 正式试验

### 7.1 试验分组

每组至少6只鸡胚，每一次试验都需要设置阴性对照和阳性对照。

### 7.2 暴露

第9日开始试验。用牙科弯镊小心剥去气室蛋壳部分，在蛋壳膜表面滴几滴生理盐水使充分润湿，倾出后，用镊子小心除去蛋壳膜，保证暴露的尿囊膜完整不受任何损伤。取0.3ml/0.3g受试物直接作用于CAM。尽量涂布开，确保覆盖面积达到至少50%。作用3min后，用双蒸水轻轻冲洗CAM表面，在30s内冲洗完成，倾出液体，立即在体视显微镜下观察每种毒性效应变化程度，给予评分（ES）。条件允许，应在3min暴露完成后，观察开始时立即拍照。

### 7.3 结果观察

#### 7.3.1 出血

血液从CAM的血管或毛细血管流出。根据无出血、轻度出血、中度出血、重度出血分别判予0、1、2、3分。

#### 7.3.2 凝血

指血管内外蛋白变性，表现为血栓、管壁肿胀、血管内外的凝血点出现、血管外乳浊状浑浊等状况。根据无凝血、轻度凝血、中度凝血、重度凝血分别判予0、1、2、3分。

#### 7.3.3 血管融解

指CAM膜上血管消融。根据无血管融解、轻度血管融解、中度血管融解、重度血管融解分别判予0、1、2、3分。

### 7.4 结果计算和评价

按以下公式计算ES平均分，按表1判断刺激分类。

$$ES = \frac{6 \text{ 只鸡胚观察到出血、凝血、血管融解的程度总和}}{3}$$

表1 结果评价

终点评分	刺激性分类
ES≤12	无/轻刺激性
12<ES<16	中度刺激性
ES≥16	严重刺激性