

产品

普境安

研究主题

兔子原发性眼睛刺激研究

数据要求

U.S. EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.2400 (1998)

作者

Daniel J. Merkel, B.S.

研究完成于

2005 年 3 月 10 日

执行实验室

Product Safety Laboratories

2394 Highway 130

Dayton, New Jersey 08810

实验室研究编号

16450

无数据保密声明

对于本研究所载的任何资料，本研究基于其在 FIFRA 10(d)(1)(A)、(B)或(C)范围内的任何信息，均未提出保密要求。

公司： **ARCH ANGEL LLC**

公司代理人： _____

姓名

职称

签名

日期

(备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件)

良好的实验室实践合规声明

普境安

本研究满足美国联邦法案第 40 篇 160 部分要求：美国环境保护署(FIFRA)有以下例外：所接收和检测的检测物质浓度的稳定性、特性、身份和验证相关的具体信息是研究发起者的责任（见检测物质部分）

研究执行者：

Daniel J Merkel, B.S.

Product Safety Laboratories

Date

提交者：

签名

日期

委托方：

签名

日期

(备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件)

质量保证声明

产品安全实验室的质量保证小组审查了这项研究，以遵守产品安全实验室的标准操作程序、研究协议，以及所有适用的 GLP 标准。最终报告是对工作记录的准确表达，并保存在文件上。下面的摘要提供了在最终报告部分中对质量保证审计所作的陈述的核查。

本研究的质量保证：

质量保证	进程日期	向研究执行者和管理人员汇报结果的日期
协议审查	2/19/04 ¹ , 2/11/05	2/19/04, 2/14/05
进程检验： 每 24 小时监测一次进程	12/28/04	2/14/05
原始数据审计	2/11/05	2/14/05
报告草案审查	2/11/05	2/14/05
最终报告审查	3/10/05	3/10/05

Lourse N. Caruso, B.S.
质量保证审计
Product Safety Laboratories

¹ 本研究使用的 PSL 的“通用”协议在这个日期被质量保证小组审查

(备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件)

目录

无数据保密声明	2
良好的实验室实践合规声明	3
质量保证声明	4
目录	5
兔子原发性眼睛刺激研究	6
1. 目的	6
2. 概述	6
3. 材料	7
4. 方法	8
5. 过程	9
6. 试验实施	10
7. 质量保证	10
8. 终版草案的偏差	10
9. 终版报告和记录的保存.....	10
10. 结果	10
11. 结论	11
签名	12
表 1：眼睛刺激的独立得分	13
表 2：眼部疾病的评分标准	14
表 3：眼睛刺激分数的分类	15

兔子原发性眼睛刺激研究

协议编号：	P324
代理人：	EPA (FIFRA)
研究编号：	16450
委托方：	ARCH ANGEL LLC 636 Hampshire, Suite 208 Quincy, IL 62301
检测物质识别：	普境安 编号#1 批号 63
检测物质描述：	浅粉色粉末
接受日期：	2004 年 11 月 8 日
PSL 参考编号：	041108-3D
研究开始日期：	2004 年 11 月 15 日
检测日期：	2004 年 12 月 27-30 日
笔记编号：	04-94：265-273 页

1. 目的

提供有关普境安单滴到眼睛中可能引起的刺激的相关信息。

2. 概述

通过单滴入眼睛的方式，对兔子进行原发性眼部刺激试验，以确定普境安的潜在刺激。在这项研究的条件下，检测物质被归类为轻度刺激眼睛。

在研究使用之前，将检测物质磨成粉末。将十分之一毫升（0.04 克）的研磨检测物质注入三只健康兔子的右眼。左眼未处理，作为对照组。用 Draize 等人的方法¹对眼部刺激进行了评估。（见表 2）

¹ 本研究中采用 Draize, J.H., Woodward, G. 和 Calvery, H.O. 的对皮肤和黏膜上的物质进行刺激和毒性研究的方法。J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944; 82:377-390.

在这项研究中，没有发现被处理的角膜不透明。试验后一小时，经处理的三组眼睛均表现为虹膜炎和结膜炎。随着时间的推移，刺激的总体发病率和严重程度降低。所有动物在 72 小时内都没有眼部刺激。

刺激的发病率、严重程度和可逆性如下所述：

滴入后 时间	刺激发病率		
	角膜透明度	虹膜炎	结膜炎
1 小时	0/3	3/3	3/3
24 小时	0/3	0/3	3/3
48 小时	0/3	0/3	3/3
72 小时	0/3	0/3	0/3

滴入后时间	刺激严重程度——平均分数
1 小时	15.0
24 小时	6.0
48 小时	4.0
72 小时	0

3. 材料

A. 检测物质

该检测物质被鉴定为普境安，编号# 1 批次 63，于 2004 年 11 月 8 日收到，并进一步确认 PSL 参考编号为 041108-3D。检测物质为粉色粉末，常温保存。在使用之前，用研钵和杵磨碎检测物质。在丹麦保留了对检测物质的合成、制作或衍生方法的记录。

除另有说明外，委托方还提供了以下与检测物质描述有关的信息：

剂量：不提供

pH：3.5（作为 1% w/w 溶液）¹

溶解度：微溶于水

¹ 由 Product Safety Laboratories（来自 PSL 研究编号 16446 和 16445 分别用于活性成分和 pH）决定。

稳定性：检测物质在检测期间预计会稳定

到期时间：不适用

B. 动物

3.B.1 动物数量：3

3.B.2 性别：雄性

3.B.3 物种/应变：兔子/新西兰白化

3.B.4 年龄：青年

3.B.5 资料来源：2004年12月15日来源于 Robinson Services, Inc.
Clemmons, NC

4. 方法

A. 管理

4.A.1 饲养环境：这些动物单独居住在悬挂的不锈钢笼子中，其网格地板符合最新的《护理和使用实验室动物 DHEW(NIH)指南》的建议尺寸。在笼子下放置垃圾纸，每周至少更换三次。

4.A.2 动物的房间温度范围：20-23°C

4.A.3 光照周期：12 小时光照/黑夜循环

4.A.4 适应时间：12 天

4.A.5 食物：普瑞纳颗粒状兔粮 #5326

4.A.6 水：采用自动配水系统对自来水进行过滤

4.A.7 污染物：在食物或水中没有发现任何将会干扰这项研究的结果的已知污染物。对食品和分析至少每年进行一次，并且记录保存在 Product Safety Laboratories 的文件中

B. 身份识别

4.B.1 笼子：每个笼子都有一个笼子卡片，上面至少标明了该动物的研究编号、身份和性别。

4.B.2 动物：给每只兔子的卡片和不锈钢的耳朵标签分配一个数字。这个数字，加上分配给研究编号 16450 的顺序动物号码，构成了唯一的标识。

5. 过程

A. 动物的选择和准备

在滴注之前，对一定数量的动物眼睛使用荧光染料进行检查。在每只兔子的双眼中滴入 2% 的荧光素钠。在荧光素滴入后大约 30 秒，用生理盐水（0.9% NaCl）冲洗眼睛。使用紫外光光源，根据“眼部评分标准”（见表 2），检查眼睛是否有明显异常。

B. 滴注

在使用之前，试验物质是用研钵和杵磨碎的。通过将下眼睑拉离眼球，将 1 / 10 毫升（0.04 克）磨碎的试验物质注入每只兔子右眼的结膜囊中。然后在释放兔子前，将其上、下的眼睑轻轻合上约一秒钟，以减少检测物质的损失。每只兔子的另一只眼睛未处理，作为对照组。之后兔子被送回他们指定的笼子。

C. 眼部评分

根据 Draize 等人¹（见表 2），在滴注 1、24、48 和 72 小时后用高强度白光（Mag Lite）对眼部刺激进行评估。24 小时后使用第 5.A 点所述的荧光染料评估程序，以证实角膜损伤。记录每只动物的独立得分。除角膜、虹膜和结膜外，记录观察到的其他病变。计算每个评分期间所有兔子的平均得分，以帮助进行数据解读。

D. 眼部得分分类

通过 Kay 和 Calandra² 系统，使用所有兔子的最高平均得分（最高平均分数- MMTS）和时间间隔对检测物质进行分类。

E. 笼侧观察

在试验期间，这些动物每天至少有一次出现明显的中毒和行为变化的迹象。观察包括皮肤和皮毛、眼睛和粘膜、呼吸系统、循环系统、自主神经系统和中枢神经系统、体细胞活动和行为模式的总体评价。特别注意观察颤抖、抽搐、流涎、腹泻和昏迷。

¹ 本研究中采用 Draize, J.H., Woodward, G. 和 Calvery, H.O. 的对皮肤和黏膜上的物质进行刺激和毒性研究的方法。J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944; 82:377-390.

² Kay, J.H. 和 Calandra, J.C. 对眼睛刺激试验的解读。J. Soc. Cos. Chem. 1962; 13:281-289.

6. 试验实施

这项研究是在 2394 Highway 130, Dayton, New Jersey 08810 的 Product Safety Laboratories 进行的。这项研究的主要技术人员是 Anselmo Villagran, B.S.。这项研究是遵守 GLP 的以下规定：

- 40 CFR 160：美国 EPA GLP 标准：农药项目（FIFRA）

并按照：

- 美国环保署健康影响测试指南，OPPTS 870. 2400（1998）

7. 质量保证

最终报告经审核，与原始数据记录一致，符合协议、产品安全实验室标准操作程序和适当良好实验室的实践标准。在研究期间进行的检查和审核的日期，以及对研究主任和设施管理的检查和审计结果的报告日期，记载于质量保证声明中。

8. 终版草案的偏差

无偏差

9. 终版报告和记录的保存

签署的最终报告原件将被转发给委托方。本已签署的报告副本，连同议定书和在产品安全实验室生成的所有原始数据保存在产品安全实验室档案中。产品安全实验室将维持这些记录至少 5 年。在此之后，委托方将有机会获得该记录，或者将收取由产品安全实验室继续收费存档。

10. 结果

独立眼睛刺激得分见表 1。Draize 方法对眼部病变评分表见表 2。在表 3 中给出了通过 Kay 和 Calandra 方案对眼部刺激进行分类。

所有的动物都表现出活跃和健康的状态。除眼部刺激外，没有其他明显的中毒、不良药理作用或异常行为的迹象。

在研究过程中，任何处理过的眼睛都不会发现角膜混浊。注入检测物质一小时后，所有三只眼睛都有虹膜炎和结膜炎。随着时间的推移，刺激的整体发病率和严重程度降低。所有的动物在 72 小时内都没有眼睛刺激。

普境安的最高平均分数为 15.0。

11. 结论

在这项研究的条件下，普境安被归类为轻度刺激眼睛。

签名

普境安

我们，以下署名人，声明本报告中所记载的方法、结果和数据忠实地反映了在研究过程中所用进程和原始数据。

Daniel J Merkel, B.S.

研究主任

Product Safety Laboratories

日期

Gary Wnorowski, B.A., M.B.A

董事长

Product Safety Laboratories

日期

(备注：此文件为中文翻译文件，签名请参考英文原文件)

表 1：眼睛刺激的独立得分

	兔子编号：13406 (雄性)				兔子编号：13407 (雄性)				兔子编号：13408 (雄性)				
	小时				小时				小时				
	1	24	48	72	1	24	48	72	1	24	48	72	
I. 角膜													
A. 不透明度	0	0 ¹	0	0	0	0 ¹	0	0	0	0	0 ¹	0	0
B. 区域	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
(A×B) ×5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II. 虹膜													
A. 反应	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
A×5	5	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
III. 结膜													
A. 发红	2	2	2	0	2	1	1	0	2	2	2	0	0
B. 水肿	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
C. 脱落	2	1	1	0	2	1	0	0	2	1	0	0	0
(A+B+C) ×2	10	8	6	0	10	4	2	0	10	6	4	0	0
总数	15	8	6	0	15	4	2	0	15	6	4	0	0

¹ 2%眼荧光素钠用于验证角膜不透明。

表 2：眼部疾病的评分标准¹

1. 角膜

A. 透明密度（观察时密度最大的区域）

不透明	0
分散或扩散的区域，虹膜的细节清晰可见	1 ²
易辨别的半透明区域，虹膜的细节略显模糊	2 ²
乳白色的区域，虹膜无可见的细节，瞳孔大小几乎看不出来	3 ²
不透明，虹膜不可见	4 ²

B. 涉及角膜区域

四分之一（或更少），但不是零	1
大于四分之一，但小于一半	2
大于一半，但小于四分之三	3
大于四分之三，达到整个区域	4

A×B×5

最大总数=80

2. 虹膜

A. 反应

正常	0
在正常、充血、肿胀、环角膜充血（任何其中之一或所有或任何一种组合）情况下，虹膜仍然会对光线做出反应（反应迟钝是阳性的）	1 ²
对光线、出血、严重破坏（任何或全部）没有反应	2 ²

A×5

最大总数=10

3. 结膜

A. 发红（指不包括角膜和虹膜的睑球和球结膜）

血管正常	0
血管明显高于正常水平	1
更分散、更深的红色、单个血管不易辨别	2 ²

¹ 本研究中采用 Draize, J.H., Woodward, G. 和 Calvery, H.O. 的对皮肤和黏膜上的物质进行刺激和毒性研究的方法。J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944; 82:377-390.

² 这些分数代表了阳性反应。

分散的鲜红色	3 ¹
B. 水肿	
没有肿胀	0
比正常肿胀（包括瞬膜）	1
部分外翻眼睑明显肿胀	2 ¹
大约半闭肿胀的眼睑.....	3 ¹
约半闭到完全关闭之间肿胀的眼睑	4 ¹
C. 脱落	
无脱落	0
任何不同于正常的量（不包括正常动物内眼角的少量）	1
脱落，眼睑以及与眼睑相邻的睫毛湿润	2
脱落，眼睑、睫毛以及眼睛周围相当大的区域湿润	3
得分	
(A+B+C) × 2	最大总数=20

最大总得分：110 代表角膜、虹膜和结膜获得的所有分数之和。

¹ 这些分数代表了阳性反应。

表 3：眼睛刺激分数的分类

MMTS (最高平均分数)	刺激 分类	维持分类的要求 ¹
0.0 - 0.5	无	在 24 小时内从 0 开始，一小时到达 0.5；否则增加一个级别
0.6 - 2.5	几乎无	在 24 小时内从 0 开始；否则增加一个级别
2.6 - 15.0	最少	在 48 小时内从 0 开始；否则增加一个级别
15.1 - 25.0	中等	在 96 小时内从 0 开始；否则增加一个级别
25.1 - 50.0	普通	在至少 60%总得分没有 > 30 的兔子中，7 天平均值 ≤ 20，独立总得分 ≤ 10；否则增加一个级别
50.1 - 80.0	严重	在至少 60%总得分没有 > 60 的兔子中，7 天平均值 ≤ 40，独立总得分 ≤ 30；否则增加一个级别
80.1 - 100.0	强烈	在至少 60%总得分没有 > 100 的兔子中，7 天平均值 ≤ 80，独立总得分 ≤ 60；否则增加一个级别
100.1 - 110	最大	在至少 60%的兔子中，7 天平均值 > 80，独立总得分 > 60；否则降低一个级别

¹ Kay, J.H. 和 Calandra, J.C. 对眼睛刺激试验的解读。J. Soc. Cos. Chem. 1962; 13:281-289.