



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4150—2015

---

## 化学品 离体鸡眼试验

Chemicals—Test method of isolated chicken eye

2015-02-09 发布

2015-09-01 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准等同采用联合国经济合作发展组织(OECD)化学品试验导则 No.438《鉴别眼腐蚀和严重眼刺激性物质的离体鸡眼球试验法》(2009.9)(英文版)。

本标准与 OECD 化学品试验导则 No.438 相比,存在以下差异:

- 对 OECD 化学品试验导则 No.438 进行了编辑性修改;
- 增加了前言部分;
- 将附录 1 内容转移至术语和定义部分。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:赵琢、柳明、刘凤娟、冯杰、张彬、王娜、于燕燕。

# 化学品 离体鸡眼试验

## 1 范围

本标准规定了离体鸡眼试验(ICE)的试验准备、试验方法和结果报告。  
本标准适用于化学品眼腐蚀性或严重眼损伤性的鉴别试验。

## 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。

GB/T 21609 化学品 急性眼刺激性/腐蚀性试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**角膜 cornea**

眼球前部的透明部分,覆盖住瞳孔和虹膜,并能接收光线。

### 3.2

**角膜混浊 corneal opacity**

检测暴露于测试物后角膜的不透明度的一种方法。角膜混浊度的增加说明其受到损伤。

### 3.3

**角膜膨胀度 corneal swelling**

在离体鸡眼实验中,用来衡量暴露于实验物中的角膜扩张范围的客观指标。通过对基线(未受试前)角膜厚度和对在常规间隔内暴露于实验物质之后的角膜厚度进行测量计算出该值并用百分比表示,角膜膨胀程度表示角膜损伤度。

### 3.4

**离体鸡眼试验 isolated chicken eye test; ICE**

使用一种器官模型,在体外较短时间内,这种模型能够维持鸡眼活性。在这种试验方法中,通过测定角膜肿胀、角膜混浊度和荧光素滞留度对鸡眼损伤程度进行评估。其中角膜肿胀分析用于定量评价,其他参数定性评价。按照定量评价结果(计算得出的总刺激指数),或者定性评价结果(按照GB/T 21609 中的方法进行定性评价)对体外眼腐蚀性和严重眼损伤性进行分类。定量和定性的方法所得结果都可以预测体内实验物质潜在的眼腐蚀性和严重眼损伤性。

### 3.5

**裂隙灯显微镜 slit-lamp microscope**

该仪器通过双目镜显微镜对眼进行放大形成立体、垂直的镜像对眼进行直接检查。在 ICE 实验中,该仪器不仅用于观察鸡眼的结构,而且可用与它相连的厚度测量仪器对角膜厚度进行定量测定。

4 试验准备

4.1 鸡眼球来源和年龄

用于本方法的鸡眼球应是从家禽屠宰场收集的,选择可供人类食用的健康动物的眼球进行实验。本试验方法应使用家禽屠宰场传统加工的童子鸡(约 7 周大,重 1.5 kg~2.5 kg)进行实验。

4.2 眼球的收集与实验室运送

通过电击使鸡电休克,切开脖子放血后迅速取下鸡头,鸡头从屠宰场运出时应放在常温的塑料箱中,并用等渗盐水润湿的毛巾增湿,并尽快运送到实验室,尽量减少其变质和被细菌污染。收集鸡头和取鸡眼用于 ICE 试验的间隔时间应尽量短(通常在 2 h 内),确保不影响试验结果。所有用于实验的鸡眼均应来自同一天采集的同一鸡眼组。

4.3 用于 ICE 试验鸡眼的选择标准及数量

鸡眼摘出后具有高荧光素滞留度(大于 0.5,见表 2)的眼球和角膜混浊度评分大于 0.5(大于 0.5,见表 1)的眼球应弃用。每个处理组及其对照组应包含至少 3 只鸡眼。阴性对照组或溶剂对照组(如使用除盐水外的其他溶剂)应包含至少 1 只眼球。

表 1 角膜混浊度评分

评分	观测结果
0	无混浊
0.5	非常轻微的混浊
1	分散或弥漫性区域,虹膜细节清晰可见
2	可轻易辨别半透明区,虹膜细节略有模糊
3	严重的角膜混浊,具体的虹膜细节不可见,瞳孔大小难以分辨
4	角膜完全混浊,虹膜不可见

表 2 荧光素滞留度评分

评分	观测结果
0	无荧光素滞留
0.5	很少数的单细胞染色
1	整个角膜处理区的单细胞染色
2	病灶或稠密汇合的单细胞染色
3	大面积汇合的角膜荧光素滞留

5 试验方法

5.1 鸡眼的预处理

5.1.1 鸡眼的预处理

将眼睑仔细切除,注意不要损坏角膜。将一滴 2%(质量浓度)荧光素钠滴加于角膜表面作用几秒

后迅速评估角膜完整性,然后用等渗盐水冲洗。利用裂隙灯显微镜对荧光素处理过的眼球进行检查,确保角膜未受损(荧光素滞留度和角膜混浊度评分均不大于 0.5,评分方法参见 6.1)。

如果眼未受损,将眼球进一步解剖切离颅骨,注意不要损坏角膜。用手术钳夹紧瞬膜将眼球从眼眶中取出,用弯曲的钝头剪将眼球的肌肉切断。避免压力(人为挤压)过大而导致角膜损伤。

眼球离开眼眶后有部分视神经附着在其上,将眼球放在吸水垫上,切除瞬膜和其他结缔组织。

将摘出的眼球固定在眼固定器上,并使角膜处于垂直位置。将固定了眼球的眼固定器转移到表面灌流装置的空腔中。眼固定器及表面灌流装置示意图参见附录 A。不锈钢钳在表面灌流装置中的放置位置,应确保眼球能够全部接触到等渗盐水。表面灌流装置空腔中的温度应控制在  $32\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

### 5.1.2 鸡眼的选择标准

放入表面灌流装置中后,用裂隙灯显微镜检查剥离过程中是否对眼球造成了损伤。还应通过裂隙灯显微镜上的厚度测定装置,在角膜顶端对角膜厚度进行测定。所有出现以下情况的眼球应弃用:

- 荧光素滞留度大于 0.5;
- 角膜混浊度大于 0.5;
- 其他额外的受损标志。

没有出现以上现象的眼球,但其角膜厚度与所有眼球角膜厚度平均值相差大于 10% 也应弃用。由于裂隙灯的狭缝宽度设置不同,则其所测定的角膜厚度也不同,故狭缝宽度应设置为 0.095 mm。

### 5.1.3 基线的设定

眼球一旦经检查认定为合格后,应在进行下一步试验前孵育眼球约 45 min~60 min 以使其与试验体系相均衡。记录初始参照值作为角膜厚度和混浊度的基线(试验时间等于零)。眼球剥离时测定的荧光素评分并作为该评分终点的基线。立即将眼球(及其固定装置)移出表面灌流装置,水平放置,将试样施加在角膜上。

## 5.2 测试物的预处理及测试

### 5.2.1 液体测试物

液体测试物通常不经稀释直接试验,如果认为有必要可进行稀释,稀释溶剂首选生理盐水。在对照条件下也可以使用其他溶剂,但应说明所选溶剂比生理盐水更合适的原因。将 0.03 mL 液体试样均匀作用于眼角膜表面。

### 5.2.2 固体测试物

应使用研钵和杵或其他研磨工具将固体测试物尽可能磨细。将 0.03 g 测试物粉末均匀的分散在角膜表面。

### 5.2.3 清洗

室温下,测试物在角膜上停留 10 s 后于用等渗盐水(约 20 mL)冲洗除去。接着将眼球(及其固定装置)重新放回表面灌流装置,并保持原来的垂直放置。

## 5.3 对照组

- 每个试验都应包括平行的阴性对照和阳性对照。
- 在进行 ICE 实验时,试样为百分之百的纯液体或固体时,采用生理盐水作为平行阴性对照以检测试验系统的非特异性变化。

- 当试样为稀释过的液体时,采用平行溶剂或载体作为平行阴性对照,阴性对照物只能使用已证明的对试验系统无不利影响的溶剂或载体。
- 试验应用一个已知的眼腐蚀性和严重眼损伤性物质作为平行阳性对照。阳性对照物应能够在试验时间内引起阳性反应且反应的强度不应过度。液体试样阳性对照一般选用 10% 乙酸或 5% 氯苄烷铵,固体试样的阳性对照一般选用氢氧化钠或咪唑。

#### 5.4 检测终点

分别对处理前和处理并清洗后 30 min、75 min、120 min、180 min 和 240 min(±5 min)的角膜进行定性定量评价。每 2 次测定期间对所有眼球进行必要的观察。定性定量评价包括:角膜混浊、角膜膨胀度、荧光素滞留度(仅在处理前和试样中暴露 30 min 后测定)和形态影响(如上皮细胞的点蚀和松弛)。

### 6 结果报告

#### 6.1 数据处理

##### 6.1.1 角膜膨胀度

通过使用裂隙灯显微镜上的厚度计对角膜厚度进行测量,并通过式(1)计算出角膜膨胀度,用百分比表示:

$$t \text{ 时间的角膜膨胀度} = \left( \frac{\text{时间为 } t \text{ 时的角膜厚度} - \text{时间为 } 0 \text{ 时的角膜厚度}}{\text{时间为 } 0 \text{ 时的角膜厚度}} \right) \times 100\% \dots\dots (1)$$

计算处理组所有受试眼球在每个观测时间点的角膜膨胀度平均值,其中最高的角膜膨胀度平均值,即为该测试物的最终角膜膨胀度。

##### 6.1.2 角膜混浊度

按照混浊密集的角膜区域进行角膜混浊度评分,评分方法见表 1,计算处理组所有受试眼球在每个观测时间点的角膜混浊度评分的平均值,其中最高的角膜混浊度评分平均值,即为该测试物的最终角膜混浊度评分。

##### 6.1.3 荧光素滞留度

按照表 2 的评分方法,对处理组所有受试眼球在 30 min 时的荧光素滞留度进行评分,计算平均值即为该测试物的最终荧光素滞留度评分。

##### 6.1.4 形态影响

形态影响包括:

- 角膜上皮细胞的“点蚀”;
- 上皮“松弛”;
- 角膜表面“粗糙”;
- 试样“粘附”在角膜上。

#### 6.2 结果评价

##### 6.2.1 评价方法

按照最终评分对角膜膨胀度、角膜混浊度、和荧光素滞留度三个检测终点进行 ICE 分类,根据 ICE



分类组合结合形态影响判定测试物眼腐蚀和严重眼损伤结果。

6.2.2 角膜膨胀度 ICE 分类

按照表 3 的分类标准对角膜膨胀度进行 ICE 分类。

表 3 角膜膨胀度 ICE 分类标准

最终角膜膨胀度 <sup>a</sup> / %	ICE 类别
0~5	I
5<平均角膜肿胀≤12	II
12<平均角膜肿胀≤18(处理后>75 min)	II
12<平均角膜肿胀≤18(处理后≤75 min)	III
18<平均角膜肿胀≤26	III
26<平均角膜肿胀≤32(处理后>75 min)	III
26<平均角膜肿胀≤32(处理后≤75 min)	IV
>32	IV
<sup>a</sup> 表 3 给出的分类标准是基于使用 Haag Streit BP900 裂隙灯显微镜的 I 号厚度测定装置测试得到的角膜膨胀度。	

6.2.3 角膜混浊度 ICE 分类

按照表 4 的分类标准对角膜混浊度进行 ICE 分类。

表 4 角膜混浊度 ICE 分类标准

最终角膜混浊度评分	ICE 类别
0~0.5	I
0.6~1.5	II
1.6~2.5	III
2.6~4.0	IV

6.2.4 荧光素滞留度 ICE 分类

按照表 5 的分类标准对荧光素滞留度进行 ICE 分类。

表 5 荧光素滞留度 ICE 分类标准

处理后 30 m 时最终荧光素滞留度评分	ICE 类别
0~0.5	I
0.6~1.5	II
1.6~2.5	III
2.6~3.0	IV

SN/T 4150—2015

6.2.5 测试物眼腐蚀和严重眼损伤 ICE 判定标准

根据三个检测终点的 ICE 分类组合,按照表 6 的判定标准对测试物眼腐蚀和严重眼损伤进行 ICE 判定。

表 6 眼腐蚀和严重眼损伤 ICE 判定标准

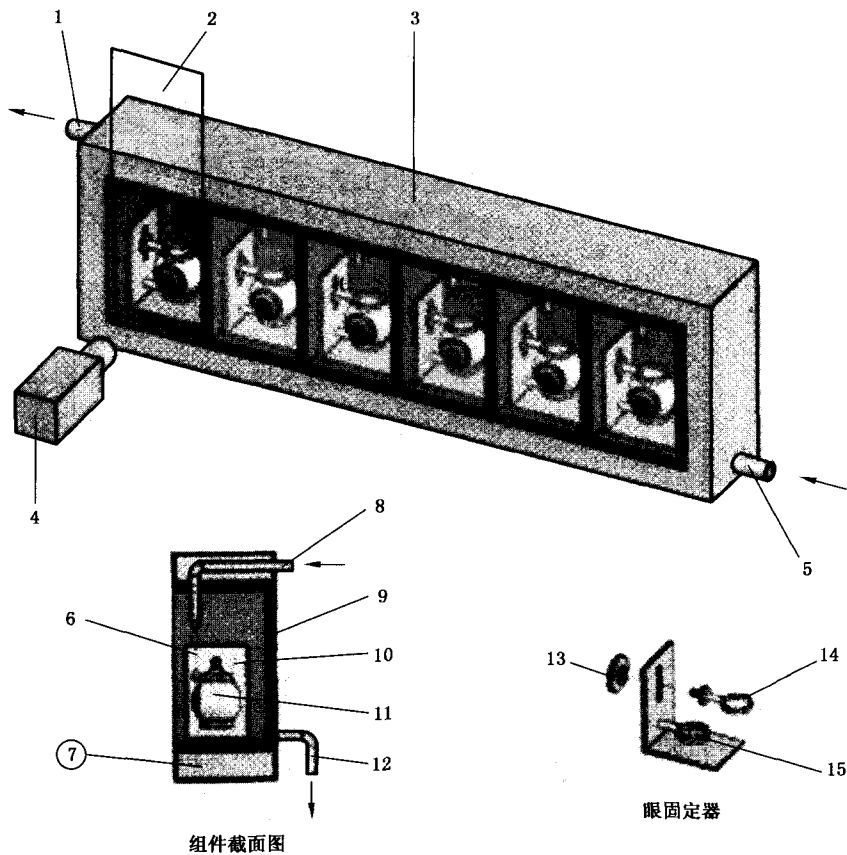
分类	三个终点的组合
眼腐蚀和严重眼损伤	3×Ⅳ; 2×Ⅳ,1×Ⅲ; 2×Ⅳ,1×Ⅱ; 2×Ⅳ,1×Ⅰ; 30 min 时角膜混浊度≥3(至少 2 只眼球); 任何时间点角膜混浊度=4(至少 2 只眼球); 上皮严重松弛(至少 1 只眼球)

6.3 试验报告

- 试验报告应包括以下信息:
- 测试物和对照物的化学名称、CAS 登记号、理化性质和预处理过程;
  - 实验室和实验室负责人的地址和名称;
  - 鸡眼球的来源及鉴定;
  - 鸡眼球的储存和运输条件(如:眼球收集的日期和时间、测试前的时间间隔);
  - 测试方法、测试系统的描述及测试条件;
  - 使用的裂隙灯显微镜(模式)及附属装置;
  - 所使用及眼球的信息,包括对其质量报告;
  - 测试步骤;
  - 所采用的评价标准;
  - 单个测试样品的数据结果,以表格的形式报告;
  - 描述观察到的其他现象。



附录 A  
(资料性附录)  
眼固定器及表面灌流装置示意图



说明:

- 1——温水出口;
- 2——滑动门;
- 3——灌流设备;
- 4——光学测量设备;
- 5——温水进口;
- 6——盐水;
- 7——温水;
- 8——盐溶液进口;

- 9 —— 组件;
- 10——眼球固定架;
- 11——眼部固定器;
- 12——盐溶液出口;
- 13——固定螺丝钉;
- 14——可调试上臂;
- 15——已固定的下臂。

图 A.1 眼固定器及表面灌流装置示意图