

Test Report

Report No.: 20-012-EYI
Customer: Actiwa Swiss (Thailand) Co., Ltd.
Address: 12 On nut 17 Alley, Lane 15, Suan Luang, Suan Luang Bangkok 10250
Date of Receipt: 8 July 2020
Date of Analysis: 18 August 2020 – 27 August 2020
Test Method: *In vitro* eye irritation test (OECD 492)
Number of test item(s): 1

Performed and reported by:
(sign/date)

Paninee C. 2020.09.01

Paninee Chetprayoon, Ph.D.
Researcher

Reviewed by:
(sign/date)

Rawiwan Maniratachote 2020.09.01

Rawiwan Maniratachote, Ph.D.
Principal Researcher

Approved by:
(sign/date)

L. Krasachol

Ladawan Krasachol, Ph.D. *2020-09-01*
Executive Vice President for President
National Science and Technology Development Agency

Remarks :

1. The validity of the test results is strictly limited to the specific samples and the corresponding testing conditions and devices used: no further extrapolation or interpolation of the result is to be inferred.
2. All rights reserved. Copies either in full, or of extract, made in accordance with instruction may not be made without the permission of the Toxicology and Bio Evaluation Service Center.
3. Making reference of Toxicology and Bio Evaluation Service Center or the unit of the public made only in accordance with instruction given by the director of Toxicology and Bio Evaluation Service Center.
4. Toxicology and Bio Evaluation Service Center will not be responsible for any damage directly any reference to our written report or results such as usage of the experimental results for designing products and/or any other purposes.
5. Having any questions about this report, please contact us within 7 working days after the report was received.

รายละเอียดตัวอย่างทดสอบ :

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่างทดสอบ	รหัสตัวอย่าง	ลักษณะตัวอย่างทดสอบ
1	SteriPlant	SteriP	Clear solution

1. หลักการของวิธีที่ใช้ทดสอบ

In vitro eye irritation test

เป็นการทดสอบการระคายเคืองต่อดวงตาด้วยวิธีทดแทนการใช้สัตว์ทดลอง โดยการใช้แบบจำลองเยื่อกระจกตา (reconstructed human corneal epithelium; RhCE) ที่มีลักษณะทางกายภาพและชีวภาพคล้ายคลึงกับเยื่อกระจกตาของมนุษย์ ซึ่งผ่านการยอมรับความใช้ได้โดย European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) การทดสอบดำเนินการตามแนวทางใน OECD Test Guideline (TG) No. 492 โดยประเมินผลของสารทดสอบจากคาร์้อยละการมีชีวิตรอดของเนื้อเยื่อ (tissue viability) ซึ่งการทดสอบดังกล่าวสามารถใช้งานได้ว่าสารนั้นไม่ได้จัดอยู่ในประเภทที่ก่อให้เกิดการระคายเคืองหรือก่อให้เกิดการบาดเจ็บต่อดวงตา (No UN GHS category) อย่างไรก็ตาม วิธีการทดสอบนี้ไม่สามารถใช้จำแนก ระดับความรุนแรง (Category 1 or 2) ของสารที่ให้ผลทดสอบที่เป็นบวกได้ ซึ่งจำเป็นต้องแปลผลควบคู่กับการทดสอบด้วยวิธีอื่นว่าสารนั้นจัดอยู่ใน UN GHS category ไต^[1]

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อทดสอบการระคายเคืองต่อดวงตาตามวิธี OECD TG 492 ของตัวอย่างทดสอบ SteriPlant

3. ข้อมูลสารที่ใช้ในการทดสอบ

Test chemical	Chemical identification	Physical appearance	Purity/concentration	Treatment prior to testing	Storage condition
PBS (Negative control)	Dulbecco's phosphate-buffered saline	Clear liquid	N/A	None	RT
Ethanol (Positive control)	C ₂ H ₅ OH (CAS no. 64-17-5)	Clear liquid	≥ 99.8%	None	RT
SteriP	N/A	Clear liquid	N/A	None	RT

RT, Room temperature

4. กระบวนการทดสอบ

วิธีเตรียมตัวอย่าง

- ไม่มี

วิธีทดสอบ

- ให้ RhCE ได้รับสัมผัสกับตัวอย่างทดสอบปริมาตร 50 µL เป็นเวลา 60 วินาที
- ตัวอย่างกลุ่มควบคุม negative control (NC) ทดสอบกับ PBS ปริมาตร 50 µL
- ตัวอย่างกลุ่มควบคุม positive control (PC) ทดสอบกับ ethanol ปริมาตร 50 µL
- ล้างตัวอย่างออก และบ่ม RhCE ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- วัดค่าการมีชีวิตรอดของ RhCE ด้วยวิธี WST-8 assay

- ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (3 tissues)

เกณฑ์การแปลผล

ในการประเมินผลของการทดสอบการระคายเคืองต่อดวงตาโดยใช้ RhCE นี้ ใช้หลักเกณฑ์ประเมินผลอ้างอิงตาม The United Nations Globally Harmonized System (UN GHS) ของการทดสอบการระคายเคืองต่อดวงตาของสารเคมีที่ทดสอบ โดยใช้สัตว์ทดลอง (*in vivo*) เมื่อค่าเฉลี่ยของ tissue viability มากกว่า 40% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมผลลบ (NC) จะจัดอยู่ในกลุ่ม No category หรือไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตา (non-irritant) ส่วนกรณีที่มีค่าเฉลี่ยของ tissue viability น้อยกว่าหรือเท่ากับ 40% จะจัดอยู่ในกลุ่มที่ให้ผลทดสอบที่เป็นบวก (irritant) แต่ไม่สามารถจำแนกระดับความรุนแรง (Category 1 or 2) ได้ ดังแสดงในตารางต่อไปนี้

<i>In vitro</i> result	Prediction
Mean tissue viability > 40 %	No category (non-irritant)
Mean tissue viability ≤ 40 %	Category 1 or 2 (irritant)

5. ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1: ร้อยละการมีชีวิตรอดของ RhCE ในการทดสอบการระคายเคืองจากตัวอย่างทดสอบ SteriPlant แสดงค่าเฉลี่ย (mean) จากการทดสอบ 3 ซ้ำ

Sample	Tissue viability (%)			Mean	SD	Result interpretation
	Tissue 1	Tissue 2	Tissue 3			
NC	99.57	104.40	96.03	100.00	4.20	N/A
PC	4.20	6.47	3.94	4.87	1.39	Irritant
SteriP	102.52	106.99	109.30	106.27	3.45	Non-irritant

6. สรุปผลการทดสอบ

จากการทดสอบการระคายเคืองดวงตาของตัวอย่างทดสอบ SteriPlant ตามวิธี OECD TG 492 และเกณฑ์การแปลผลของเนื้อเยื่อ RhCE พบว่าตัวอย่าง SteriPlant ให้ผลการทดสอบอยู่ในกลุ่ม No category หรือไม่มีแนวโน้มก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตา (non-irritant)

7. เอกสารอ้างอิง

- [1] OECD (2019), OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage.