

两种皮肤斑贴试验方法的对照研究

王学民 周玉田 林银芬 江以宏 叶曼莉 乐嘉豫

(上海市皮肤病性病防治中心,上海市,200050)

摘要 作者通过对 27 名健康自愿受试者用 20% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液进行不同封闭时间的 Hill Top 皮肤斑贴试验和 FINN 皮肤斑贴试验,并分别在 15min、24h、48h、72h 和 7d 进行观察。结果 4h Hill Top 试验法阳性反应率为 77.78% (21/27),FINN 试验法阳性反应率为 37.04% (10/27);3h Hill Top 试验法为 44.44% (12/27),FINN 试验法为 7.41%。Hill Top 试验法阳性反应率明显高于 FINN 试验法 ($P < 0.05$)。这两种方法在不同封闭时间的阳性反应情况呈直线相关 ($r = 0.997$)。从普通皮肤反应、皮肤结痂反应和综合皮肤反应分别进行观察,普通皮肤反应以 24 和 48h,皮肤结痂反应以 48 和 72h 和综合皮肤反应以 24、48 和 72h 最明显。作者认为 4h Hill Top 试验法是化学物质(包括化妆品)皮肤刺激性安全性评价和刺激性接触性皮炎诊断的首选方法之一。

关键词 斑贴试验 十二烷基硫酸钠 Hill Top 试验法 FINN 试验法

Abstract: 27 health volunteers were tested by different-time HILL TOP method and FINN method with 20% sodium dodecyl sulphate solution. The patches were removed at 15 min, 24h, 48h, 72h and 7 days. The positive rate of 4-hour HILL TOP method was 77.78% (21/27), that of 4-hour FINN method was 37.04% (10/27), that of 3-hour HILL TOP method was 44.44% (12/27), and that of 3-hour FINN method was 7.41% (2/27). The positive rates of HILL TOP method were higher than that of FINN method significantly ($P < 0.05$). The best obvious time of Common Dermal Reaction were at 24h and 48h after the patch removal, that of Scabing Reaction were at 48h and 72h, and that of Summarized Dermal Reaction were at 24h, 48h and 72h. The authors suggested that 4-hour HILL TOP method might be one of the main test method for irritant contact dermatitis diagnosis and cosmetics safety evaluation.

Keywords: patch test, sodium dodecyl sulphate, HILL TOP method, FINN method.

0 引言

在临床上,原发刺激性接触性皮炎是各种化学物质,特别是化妆品引起的接触性皮炎中最为常见的一种类型。人体皮肤封闭型斑贴试验是评价化学物质(包括化妆品)皮肤刺激性方面安全性主要的试验方法和诊断手段^[1-3]。国内外许多学者根据不同的情况设计了许多方法,但评价各异^[4,5]。为了寻找出一种可操作性大,敏感性高,特异性强的方法,我们于 1995 年 2 月至 3 月对二种常用斑贴试验方法进行了对比研究。

1 材料与方法

1.1 试验对象

共有自愿健康受试者 27 名,其中男性 8 名,女性 19 名,年龄 24 至 57 岁,平均 40.74 ± 8.83 岁。所有的受试者均无任何皮肤疾患和其他系统性疾病,受试期间未服用任何药物,受试部位也未涂抹任何外用药物、化妆护肤品等外用制剂。所有受试者均认真阅读信息书,详细了解整个试验过程,并在自愿书上签字。

1.2 材料

试验物为 20% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液 (纯度 $> 99\%$, 由 SIGMA CHEMICAL CO. 生产)。斑贴材料: Finn 斑试小室内含一张滤纸盘,直径 9mm,将其置于 SCANPOR 胶布上(由 EPITESST LTD OY, FINLAND 生产); Hill Top 斑试小室内含有一个 Webril 垫, 25mm (由 Hill Top Research INC. USA 生产),将其置于 MICROPORTM 外科胶布上(由 3M Health Care Co. ENGLAND 生产)。

1.3 方法

将所有受试者随机编号,并决定其受试部位。随后将 0.02ml 的 20% SDS 水溶液分别加入 4 个 Finn 小室, 0.20ml 的 20% SDS 加入 4 个 Hill Top 小室,敷贴于受试者试验侧的上臂外侧,并记录下试验时间。在敷贴试验物后 30min、2h、3h 和 4h 时分别除去一个 Finn 小室和一个 Hill Top 小室,用潮湿的手巾纸擦去残留的试验物,用防水记号笔做好标记。15min、24h、48h、72h 和 7d 时重复观察 5 次,并按普

第一作者简介:

王学民,男,1963 年 8 月生,副主任医师,室主任

分析方法

通皮肤反应、皮肤结痂反应和综合皮肤反应进行评分,最后再行统计学分析。

1.4 评判标准

普通皮肤反应、皮肤结痂反应和综合皮肤反应均用半定量方法,对二种斑贴材料试验结果按相同的标准进行评判。

普通皮肤反应评分标准:

0.0——无明显反应;

0.5——部分斑贴处有很轻微的红斑;

1.0——大部分斑贴或整个斑贴处有轻度红斑,可有部分水肿;

2.0——整个斑贴处中等度红斑,常伴有水肿和(或)表面反应,如脱屑、出血、糜烂等;

3.0——整个斑贴处,甚至超出斑贴处有强烈的红斑、水肿和(或)较深的损害,如水疱、结痂、出血。

皮肤结痂反应评分标准:

0.0——无明显反应;

0.5——斑贴处有很少量点状结痂;

1.0——小于25%的斑贴处有轻度结痂,该反应十分表浅;

2.0——大于25%的斑贴处结痂,该反应较表浅;

3.0——大于等于50%的斑贴处结痂,并有出血征象。

综合皮肤反应评分标准:

0.0——无明显反应;

0.5——部分斑贴处有很轻微的红斑;

1.0——大部分斑贴或整个斑贴处有轻度红斑,还包括部分水肿或结痂等;

2.0——整个斑贴处中等度红斑,并常伴有水肿和(或)其它表面反应,如脱屑,局部损害(出血、糜烂、结痂);

3.0——整个斑贴处,甚至超出斑贴处有强烈的红斑、水肿和(或)较深的损害,如水疱、结痂、出血等。

2 结果

27名受试者完成整个试验过程,封闭4hHill Top斑贴试验法阳性反应率为77.78%(21/27),封闭4hFinn斑贴试验法阳性反应率为37.04%(10/27)。从各个不同的试验材料来看,Hill Top斑贴试验法阳性反应率明显高于Finn斑贴法($P<0.05$)。从不同的试验时间来看,Hill Top斑贴试验法在不同的封闭时间其反应积分呈直线相关($r=0.982$),Finn斑贴试验法在不同封闭时间其反应积分也呈直线相关($r=0.943$),Hill Top斑贴试验法与Finn斑贴试验法两者的反应有明显的直线相关性($r=0.997$)。从各种皮肤反应情况来看,普通皮肤反应以24和48h最为明显,皮肤结痂反应则以48、72h和7d为显著,具体结果见表1和表4。有1名受试者在15min、24h、48h、和72h仅有明显刺痒而无皮肤反应,而在第7天时出现1.0分的皮肤结痂反应。另有1名在24h、48h和72h出现1.0分皮肤结痂反应和1.0分普通皮肤反应,综合评判为1.0分综合皮肤反应,第7天时皮肤结痂反应则加重至2.0分。

表1 二种斑贴方法四个时间27名受试者一般皮肤反应结果

		15min	24h	48h	72h	7d
4h	HT	0.59±0.29*	0.87±0.60#	0.87±0.71*	0.63±0.58**	0.15±0.46
	FN	0.20±0.25	0.48±0.45	0.25±0.32	0.19±0.32	0.02±0.10
3h	HT	0.33±0.27**	0.56±0.48#	0.44±0.46**	0.30±0.40##	—
	FN	0.13±0.23	0.28±0.32	0.13±0.27	0.11±0.26	—
2h	HT	0.11±0.21	0.19±0.3##	0.15±0.27	0.09±0.20	0.02±0.10
	FN	0.06±0.16	0.04±0.14	0.04±0.14	0.02±0.10	—
30min	HT	—	0.02±0.10	—	—	—
	FN	—	0.02±0.10	—	—	—

表2 27名受试者二种材料四种时间皮肤结痂反应试验结果

		15min	24h	48h	72h	7d
4h	HT	0.07±0.27	0.78±0.54*	1.00±0.94*	0.98±0.99*	0.87±0.88*
	FN	—	0.11±0.21	0.15±0.42	0.19±0.45	0.11±0.26
3h	HT	0.02±0.10	0.28±0.49**	0.41±0.58**	0.43±0.64#	0.31±0.42**
	FN	—	—	0.04±0.14	0.09±0.20	0.07±0.18
2h	HT	0.02±0.10	0.07±0.23	0.09±0.20#	0.09±0.25	0.06±0.22
	FN	—	—	—	0.02±0.10	—
30min	HT	0.02±0.10	—	—	—	—
	FN	—	—	—	—	—

表3 27名受试者综合皮肤反应阳性结果情况

	15min	2h	3h	4h
HT	0.04±0.13	0.24±0.29 ^{##}	0.70±0.42 [*]	1.19±0.64 [*]
FN	0.02±0.10	0.06±0.16	0.30±0.32	0.54±0.41

3 讨论

有许多学者正致力于用何种方法评价化学物质,包括化妆品对人体皮肤的刺激性和如何诊断原发性刺激性接触性皮炎及寻找病因的研究工作。化学物质对人体皮肤刺激性的安全性评价工作主要是通过动物试验来完成,但动物皮肤和人体皮肤的性状不尽相同。另外,西方国家为了保护动物权益,将于1998年在化妆品安全性评价工作中逐步停用动物试验^[5],在我国皮肤刺激性的评价工作主要是通过动物试验来

完成^[7],在这种情况下寻找其他的实验就显得更为迫切,人体试验就是一种既实际又客观的方法。传统的皮肤斑贴试验是用Finn斑贴试验法,即用Finn小室封闭24或48h来完成。但这种方法试验时间长,操作繁琐,但4hFinn斑贴试验法的阳性率又仅为37.04%。而Hill Top斑贴试验法由于其小室内容积大,所含试验物相对较多,同皮肤所接触的面积大。4hHill Top斑贴试验法,其阳性率达77.78%。明显地高于4hFinn试验法($P<0.05$),所以大大提高了其敏感性。由于减少了试验时间使受试者比较愿意接受,同时,也减少了斑试材料对皮肤的刺激及其对试验结果的影响,假阳性反应明显减少,使特异性也明显增高。

表4 27名受试者二种材料四种时间综合皮肤反应试验结果

	0.0		0.5		1.0		2.0		3.0		阳性数	
	HT	FN	HT	FN	HT	FN	HT	FN	HT	FN	HT(%)	FN(%)
4h	0	8	6	9	14	10	6	-	1	-	21(77.78)	10(37.04) ^{##}
3h	3	13	12	12	11	2	1	-	-	-	12(44.44)	2(7.41) ^{**}
2h	15	24	11	3	1	-	-	-	-	-	1(3.70)	-
15min	25	26	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-

表1~4注:*,HT同FN相比较 $P<0.001$;**,HT同FN相比较 $P<0.005$;#,HT同FN相比较 $P<0.01$;##,HT同FN相比较 $P<0.05$;

Hill Top斑贴试验法所产生的反应一般主要存在于24和48h,其次是72h;而其所产生的皮肤结痂反应主要是在48和72h,并能维持较长的时间;综合皮肤反应的评判时间主要是在24和48h,而72h和15min时反应程度明显降低。有一个值得注意的现象,少数受试者在第15min和第24h时并无皮肤反应或反应较轻,但在第48h、第72h甚至第7天时却出现了皮肤结痂反应或反应加重。这就提醒人们在某些试验的观察时,如初期无普通皮肤反应者应注意以后几天的观察,特别是有异常自觉症状者,以防出现假阴性。在过去传统的皮肤斑贴试验,对某些皮肤反应并未引起足够的重视,如皮肤结痂、干燥、脱屑、皱褶、小裂隙等,其实,这些反应可能正预示着有潜在皮肤刺激的存在,在试验过程中对某些有严重的自觉症状,但又无客观皮肤反应者则不应忽视。另外,Hill Top试验法在诊断原发性刺激性接触性皮炎时,也因其具有试验时间短,敏感性、特异性和安全性高而临床上值得推广使用。

总之,4h Hill Top斑贴试验法在化妆品安全性评价方面和原发性刺激性接触性皮炎的诊断上有一定的实用价值。

参 考 文 献

- [1] W. G. Larsen, E. M. Jackson, M. O. Barker, et al., Journal of the American Academy Dermatology, 1992, 27(3), 469~484.
- [2] F. N. Marzulli, H. I. Maibach, Dermatotoxicology, Washington, DC, Hemisphere Publishing, 1992, 209~218.
- [3] G. A. Nixon, E. A. Bannan, T. w. Gaynor, et al., Regulatory Toxicology & Pharmacology, 1990, 12, 127~136.
- [4] D. A. Basketter, E. Whittle, H. A. Griffiths, FD, Chem. Toxic, 1994, 32, 769~775, et al.
- [5] G. A. Nixon, C. A. Tyson, W. C. Weriz, Toxicology & Applied Pharmacology, 1975, 31, 481~490.
- [6] M. Hatso, Environ Dermstol, 1995, 2(Suppl 1), 75~76.
- [7] 中华人民共和国卫生部, GB7919-87 化妆品安全性评价程序和方法, 1987, 1~2.

收稿日期: 1996-10-09

更 正

本刊1997年第59页“应用油茶籽皂素配制毛料洗涤剂的试验研究”一文,作者应为:方幼兰(福建师范大学高分子研究所,福州市,350007)张永祥 朱霞 冯秀镁(福建师范大学化学系,福州市,350007)特此更正,并向作者致歉。

本刊编辑部

• 47 •