Review Article

การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง

วันทณี ช่วยหาญ[1], กนกวรรณ จารุกำจร[2*]

บทคัดย่อ

การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง

วันทณี ช่วยหาญ[1], กนกวรรณ จารุกำจร[2*]

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2556; 9(2) : 1-11

Received : 4 October 2012 **Accepted :** 22 April 2013

ความเป็นพิษต่อผิวหนังเกิดขึ้นจากหลายสาเหตุไม่ว่าจะเป็นมลพิษทางอากาศ สารเคมีที่มีความเป็นกรดด่างสูง รังสี แสงแดด หรือแม้กระทั่งเครื่องสำอางก็สามารถทำอันตรายต่อผิวหนังได้เช่นกัน ปริมาณของสารที่ได้รับนับเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผิวหนัง จึงมีการทดสอบสารต่าง ๆ เพื่อประเมินความปลอดภัยก่อนการนำมาใช้กับมนุษย์ โดยการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง มีหลายระดับแตกต่างกันตามระดับความรุนแรงหรือผลกระทบที่ได้รับจากสารทดสอบ โดยสามารถจำแนกประเภทของความเป็นพิษต่อผิวหนังจากน้อยไปมากได้ดังนี้ การระคายเคืองต่อผิวหนัง อาการแพ้ต่อผิวหนัง การกัดกร่อนต่อผิวหนัง ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนัง และความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง ในที่นี้ได้กล่าวถึงแนวทางในการปฏิบัติและข้อควรระวังในการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง ตลอดจนเกณฑ์ในการจำแนกประเภทของสารต่างๆ ตามระดับของความเป็นพิษ

คำสำคัญ: ผิวหนัง, ความเป็นพิษต่อผิวหนัง, การทดสอบในสัตว์ทดลอง, การระคายเคือง, การแพ้, การกัดกร่อน

---

[1] วิทยาศาสตรบัณฑิต นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[2] Ph. D. (Pharmaceutical Sciences) รองศาสตราจารย์ สำนักงานวิชาการ สาขาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* **ติดต่อผู้นิพนธ์:** โทร (66 43)202305 โทรสาร (66 43)202379 E-mail: kanok_ja@kku.ac.th

---

Abstract

Dermal Toxicity Test in Experimental Animals

Chuayhan W[1], Jarukamjorn K[2*]

IJPS, 2013; 9(2) : 1-11

Dermal toxicity causes by several reasons such as air pollution, exposures to extremely high or low-pH chemicals, x- or gamma-rays, sunlight, and cosmetics. Duration and amount of exposure to any substances are additional reasons of dermal toxicity. Therefore, the testing of dermal toxicity is required as a risk-benefit assessment of a topical product for human safety. Dermal toxicity testing can be classified according to different impacts of the test substance by ascending severities as follows: irritation, sensitization, corrosion, acute dermal toxicity, subchronic dermal toxicity, and chronic dermal toxicity, respectively. Herewith the guidelines and precautions for testing and evaluation of each levels of the dermal toxicity in experimental animals have been reviewed.

Keywords: skin, dermal toxicity, testing in experimental animals, irritation, sensitization, corrosion

* **Corresponding author:** Assoc. Prof. Dr.Kanokwan Jarukamjorn, Academic Office for Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, National Research University-Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand Tel: +66-43-202305; Fax: +66-43-202379 E-mail: kanok_ja@kku.ac.th

บทนำ

ปัจจุบันสภาพแวดล้อมเกิดการเปลี่ยนแปลง มีมลพิษต่างๆเกิดขึ้นมากมาย ส่งผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้การอุปโภคบริโภคผลิตภัณฑ์ต่างๆ ยังสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ได้เช่นเดียวกัน ผิวหนังจึงเป็นทางแรกที่สารต่างๆ รวมทั้งสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษสามารถผ่านเข้าไปสู่ร่างกายได้ ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ควรได้รับการดูแลเอาใจใส่ เพราะเป็นอวัยวะที่มองเห็นได้ชัด และสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรง ผลกระทบจากสารพิษทำให้ผิวหนังได้รับอันตราย ความสัมพันธ์ของโครงสร้างและหน้าที่ของผิวหนังเป็นสิ่งสำคัญต่อชีววิทยาสมัยใหม่ และเป็นพื้นฐานความรู้ในปัจจุบัน นอกจากนี้ผิวหนังยังเป็นอวัยวะที่มีความเฉพาะต่อการตรวจสอบความเป็นพิษ และการศึกษากลไกที่หลากหลายทางชีวภาพสิ่งแวดล้อมทำให้ผิวหนังเกิดปฏิกิริยามากมายทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ (Suskind, 1990; 1997) พิษวิทยาทางผิวหนังเป็นการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบจากสารพิษที่ซึมผ่านผิวหนังซึ่งเป็นอุปสรรคของสภาพแวดล้อมภายนอกและภายในร่างกาย (Monteiro-Riviere, 1997; 2008) ความเป็นพิษต่อผิวหนังมีหลายระดับ เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ไม่ว่าจะเป็นมลพิษทางอากาศ สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรดเบสสูง รังสี แสงแดด หรือแม้กระทั่งเครื่องสำอางก็สามารถทำอันตรายต่อผิวหนังได้เช่นกัน ปริมาณของสารที่ได้รับนับเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผิวหนัง จึงมีการทดสอบความเป็นพิษในระดับต่างๆ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกประเภทของสาร รวมไปถึงแนวทางในการปฏิบัติและข้อควรระวังในการใช้สารต่างๆ

ผิวหนังและองค์ประกอบของผิวหนัง

ผิวหนังของมนุษย์โดยทั่วไปเป็นสแตรทิฟายด์อีพิเทลเลียม (Stratified epithelium) มีความหนาประมาณ 1.5 - 4.0 มิลลิเมตร ประกอบเป็นพื้นที่โดยรวมประมาณ 1.8 ตารางเมตร คิดโดยน้ำหนักผิวหนังประมาณร้อยละ 16 ของน้ำหนักตัว (Gawkrodger, 2002) ผิวหนังประกอบด้วย 3 ชั้น คือ ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ชั้นหนังแท้ (dermis) และชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous tissue)

หนังกำพร้า (Monteiro-Riviere, 2008) โดยทั่วไปมีความหนาประมาณ 0.1 มิลลิเมตร ยกเว้นในบางบริเวณ เช่น ฝ่ามือ ฝ่าเท้า ร้อยละ 95 ของเซลล์ในชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์ เคอราติน (keratinocyte) ซึ่งจะแบ่งตัวเริ่มจากชั้นล่างสู่ผิวด้านนอก นอกจากนั้นยังมีเซลล์สร้างเม็ดสี เซลล์เมอร์เคล (merkel cell) และเซลล์แลงเกอร์ฮานส์ (langerhans cell) แทรกปะปนอยู่ หนังกำพร้าแบ่งย่อยออกเป็นชั้นต่าง ๆ ดังนี้ ชั้นขี้ไคล หรือ สตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) เป็นชั้นนอกสุดของหนังกำพร้าประกอบด้วยเซลล์คอนีโอไซต์ (corneocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ คอราตินที่ตายแล้ว แต่ยังอัดตัวกันแน่น ซ้อนเป็นชั้นๆ ภายในเซลล์ประกอบด้วยเส้นใยเคอราตินและสารช่วยยึด ได้แก่ ฟิแลกกริน (filaggrin) ชั้นต่อมาเป็นสตราตัม ลูซิดัม (stratum lucidum) ชั้นนี้มีเฉพาะผิวหนังบริเวณฝ่ามือ ฝ่าเท้า อยู่ระหว่างชั้นขี้ไคลและแกรนูลา (granular) ส่วนแกรนูลา เลเยอร์ (granular layer) หรือ สตราตัม แกรนูโลซัม (stratum granulosum) เป็นชั้นของเซลล์เคอราตินที่มีชีวิต รูปร่างแบนยาว ภายในเซลล์มีแกรนูล (granule) เรียกว่า เคอราโทไฮยาลิน (keratohyaline) เป็นโปรตีนที่ช่วยสร้างความแข็งแรง หรือ เรียกว่าโปรตีนอะมอฟัส (amorphous protein) ชั้นสไปนัส (spinous layer) หรือ สตราตัมสไปโนซัม (stratum spinosum) ประกอบด้วยเซลล์เคอราตินรูปร่างหลายเหลี่ยม ยึดกันด้วยอินเตอร์เซลลูลาร์ บริดจ์ (intercellular bridge) จุดเชื่อมดังกล่าวเรียกว่า เดสโมโซม (desmosome) ประกอบด้วยเส้นใยเล็กๆ (tonofilament) ให้ความแข็งแรงระหว่างเซลล์เคอราติน ภายในไซโตพลาสของเคอราติน มีลาเมลลา บอดี้ (lamella bodies) ซึ่งเป็นถุงเก็บไขมันสำหรับเคลือบผิว และจะขับไขมันนี้ออกสู่ช่องว่างระหว่างเซลล์ สารนี้มีความสำคัญในด้านการปกป้องผิว

(barrier function) และช่วยยึดเซลล์ (cell adhesion) ในชั้นนี้มีเซลล์แลงเกอร์ฮานส์แทรกอยู่ ทำหน้าที่รับรู้ คอยดักจับสิ่งแปลกปลอมหรือสารก่อภูมิแพ้ และย่อยสิ่งแปลกปลอมจากนั้นจะเคลื่อนตัวไปสู่ต่อมน้ำเหลือง และนำข้อมูลของสารหรือสิ่งแปลกปลอมให้ลิมโฟไซท์ชนิดที (T lymphocyte) ต่อไป เบซัล เลเยอร์ (basal layer) หรือ สตราตัม เบซัล (stratum basale) เป็นเซลล์ชั้นล่างสุดเรียงกันเป็นแถวรูปร่างเป็นลูกบาศก์ เซลล์มีนิวเคลียสใหญ่ สีเข้ม ไซโตพลาสประกอบด้วยเส้นโทโนฟิลาเมนต์ (tonofilament) และไรโบโซม (ribosome) เซลล์เรียงตัวชั้นเดียวอยู่บนเบสเมนท์เมมแบรน (basement membrane) เซลล์ส่วนใหญ่มีหน้าที่แบ่งตัวให้เซลล์ใหม่และถูกดันขึ้นทดแทนเซลล์ด้านบน ในชั้นนี้มีเซลล์สร้างเม็ดสีเมลานิน เรียกว่า เมลาโนไซด์ (melanocyte)

หนังแท้ (Monteiro-Riviere, 2008) ผิวหนังชั้นนี้ประกอบด้วยเส้นใยชนิดต่าง ๆ และสารกราวด์ซับสแตนซ์ (ground substance) ซึ่งประกอบด้วย สารโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) และโปรตีน โดยโปรตีนดังกล่าว ได้แก่ เส้นใยคอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin) ซึ่งสร้างจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) เป็นโครงสร้างที่ให้ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นแก่ผิวหนัง นอกจากนั้นยังเป็นที่ฝังตัวของหลอดเลือดซึ่งนำสารอาหารและออกซิเจนมาเลี้ยงผิวหนัง เส้นประสาทรับความรู้สึกสัมผัสร้อนเย็น เจ็บปวด และยังเป็นที่ฝังตัวของเส้นผม ขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ เซลล์ที่เป็นองค์ประกอบชั้นนี้ ได้แก่ ไฟโบรบลาสต์ เซลล์มาสท์ (mast cell) และฮิสไทโอไซต์ (histiocytes)

ต่อมไขมัน (Sebaceous gland) มีหน้าที่สร้างสารไขมันเพื่อเคลือบผิวหนัง ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนเพศ โดยส่งผ่านออกมาทางเดียวกับรูขุมขน ต่อมไขมันกระจายตัวมากบริเวณผิวหนังที่เรียกว่า ซีบาเซียสแอเรีย (sebaceous area) เช่น หน้า หน้าอก หลัง หนังศีรษะ (Ro and Dawson, 2005)

ผิวหนัง นอกจากทำหน้าที่กั้นกลางระหว่างสิ่งแวดล้อมภายในและภายนอกแล้ว ยังมีบทบาทเป็นตัวกลางในการสื่อระหว่างสิ่งแวดล้อมภายในและภายนอกอีกด้วย (Monteiro-Riviere, 2008) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่อื่นๆ อีกหลายอย่าง เช่น ป้องกันอวัยวะภายในจากสิ่งแวดล้อม (Gawkrodger, 2002) ป้องกันการแพร่ของน้ำออกจากร่างกาย (Elias, 1983) ขับของเสียออกจากร่างกายในรูปของเหงื่อ มีส่วนช่วยในการควบคุมอุณหภูมิของร่างกายโดยการหดตัวและขยายตัวของหลอดเลือด ขนในมนุษย์และในสัตว์ยังเป็นฉนวนกันความร้อนให้แก่ร่างกาย (Elias, 1991) นอกจากนี้ผิวหนังยังสามารถทำหน้าที่เป็นต่อมไร้ท่อซึ่งมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์วิตามินเอ และเป็นเป้าหมายสำหรับแอนโดรเจน ควบคุมการผลิตความมันและเป้าหมายของอินซูลิน และควบคุมการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและไขมัน (Gawkrodger, 1997)

ระดับความเป็นพิษต่อผิวหนัง

ความเป็นพิษต่อผิวหนังมีหลายระดับ ซึ่งแตกต่างกันในระดับความรุนแรงหรือผลกระทบที่เกิดจากสารทดสอบ สามารถจำแนกตามระดับความรุนแรงจากน้อยไปมากได้ดังนี้ การระคายเคืองต่อผิวหนัง อาการแพ้ต่อผิวหนัง การกัดกร่อนต่อผิวหนัง ความเป็นพิษเฉียบพลันทางผิวหนัง ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนังและความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง

การระคายเคืองต่อผิวหนัง (Irritation dermal toxicity)

การระคายเคืองต่อผิวหนัง เป็นการแสดงการเกิดอันตรายต่อผิวหนังชนิดที่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้หลังจากได้มีการทดสอบกับสารทดสอบเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ความสามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ของรอยโรคที่ผิวหนังเป็นข้อพิจารณาอีกข้อหนึ่งในการประเมินผลของสารระคายเคือง ดังนั้นสารที่ใช้ทดสอบจะถูกจัดให้เป็นสารระคายเคือง การตอบสนองต่อการระคายเคืองของสัตว์ทดลองมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องให้ความสำคัญต่อเกณฑ์ของการระคายเคือง ซึ่งต้องมีการตอบสนองที่เห็นอย่างเด่นชัด มากกว่าจำนวนหลักฐานที่พบผลบวก เช่น สารทดสอบสามารถจัดให้อยู่ในกลุ่มของสารระคายเคืองได้ แม้พบผลบวกจากสัตว์ทดลองเพียง 1 ตัว จาก 3 ตัวตลอดการทดลอง พร้อมกับพบรอยโรคตลอดระยะเวลาการสังเกต และยังพบการตอบสนองอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์ที่กำหนด กลุ่มของสารระคายเคือง บางหน่วยงานอาจทำการจำแนกเพิ่มเป็นประเภทระคายเคืองอ่อนๆ เช่น สารปราบศัตรูพืช สารระคายเคืองอาจแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ตามความรุนแรงของปฏิกิริยาทางผิวหนังที่แตกต่างกัน ได้แก่ กลุ่มระคายเคืองอย่างอ่อน และกลุ่มระคายเคือง (OECD, 1992; 2002)

อาการแพ้ต่อผิวหนัง (Sensitization dermal toxicity)

อาการแพ้ต่อผิวหนัง เป็นการแสดงอาการทางผิวหนังเมื่อสัมผัสกับสาร เครื่องประดับที่เป็นโลหะหรือแม้แต่สารเคมีที่อยู่ในเครื่องสำอาง ในถุงมือยางและผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภค สิ่งต่างๆ เหล่านี้ก่อให้เกิดอาการแพ้ในเฉพาะบางคน ตัวการที่ทำให้เกิดอาการแพ้ เรียกกว่า สารก่อภูมิแพ้ (allergens) หรือ สิ่งกระตุ้น ซึ่งอาจเข้าสู่ร่างกายทางระบบหายใจ การรับประทาน การสัมผัสทางผิวหนัง ทางตา ทางหู ทางจมูก หรือโดยการฉีดหรือถูกแมลงสัตว์กัดต่อยผ่านผิวหนัง ตัวการที่ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้มีอยู่รอบตัว สามารถกระตุ้นอวัยวะต่างๆ จนก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ อาการแสดงที่เกิดทางผิวหนัง เช่น อาการคันตามบริเวณที่สัมผัสหรืออาจลามไปตามผิวหนังบริเวณอื่นได้เช่นกัน การอักเสบที่ผิวหนัง การเกิดผื่น เป็นต้น (UNECE, 2009)

การกัดกร่อนต่อผิวหนัง (Corrosion dermal toxicity)

การกัดกร่อนต่อผิวหนัง เป็นการแสดงการเกิดอันตรายต่อผิวหนังชนิดที่ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ กล่าวคือเป็นการเกิดอันตรายต่อผิวหนังที่มีการตายของเซลล์ผิวหนังชั้นนอกจนถึงเซลล์ผิวหนังชั้นใน หรือมีการตายของเซลล์จากชั้นอิพิเดอร์มิสจนถึงชั้นเดอร์มิส หลังจากมีการทดสอบกับสารทดสอบเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ปฏิกิริยาการกัดกร่อนมักจะปรากฏอาการของการเกิดแผล เลือดออก สะเก็ด แผล มีเลือดออก หลังจากเฝ้าสังเกตอาการ 14 วัน จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของผิวจากการกัดสีผิว บริเวณเกิดอาการไม่มีขนขึ้นและเกิดแผลเป็น (OECD, 1992; 2002)

ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง (Acute dermal toxicity)

ความเป็นพิษเฉียบพลัน เป็นการแสดงผลกระทบร้ายแรงที่เกิดขึ้นในระยะเวลาอันสั้น ภายหลังจากการได้รับสารเคมีทางผิวหนังเพียงครั้งเดียวภายในเวลา 24 ชั่วโมง ผิวหนังจะแสดงการเกิดผื่นแดง บวมน้ำ เกิดจุดสีดำคล้ายรอยไฟไหม้ และมีน้ำเหลือง อาการเหล่านี้อาจมีการขยายพื้นที่ออกจากบริเวณที่ทดสอบ นอกจากการสังเกตอาการทางผิวหนังแล้ว การผ่าเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในและการชั่งน้ำหนักของตับ ไต กระเพาะอาหารและสมองยังมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มปกติ (OECD, 1987)

ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนัง (Subchronic dermal toxicity)

ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง เป็นการแสดงถึงผลกระทบที่เกิดจากการได้รับหรือการสัมผัสสารที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผิวหนังเป็นประจำ หลังจากมีการทดสอบกับสารทดสอบเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง การแสดงผลกระทบอันได้แก่ การเกิดผื่นแดง การบวมและหนาตัวของผิวหนังเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ น้ำหนักตัวลดลง ปริมาณของอาหารและน้ำที่กิน รวมถึงเลือดที่ต้องนำมาวิเคราะห์ (OECD, 1981)

ความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง (Chronic dermal toxicity)

ความเป็นพิษเรื้อรัง เป็นการแสดงถึงผลกระทบจากการสัมผัสสารที่เป็นอันตรายต่อผิวหนัง อาการที่แสดงถึงการเกิดอันตรายต่อผิวหนังเริ่มจากการระคายเคืองผิวหนัง โดยจะเกิดผื่นแดงและผิวหนังบวมตัว และเมื่อได้รับการสัมผัสเป็นประจำ ผิวหนังจะหนาขึ้น มีสีคล้ำคล้ายรอยไฟไหม้ และหลุดลอกออกเป็นชั้นๆ (OECD, 2009)

การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนัง

การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังมีหลายประเภทตามระดับความรุนแรงที่เกิดขึ้นทางผิวหนัง การทดสอบความเป็นพิษแต่ละระดับมีความแตกต่างกันในหลายส่วน ได้แก่ ชนิดของสัตว์ทดลอง จำนวนของสัตว์ทดลอง รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบและการสังเกตอาการ ดังนั้นจึงอาจแบ่งการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังออกตามความรุนแรงจากน้อยไปมาก ดังนี้

การระคายเคืองและการกัดกร่อนต่อผิวหนัง (Irritation and corrosion dermal toxicity)

ขั้นตอนแรกของการทดสอบ ทำการทดสอบสารในสัตว์ทดลอง 1 ตัว เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารและความสอดคล้องของวิธีการทดสอบ และเพื่อเป็นการลดจำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบ หากการทดสอบในครั้งแรกให้ผลการตอบสนองในเชิงลบ ต้องทำการทดสอบอีกครั้งหนึ่งเพื่อยืนยันผลการทดสอบ โดยใช้สัตว์ทดลองเพิ่มเป็น 2 ตัว และเพิ่มระยะเวลาการสัมผัสสารเป็น 3 นาที 1 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการทุกวันติดต่อกันเป็นเวลานาน 14 วัน เมื่อสังเกตพบการระคายเคืองหรือการกัดกร่อนที่ผิวหนังของสัตว์ทดลองในครั้งแรกของการทดสอบหรือก่อนถึงเวลาที่กำหนดไว้ ต้องยุติการทดสอบสาร

จากนั้นวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อสารที่ใช้ทดสอบโดยตรวจสอบการเกิดผื่นแดงและการบวมที่ผิวหนังของสัตว์ทดลองหลังการสัมผัสสารเป็นเวลา 60 นาที 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นอกจากการสังเกตอาการทางผิวหนังแล้วควรบันทึกน้ำหนักของสัตว์ทดลองเพื่อประเมินความสอดคล้องในการทดสอบ สารที่ใช้ทดสอบที่มีค่า pH น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 และมากกว่าหรือเท่ากับ 11.5 ที่ทำให้เกิดผลกระทบร้ายแรงต่อผิวหนังและทำให้สัตว์ทดลองเกิดความทรมานหรืออาจทำให้สัตว์ทดลองตายได้ จัดเป็นสารกัดกร่อนผิวหนัง

การทดสอบการระคายเคืองและการกัดกร่อนต่อผิวหนัง (ตารางที่ 1) สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบคือ กระต่ายขาว สายพันธุ์ NZW rabbit (New Zealand White Rabbit) เพศผู้ โตเต็มวัย (adult) มีสุขภาพแข็งแรง และจะต้องเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องทดลองอย่างน้อย 5 วัน สารที่ใช้ทดสอบปริมาณ 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวหรือมากกว่า เมื่อทดสอบสารแล้วไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ ต่อผิวหนัง ไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบต่อไป แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาในสัตว์ทดลองชนิดอื่นอาจให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน และขึ้นอยู่กับความไวในการตอบสนองต่อสารทดสอบของสัตว์แต่ละชนิด การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง ก่อนการทดสอบ 24 ชั่วโมงต้องตัดหรือโกนขนบริเวณด้านหลังลำตัวของสัตว์ทดลอง ใช้พื้นที่ของผิวหนังที่ทำการทดสอบประมาณ 6 ตารางเซนติเมตร โดยระวังไม่ให้ถูกผิวหนัง ทำความสะอาดบริเวณที่เตรียมไว้ ปิดทับสารทดสอบด้วยผ้าก๊อซเพื่อให้สารทดสอบสัมผัสกับผิวหนังได้อย่างเต็มที่ ผ้าก๊อซไม่ควรยึดติดแน่นเกินไป และมีการป้องกันสัตว์ทดลองจากการกินและสูดดมสารทดสอบ หากสารทดสอบอยู่ในรูปของเหลวสามารถทดสอบโดยตรง หากสารทดสอบอยู่ในรูปของแข็งจะต้องแปรสภาพเพื่อให้สามารถทดสอบกับผิวหนังได้ โดยการบดสารและทำให้เกิดความชื้นหรือผสมน้ำในปริมาณที่น้อยที่สุดเพื่อให้สารทดสอบสัมผัสกับผิวได้ดี 4 ชั่วโมงหลังการทาสารทดสอบ ทำการเช็ดสารทดสอบออกจากผิวหนังบริเวณทดสอบ และล้างทำความสะอาดผิวหนังด้วยน้ำหรือสารละลายอื่นที่เหมาะสม (OECD, 1981; 1992; 2002; Isbrucker, *et al.,* 2006) ก่อนทำการประเมินผลตามเกณฑ์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 การเตรียมการสำหรับการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจาก OECD, 1981; 1992, 2002; 2009)

	ระดับความเป็นพิษต่อผิวหนัง					
สัตว์ทดลอง	ระคายเคือง	อาการแพ้	กัดกร่อน	เฉียบพลัน	กึ่งเรื้อรัง	เรื้อรัง
หนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley Rat (200-300 ก.) อายุ 8-10 สัปดาห์				✓	✓	✓
กระต่ายขาวสายพันธุ์ NZW rabbit (2000-3000 ก.) อายุ 7-8 เดือน	✓		✓	✓	✓	
หนูตะเภาสายพันธุ์ Dunkin Hartley (350-450 ก.) เพศผู้อายุ 10-12 สัปดาห์ เพศเมียอายุ 8-10 สัปดาห์		✓		✓	✓	
หนูเมาส์สายพันธุ์ ICR (20-40 ก.) อายุ 6-8 สัปดาห์						✓
เพศ	ผู้	เพศใดเพศหนึ่ง	ผู้	ทั้งสองเพศ		เพศใดเพศหนึ่ง
จำนวนตัวต่อกลุ่ม (ตัว)	3	5	3	16	16	20
เพศผู้				8	8	
เพศเมีย				8	8	
ช่วงเวลาการสังเกตอาการ (วัน)	14	30	14	14	90	12 เดือน
ปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบ	ของเหลว 0.5 มล. ของแข็ง 0.5 ก.	ของเหลว 0.5 มล. ของแข็ง 0.5 ก.	ของเหลว 0.5 มล. ของแข็ง 0.5 ก.	2000 มก. /กก. น้ำหนักตัว	1000 มก. /กก. น้ำหนักตัว/วัน	1000 มก. /กก. น้ำหนักตัว/วัน
พื้นที่ผิวหนังที่ใช้ทดสอบ (ตารางเซนติเมตร)	6	8	6	44, 180 และ 50 ตามลำดับ		44 และ 9 ตามลำดับ
สภาพแวดล้อมการเลี้ยงสัตว์ทดลอง						
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	22 ± 3 องศาเซลเซียส					
ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	30-70%					
แสงสว่าง : ความมืด (ชั่วโมง)	12 : 12 ชั่วโมง					

ตารางที่ 2 เกณฑ์การให้คะแนนการระคายเคืองต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจาก OECD, 2002; Isbrucker *et al.,* 2006)

การเกิดผื่นแดง/สะเก็ดหรือการบวมตัวของผิวหนัง	คะแนน
ไม่เกิดผื่นแดง/สะเก็ดหรือการบวมที่ผิวหนังบริเวณที่ทดสอบ	0
เกิดผื่นแดงหรือการบวมของผิวหนังน้อยมาก	1
เกิดผื่นแดงหรือการบวม ¼ ของพื้นที่ทดสอบ	2
เกิดผื่นแดงหรือการบวม ½ ของพื้นที่ทดสอบ (รอยบวมยกนูนประมาณ 1 มม.)	3
เกิดผื่นแดงมีสะเก็ดและเกิดการบวมไปทั่วพื้นที่ทดสอบ (รอยบวมยกนูนมากกว่า 1 มม.)	4

เกณฑ์การจำแนกประเภทของการระคายเคืองต่อผิวหนัง

การแบ่งกลุ่มสารระคายเคืองอาจแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ตามความรุนแรงของปฏิกิริยาทางผิวหนังที่แตกต่างกัน ได้แก่ กลุ่มระคายเคืองอย่างอ่อน ต้องมีค่าเฉลี่ยมีค่าตั้งแต่ 1.5 ถึง 2.3 จากอย่างน้อย 2 ตัวจากสัตว์ทดลอง 3 ตัว สำหรับกลุ่มระคายเคืองต้องมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 2.3 ถึง 4.0 จากอย่างน้อย 2 ตัวจากสัตว์ทดลอง 3 ตัว (OECD, 1992; 2002)

เกณฑ์การจัดจำแนกประเภทของการกัดกร่อนต่อผิวหนัง

การจัดกลุ่มสารกัดกร่อนอาจแบ่งตามระยะเวลาที่ผิวหนังสามารถรับสัมผัสสารทดสอบได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่ม 1A แสดงผลการตอบสนองเมื่อรับสัมผัส 3 นาทีและคงอยู่ภายในระยะเวลาสังเกตจนถึง 1 ชั่วโมง กลุ่ม 1B แสดงผลการตอบสนองเมื่อรับสัมผัส อยู่ระหว่าง 3 นาทีถึง 1 ชั่วโมง และคงอยู่ภายในระยะเวลาสังเกตจนถึง 14 วัน และกลุ่ม 1C แสดงผลการตอบสนองเมื่อรับสัมผัสระหว่าง 1 ชั่วโมง ถึง 4 ชั่วโมง และคงอยู่ภายในระยะเวลาสังเกตจนถึง 14 วัน

สูตรการคำนวณ

$$\frac{\text{ผลรวมของการเกิดผื่นแดง/สะเก็ดหรือการเกิดอาการบวมของผิวหนัง}}{\text{ผลคูณของจำนวนตัวสัตว์ทดลองและจำนวนครั้งการสังเกตอาการ}}$$

อาการแพ้ต่อผิวหนัง (Sensitization dermal toxicity)

การทดสอบอาการแพ้ต่อผิวหนัง สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบคือ หนูตะเภาสายพันธุ์ Dunkin Hartley เพศผู้หรือเพศเมีย (โดยในการทดสอบควรเป็นเพศเดียวกัน) โตเต็มวัย (ตารางที่ 1) มีสุขภาพแข็งแรง และจะต้องเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องทดลองอย่างน้อย 5 วัน การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับการทดสอบอาการแพ้ต่อผิวหนัง ก่อนการทดสอบ 24 ชั่วโมงต้องตัดหรือโกนขนบริเวณข้างลำตัวของสัตว์ทดลองทั้งสองข้าง ให้มีพื้นที่ข้างละประมาณ 8 ตารางเซนติเมตร โดยระวังไม่ให้ถูกผิวหนัง ทำความสะอาดบริเวณที่เตรียมไว้ การทดสอบอาการแพ้ทางผิวหนังมี 2 ขั้นตอน คือ การชักนำ และการกระตุ้นซ้ำ ซึ่งมีแนวทางในการทดสอบดังนี้

การชักนำ

วันที่ 0 กลุ่มทดลอง

ทาสารทดสอบที่ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมที่บริเวณข้างลำตัวด้านขวาปิดด้วยผ้าก๊อซเพื่อให้สารทดสอบสัมผัสกับผิวหนังอย่างเต็มที่ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นเช็ดสารทดสอบออกจากผิวหนังบริเวณที่ทดสอบและล้างทำความสะอาดผิวหนังด้วยน้ำหรือสารละลายอื่นที่เหมาะสม

วันที่ 0 กลุ่มควบคุม

วิธีการทดสอบทำเช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง แต่ใช้ตัวทำละลายแทนสารทดสอบ

วันที่ 6-8 และ 13-15 กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับวันที่ 0 ของแต่ละกลุ่ม

การกระตุ้น

วันที่ 27-29 กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

ทาสารทดสอบบริเวณข้างลำตัวส่วนหลังด้านซ้าย ปิดด้วยผ้าก๊อซ เพื่อให้สารทดสอบสัมผัสกับผิวหนังอย่างเต็มที่ สารทดสอบจะต้องมีความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้เกิดการคายเคืองต่อผิวหนัง และบริเวณข้างลำตัวส่วนหน้าปิดด้วยผ้าก๊อซที่มีตัวทำละลาย ทำเช่นเดียวกันทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ช่วงเวลาการสังเกตอาการ

หลังจากนำผ้าก๊อซออกจากบริเวณทดสอบเป็นเวลา 21, 30 และ 54 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์และประเมินอาการแพ้ของผิวหนังต่อสารทดสอบโดยตรวจสอบการเกิดผื่นแดง สะเก็ดและการบวมที่ผิวหนังของสัตว์ทดลอง (ตารางที่ 3, 4 และ 5) (OECD, 1981; 1992; 2002; 2009)

สูตรการคำนวณ

$$\frac{\text{ผลรวมของการเกิดผื่นแดง/สะเก็ดและการเกิดอาการบวมที่ผิวหนัง} \times 100}{\text{จำนวนสัตว์ทดลอง} \times \text{จำนวนครั้งการสังเกตอาการ} \times \text{ค่าคะแนนสูงสุด (4)} \times \text{อาการที่เกิดทางผิวหนัง*}}$$

* อาการที่เกิดทางผิวหนัง: 1 = การเกิดผื่นแดง/สะเก็ด หรือการบวมตัวของผิวหนังอย่างใดอย่างหนึ่ง
2 = เกิดทั้งผื่นแดง/สะเก็ด และการบวมตัวของผิวหนัง

ตารางที่ 3 เกณฑ์การให้คะแนนการเกิดผื่นแดงและสะเก็ดจากอาการแพ้ต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจาก Department of Toxicology, Shriram Institute for Industrial Research, 2007; OECD, 2010)

การเกิดผื่นแดง	คะแนน
ไม่เกิดผื่นแดง	0
เกิดผื่นแดงน้อยมาก	1
เกิดผื่นแดงเห็นได้ชัดเจน (สีแดงชีด)	2
เกิดผื่นแดงเกินครึ่งหนึ่งของพื้นที่ทดสอบ	3
เกิดผื่นแดงเต็มพื้นที่ทดสอบ (มีรอยแดงจากสะเก็ด)	4

ตารางที่ 4 เกณฑ์การให้คะแนนการบวมตัวของผิวหนังจากอาการแพ้ต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจาก Department of Toxicology, Shriram Institute for Industrial Research, 2007)

การบวมตัวของผิวหนัง	คะแนน
ไม่เกิดการบวมที่ผิวหนัง	0
เกิดการบวมที่ผิวหนังน้อยมาก (แทบไม่ปรากฏ)	1
เกิดการบวมที่ผิวหนังเล็กน้อย (ปรากฏชัด)	2
เกิดการบวมที่ผิวหนังเกินครึ่งหนึ่งของพื้นที่ทดสอบ (รอยบวมยกนูนประมาณ 1 มม.)	3
เกิดการบวมเต็มพื้นที่ทดสอบ (รอยบวมยกนูนมากกว่า 1 มม.และขยายเกินบริเวณที่ทดสอบ)	4

ตารางที่ 5 เกณฑ์การจัดจำแนกประเภทของอาการแพ้ต่อผิวหนัง (ดัดแปลงจาก Department of Toxicology, Shriram Institute for Industrial Research, 2007)

คะแนน	ระดับความเป็นพิษ	ประเภทของอาการแพ้ทางผิวหนัง
0-8	1	ไม่เกิดอาการแพ้
9-28	2	ไม่รุนแรง
29-67	3	ปานกลาง
68-80	4	รุนแรง
81-100	5	รุนแรงมาก

ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง (Acute dermal toxicity)

การเตรียมการสำหรับการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบคือหนูแรท สายพันธุ์ Sprague Dawley หรือ กระต่ายขาว สายพันธุ์ New Zealand White หรือ หนูตะเภา สายพันธุ์ Dunkin Hartley ทั้งสองเพศ โตเต็มวัย (ตารางที่ 1) มีสุขภาพแข็งแรง และจะต้องเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องทดลองอย่างน้อย 5 วัน การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง ก่อนการทดสอบ 24 ชั่วโมง ต้องตัดหรือโกนขนบริเวณด้านหลังลำตัวของสัตว์ทดลอง พื้นที่ของผิวหนังที่ทำการทดสอบไม่ต่ำกว่า 10% ของผิวหนังทั้งหมด (Schmidt-Nielsen, 1984) โดยระวังไม่ให้ถูกผิวหนัง ทำความสะอาดบริเวณที่เตรียมไว้ ทาสารทดสอบกับผิวหนังบริเวณที่เตรียมไว้ปิดด้วยผ้าก๊อซแล้วยึดด้วยเทปกาว หากสารทดสอบอยู่ในรูปของแข็ง ต้องแปรสภาพเพื่อให้สามารถทดสอบกับผิวหนังได้ โดยการบดสารนั้นและทำให้เกิดความชื้นหรือผสมน้ำในปริมาณที่น้อยที่สุด หลังจาก 24 ชั่วโมงของการทดสอบ เช็ดสารทดสอบออกจากผิวหนังบริเวณทดสอบ และล้างทำความสะอาดผิวหนังด้วยน้ำหรือสารละลายอื่นที่เหมาะสม สังเกตอาการเป็นเวลา 14 วัน สัตว์ที่ตายในระหว่างการทดสอบถูกผ่าซากเพื่อศึกษาพยาธิสภาพหรือการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายใน และเมื่อสัตว์ทดลองแสดงอาการทรมานอย่างรุนแรง จำเป็นต้องเมตตาฆาต เพื่อทำให้สัตว์ทดลองจากไปอย่างสงบ ปราศจากความทุกข์ทรมาน (OECD, 1981; 1987)

การประเมินอาการที่เกิดจากความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง

การตายของสัตว์ทดลองเป็นสิ่งจำเป็นที่สามารถบอกความรุนแรงของสารที่ทดสอบหรือสารที่สัมผัส สารทดสอบที่ทำให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง มีผลทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่งของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด (LD_{50}) นอกจากนี้การแสดงอาการทางผิวหนัง การเปลี่ยนแปลงของขน พฤติกรรมต่างๆ เช่น อาการง่วงซึม ถ่ายเป็นน้ำ น้ำลายไหล และชัก หรือแม้กระทั่งการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักก่อนและหลังการทดสอบยังเป็นสิ่งที่ต้องนำมาประเมินร่วมกัน (OECD, 1987)

ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนัง (Subchronic dermal toxicity)

การเตรียมการสำหรับการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนัง สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบมีเกณฑ์เช่นเดียวกันกับการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (ตารางที่ 1) ใช้สัตว์ทดลองจำนวน 20 ตัว (เพศผู้ 10 ตัว และเพศเมีย 10 ตัว) สารที่ใช้ทดสอบปริมาณ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทาสารทดสอบกับผิวหนังบริเวณที่เตรียมไว้ปิดด้วยผ้าก๊อซแล้วยึดด้วยเทปกาวทุกวันติดต่อกันเป็นเวลานาน 90 วัน หากสารทดสอบอยู่ในรูปของแข็ง ต้องแปรสภาพเพื่อให้สามารถทดสอบกับผิวหนังได้ โดยการบดสารนั้นและทำให้เกิดความชื้นหรือผสมน้ำในปริมาณที่น้อยที่สุด หลังจาก 6 ชั่วโมงของการทดสอบ เช็ดสารทดสอบออกจากผิวหนังบริเวณทดสอบ และล้างทำความสะอาดผิวหนังด้วยน้ำหรือสารละลายอื่นที่เหมาะสมโดยในแต่ละวันจะต้องสังเกตอาการของสัตว์ทดลองอย่างสม่ำเสมอ (OECD, 1981)

การประเมินอาการที่เกิดจากความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังต่อผิวหนัง

นอกจากอาการทางผิวหนังที่เกิดผื่นแดง การบวมและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ผิวหนังโดยการศึกษากายวิภาคศาสตร์ผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แล้วยังสังเกตจากอาการอื่น ๆ ได้แก่ พฤติกรรมการกินอาหารและน้ำ การลดลงของน้ำหนักโดยชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลองทุกสัปดาห์จนถึงระยะเวลาที่กำหนดในการทดสอบ รวมไปถึงการวิเคราะห์ทางเลือด ได้แก่ การหาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ซึ่งการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังจะต้องเปรียบเทียบกับกลุ่มปกติโดยใช้สถิติในการทดสอบ (Depass *et al.,* 1995)

ความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง (Chronic dermal toxicity)

การเตรียมการสำหรับการทดสอบความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบเป็นหนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley หรือ หนูเมาส์ สายพันธุ์ ICR เพศผู้หรือเพศเมีย (โดยในการทดสอบควรเป็นเพศเดียวกัน) โตเต็มวัย (ตารางที่ 1) มีสุขภาพแข็งแรง และจะต้องเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องทดลองอย่างน้อย 7 วัน การเตรียมสัตว์ทดลองสำหรับการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อผิวหนัง ก่อนการทดสอบ 24 ชั่วโมงต้องตัดหรือโกนขนบริเวณด้านหลังลำตัวของสัตว์ทดลอง พื้นที่ของผิวหนังที่ทำการทดสอบไม่ต่ำกว่า 10% ของผิวหนังทั้งหมด (Schmidt-Nielsen, 1984) โดยระวังไม่ให้ถูกผิวหนังทำความสะอาดบริเวณที่เตรียมไว้ ทาสารทดสอบกับผิวหนังบริเวณที่เตรียมไว้ปิดด้วยผ้าก๊อซแล้วยึดด้วยเทปกาว หากสารทดสอบอยู่ในรูปของแข็ง ต้องแปรสภาพเพื่อให้สามารถทดสอบกับผิวหนังได้ โดยการบดสารนั้นและทำให้เกิดความชื้นหรือผสมน้ำในปริมาณที่น้อยที่สุด หลังจากนั้นทาสารทดสอบกับผิวหนังบริเวณที่เตรียมไว้ปิดด้วยผ้าก๊อซแล้วยึดด้วยเทปกาวทุกวัน วันละ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 12 เดือน โดยตรวจสอบอาการพิษต่อผิวหนังอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง โดยช่วงเวลาในการตรวจสอบอาการควรอยู่ในช่วงเวลาเดียวกัน ระยะเวลาในการทดสอบความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนังโดยปกติใช้เวลา 12 เดือน แต่ในบางกรณีสามารถปรับเปลี่ยนเวลาได้ตามความเหมาะสม อาทิ ระยะสั้นใช้เวลา 6 หรือ 9 เดือน และ ระยะยาวใช้เวลา 18 หรือ 24 เดือน เป็นต้น (OECD, 1981; 2009)

การประเมินอาการที่เกิดจากความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง

ความเป็นพิษเรื้อรังต่อผิวหนัง ประเมินได้จากหลายอย่าง ได้แก่ อาการทางผิวหนัง เช่น ผิวหนังหนา บวม ลอกเป็นแผ่นๆ รูขุมขนและต่อมไขมันขยายใหญ่ ตรวจสอบผิวหนังภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโดยใช้เทคนิคพาราฟิน นอกจากนั้นยังประเมินจากน้ำหนักตัวปริมาณการกินอาหารและน้ำทุกสัปดาห์ เก็บเลือด เพื่อหาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว และเก็บปัสสาวะทุกๆ 3 เดือน ชั่งน้ำหนักตับและไต ตรวจสอบเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ เปรียบเทียบกับกลุ่มปกติโดยใช้สถิติในการทดสอบ

บทสรุป

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่กั้นกลางระหว่างสิ่งแวดล้อมภายในและภายนอก ป้องกันอวัยวะภายในจากสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นทางแรกที่สารต่างๆ รวมทั้งสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษสามารถผ่านเข้าไปสู่ร่างกายได้ ผิวหนังเป็นอวัยวะที่สมควรได้รับการดูแลเอาใจใส่ เพราะเป็นอวัยวะที่มองเห็นได้ชัด และสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรง ผลกระทบจากสารพิษทำให้ผิวหนังได้รับอันตราย ความเป็นพิษต่อผิวหนังมีหลายระดับ เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ไม่ว่าจะเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรดด่างสูง รังสี แสงแดด เครื่องสำอาง หรือแม้กระทั่งปริมาณของสารตลอดจนระยะเวลาที่สัมผัสสารก็เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผิวหนังได้ จึงมีการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกประเภทของสาร รวมไปถึงแนวทางในการปฏิบัติและข้อควรระวังในการใช้สารต่างๆ ซึ่งมี 2 หน่วยงานหลัก คือ Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) และ International Conference on Harmonization (ICH) ที่มีจุดประสงค์ร่วมกันคือ การหาแนวทางปฏิบัติในการจำแนกประเภทของสารที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อผิวหนัง การทบทวนวรรณกรรมนี้ได้ยึดถือแนวทางของหน่วยงาน OECD ซึ่งจำแนกระดับความเป็นพิษต่อผิวหนังเป็นหลายระดับจากความเป็นพิษน้อยไปมาก ได้แก่ การระคายเคืองต่อผิวหนัง อาการแพ้ต่อผิวหนัง การกัดกร่อนต่อผิวหนัง ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อ กึ่งเรื้อรังและเรื้อรังต่อผิวหนัง ซึ่งแต่ละระดับมีเกณฑ์การทดสอบจำนวน ชนิดและของสัตว์ทดลอง ปริมาณของสารทดสอบ

และระยะเวลาในการทดสอบที่แตกต่างกัน ในปัจจุบันได้มีการนำการทดสอบในหลอดทดลองหรือในจานเพาะเลี้ยงโดยการใช้เซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงในการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังเบื้องต้นแทนการใช้สัตว์ทดลอง เพื่อลดจำนวนสัตว์ทดลอง ลดความเจ็บปวดและทรมานของสัตว์ทดลอง ตามหลักการ 3R ของสำนักงานเลขานุการคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติเพื่อพัฒนางานเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สลช.) ที่ได้รับการยอมรับในระดับประเทศ แต่อย่างไรก็ดี การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลองก็ยังมีความจำเป็นเพื่อศึกษากลไกตลอดจนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจริงในร่างกายก่อนนำผลิตภัณฑ์มาทดสอบและใช้ในมนุษย์ต่อไป

References

Department of Toxicology, Shriram Institute for Industrial Research Skin Sensitization Study on Guinea Pig with NHH 44 Bt-Cotton Seeds. *Shriram Institute for Industrial Research* 2007; 41401.

Depass LR, Fowler EH, Leung HW. Subchronic Dermal Toxicity Study of Triethanolamine in C3H/HeJ Mice. *Food and Chemical Toxicology* 1995; 33(8): 675-680.

Elias PM. Epidermal Lipids, Barrier Function and Des quamation. *Journal Investigative Dermatology* 1983; 80: 44-49.

Elias PM. Epidermal Barrier Function: Intercellular Lamellar Lipid Structures, Composition and Metabolism. *Journal of Controlled Release* 1991;.15(3): 199-208.

Gawkrodger DJ. *Dermatology: An Illustrated Colour Text*. 2nded. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1997.

Gawkrodger DJ. *Dermatology: An Illustrated Colour Text*. 3rded. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002.

Isbrucker RA, Edwards JA, Wolz E, et al. Safety Studies on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Preparations. Part 2: Dermal, Acute and Short-Term Toxicity Studies. *Food and Chemical Toxicology* 2006; 44: 636-650.

Monteiro-Riviere NA. Introduction to Histological Aspects of Dermatotoxicology. *Microscopy Research and Technique* 1997; 37(3): 171.

Monteiro-Riviere NA. Dermatotoxicology. In: Smart RC, Hodgson E, editors. *Molecular and Biochemical Toxicology.* Toronto: John Wiley & Sons; 2008. 851-880.

OECD. Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 1981; 410.

OECD. Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 1981; 411.

OECD. Acute Dermal Toxicity. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 1987; 402.

OECD. Acute Dermal Irritation/Corrosion. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 1992; 404.

OECD. Skin Sensitisation. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 1992; 406.

OECD. Acute Dermal Irritation/Corrosion. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 2002; 404.

OECD. Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 2002; 429.

OECD. Chronic Toxicity Studies. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 2009; 452.

OECD. Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 2009; 453.

OECD. Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* (Draft Proposal for an Updated Test Guideline) 2009; 429.

OECD. Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay: DA. *OECD Guideline for the Testing Chemicals* 2010; 442A.

Ro BI, Dawson TL. The Role of Sebaceous Gland Activity and Scalp Microfloral Metabolism in the Etiology of Seborrheic Dermatitis and Dandruff.

Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings 2005; 10(3): 194-197.

Schmidt-Nielsen K. *Scaling, Why Is Animal Size So Important?.* New York: Cambridge University Press; 1984.

Suskind RR. The Skin: Predictive Value of Short-Term Toxicity Tests. In: Bourdeau P, editors. *Short-Term Toxicity Tests for Non-genotoxic Effects.* Toronto: John Wiley & Sons; 1990. 155-175.

Suskind RR. Environment and the Skin. *Environmental Health Perspectives* 1997; 22(1): 27-37.

United Nations Economic Commission for Europe (UNECE). *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS).* 3th ed. United Nations Publications; 2009.