

Dorota Chomiczewska
Marta Kieć-Świerczyńska
Beata Kręcisz

KONTAKTOWE ZAPALENIE SKÓRY Z PODRAŻNIENIA CZĘŚĆ II. METODY BADANIA DZIAŁANIA DRAŻNIĄCEGO SUBSTANCJI CHEMICZNYCH

IRRITANT CONTACT DERMATITIS
PART II. EVALUATION EVALUATION OF SKIN IRRITATION POTENTIAL OF CHEMICALS

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź
Pracownia Dermatologii Ośrodka Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego



kompleksowe
programy zdrowotne

STRESZCZENIE

Ocena działania drażniącego substancji chemicznych jest niezwykle ważna z punktu widzenia indywidualnego bezpieczeństwa zdrowotnego. Dotyczy to zarówno kosmetyków i leków przeznaczonych do stosowania na skórę, jak i środków, które przypadkowo mogą wejść w kontakt ze skórą. Do niedawna przedkliniczna ocena oparta była głównie na testach z udziałem zwierząt. Względy etyczne oraz ograniczona wartość modelu zwierzęcego jako ekwiwalentu skóry ludzkiej stały się impulsem do rozwoju alternatywnych — *in vitro* — metod do oceny działania drażniącego, tj. hodowli komórkowych oraz modeli ludzkiego naskórka EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic. Rozwój nowych metod jest monitorowany przez międzynarodowe instytucje, takie jak Europejskie Centrum Walidacji Metod Alternatywnych (European Centre for the Validation of Alternative Methods — ECVAM). Użytecznym narzędziem oceny działania drażniącego są również testy płatkowe i otwarte testy używania przeprowadzane z udziałem ochotników. Znajdują one zastosowanie w badaniu potencjału drażniącego kosmetyków i detergentów. Med. Pr. 2009;60(3):209–214

Słowa kluczowe: czynniki drażniące, testy *in vitro*, testy naskórkowe, testy używania

ABSTRACT

The evaluation of skin irritation potential of chemicals is essential to secure the safety of individuals exposed to several substances designed for industrial, pharmaceutical or cosmetic use. Until recently, preclinical safety assessment of chemicals was largely based on animal experiments. Ethical concerns and the limited value of animal models in evaluating human skin irritation potential resulted in the development of alternative *in vitro* methods, such as EpiDerm, EPISKIN or SkinEthic, to assess irritation, i.e. cell cultures and human epidermis models. International organizations like the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) promotes and monitors the development of nonanimal tests. Human patch tests and use tests also provide an opportunity to identify substances with significant skin irritation potential without recourse to the use of animals. These tests are useful to assess skin irritation potential of cosmetics and detergents. Med Pr 2009;60(3):209–214

Key words: irritants, *in vitro* test, patch test, use test

Adres autora: Pracownia Dermatologii Ośrodka Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego,
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: chomicz@imp.lodz.pl
Nadesłano: 25 marca 2009
Zatwierdzono: 6 kwietnia 2009

WPROWADZENIE

Ocena potencjalnego działania drażniącego substancji przed jej wprowadzeniem do obrotu i zastosowaniem przemysłowym jest niezwykle ważna z punktu widzenia indywidualnego bezpieczeństwa zdrowotnego. Badania dotyczą zarówno substancji przeznaczonych do stosowania na skórę jako składników leków i kosmetyków, jak i związków używanych w gospodarstwie domowym lub w miejscu pracy, które przypadkowo mogą wejść w kontakt ze skórą (1). Ocena przedkliniczna oparta była dotychczas głównie na eksperymentach z użyciem zwierząt. Tradycyjny test Draize'a polega na ocenie reakcji z podrażnienia *in vivo* u królików. Po

aplikacji badanego produktu na ogoloną skórę zwierzęcia ocenia się rumień i obrzęk po upływie 1, 24, 48 i 72 godzin. Podobne badania wykonywane są z użyciem świnek morskich, szczurów i myszy (2). Prócz oceny wizualnej reakcji skórnej dokonuje się pomiaru przepływu krwi, temperatury i grubości skóry. Względy etyczne, ograniczona wartość modelu zwierzęcego jako ekwiwalentu skóry ludzkiej (skóra królika jest wrażliwsza niż ludzka) oraz potrzeba efektywnej, obiektywnej i stosunkowo taniej oceny potencjalnego działania drażniącego doprowadziły jednak do opracowania alternatywnych metod badania substancji pod tym względem (1). Teoretyczne wymagania stawiane nowo opracowywanym metodom to niezawod-



ność, powtarzalność i trafność przewidywania potencjalnego niekorzystnego oddziaływania na skórę. Instytucją powołaną do sprawowania nadzoru nad rozwojem tych metod jest Europejskie Centrum Walidacji Metod Alternatywnych (European Centre for the Validation of Alternative Methods — ECVAM). Celem działania Centrum jest zamiana, ograniczenie i poprawa sposobu wykorzystania zwierząt laboratoryjnych oraz wdrażanie metod *in vitro*, opartych m.in. na hodowlach komórkowych i tkankowych oraz metod *in silico* — z wykorzystaniem modeli komputerowych opartych na zależnościach między strukturą chemiczną związku a jego właściwościami biochemicznymi, fizjologicznymi i biokinetycznymi (3).

METODY OCENY DZIAŁANIA DRAŻNIĄCEGO *IN VITRO*

Rozwój alternatywnych testów do oceny działania drażniącego, żrącego i fototoksycznego substancji chemicznych na skórę datuje się od lat 80. i 90. XX wieku. Wtedy opracowano pierwsze metody badań bez udziału żywych zwierząt, ale z zastosowaniem materiału tkankowego pochodzącego od zwierząt zabitych (*ex vivo*), takie jak NPPET (non-perfused pig ear test) oraz mysy SIFT (mouse skin integrity function test) (4). W NPPT ocenia się wzrost TEWL (transepidermal water loss — przeskórkowa utrata wody) po 4-godzinnej ekspozycji skóry świńskiego ucha na badaną substancję. Z kolei SIFT polega na ocenie integralności mysiej skóry po trwającej 20 godzin aplikacji testowanego materiału, przy czym badanymi parametrami w tej metodzie są TEWL i oporność elektryczna skóry (5).

Do nowych metod oceny działania drażniącego należą badania z zastosowaniem hodowli komórkowych, takie jak test wychwytu czerwieni obojętnej przez ludzkie keratynocyty lub fibroblasty. Do parametrów dodatkowo podlegających pomiarowi należy uwalnianie mediatorów zapalnych, w szczególności cytokin oraz aktywność enzymatyczna (1). Z kolei najcenniejszym obecnie narzędziem badawczym działania drażniącego na skórę są modele naskórka i skóry ludzkiej, takie jak EPISKIN, EpiDerm i SkinEthic (1,6,7).

W latach 1998–2008 ECVAM zatwierdziło następujące testy *in vitro*: Epiderm i EPISKIN (do oceny działania żrącego — 1998, do oceny działania drażniącego — 2007), SkinEthic Human Skin Model (do oceny działania żrącego — 2006), EpiDerm SIT i SkinEthic RHE (do oceny działania drażniącego — 2008), test

wychwytu czerwieni obojętnej (3T3 Neutral Red Uptake — NRU, do oceny fototoksyczności — 1997–1998), CORROSITEX (do oceny działania żrącego — 2000). Ponadto akceptację ECVAM posiada test pomiaru przeskórnej oporności elektrycznej z użyciem skóry szczura (Rat TER — transcutaneous electrical resistance test — do oceny działania żrącego) (8).

W badaniu z zastosowaniem modelu skóry ludzkiej EpiDerm, zawierającym wielowarstwowy zróżnicowany naskórek, ocenie podlega czas ekspozycji, w którym dochodzi do zmniejszenia liczby żywych komórek o 50% (ET50). Liczba ta jest oceniana poprzez pomiar redukcji MTT [3-(4,5-Dimethyltiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. Z kolei EpiSkin jest trójwymiarowym modelem ludzkiej skóry zawierającym naskórek z warstwą rogową (5). Jego zastosowanie ma w przyszłości całkowicie zastąpić test Draize'a (8). W tym modelu oceniany jest wpływ 18-godzinnej aplikacji badanej substancji również poprzez pomiar redukcji MTT, a parametrem końcowym jest udział procentowy żywych komórek (5). Dodatkowo w obu testach oceniane jest uwalnianie IL-1 α (8). Modele SkinEthic RHE (Reconstructed Human Epidermis) i EpiDerm SIT (Skin Irritation Test) mają podobne punkty końcowe — ocena żywotności komórek w teście redukcji MTT i uwalnianie IL-1 α . SkinEthic RHE ma funkcjonalną warstwę rogową z położoną poniżej warstwą żywych komórek, a drugi z ostatnio zatwierdzonych testów stanowi modyfikację wcześniejszego EpiDerm (9). CORROSITEX to test, w którym miarą działania żrącego jest zdolność substancji do przenikania przez biobarierę złożoną z macierzy uwodnionego kolagenu, a ocenie podlega czas przenikania i uszkodzenie biobariery (1,6,8). Test wychwytu czerwieni obojętnej 3T3 służy do oceny działania fototoksycznego i polega na równoczesnej ekspozycji mysich fibroblastów na bodziec chemiczny i promieniowanie UVA. Miarą tego działania jest zahamowanie zdolności komórek do wychwytu barwnika, świadczące o ich nieodwracalnym uszkodzeniu (6,8).

KLASYFIKACJA SUBSTANCJI CHEMICZNYCH

Substancja jest kwalifikowana zgodnie z Dyrektywą Rady Wspólnoty Europejskiej nr 67/548 z dnia 27 czerwca 1967 r. oraz Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 28 września 2005 r. jako środek o działaniu żrącym (corrosive — „C”), oznaczony symbolem R34 (powodujący ciężkie oparzenia) lub R35 (powodujący oparzenia), albo uznana za związek chemiczny o działaniu



drażniącym — R38 (10). Potrzeba precyzyjnego zdefiniowania potencjalnego szkodliwego oddziaływania różnych związków na zdrowie człowieka znalazła wyraz w opracowaniu Globalnie Zharmonizowanego Systemu Klasyfikacji i Znakowania Chemikaliów (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals — GHS). Został on zaakceptowany przez Zgromadzenie Ogólne ONZ w 2002 r. oraz przyjęty do stopniowej implementacji do prawodawstwa narodowego przez rządy państw członkowskich UE. Wszystkie substancje obecne na rynku UE powinny od 1 grudnia 2010 r. występować w obrocie zgodnie z klasyfikacją opartą na GHS (11). Dokument ten wprowadza podział środków żrących i drażniących skórę na 3 kategorie. Kategoria 1. to środki żrące (corrosives), 2. — drażniące (irritants), 3. — kontrowersyjna i nieuznawana przez wszystkich — łagodne podrażniacze (mild irritants) (12). W dniu 1 czerwca 2007 r. w Polsce weszło w życie Rozporządzenie (WE 1907/2006) Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals — REACH). Program REACH stanowi system nadzoru nad produkcją, obrotem i stosowaniem niebezpiecznych substancji i preparatów chemicznych i podlega stopniowemu wdrażaniu w UE, równoległe z GHS, zastępując dotychczas obowiązujące przepisy regulujące obrót i stosowanie substancji i preparatów niebezpiecznych, zawarte w dyrektywach 67/548/EWG i 1999/45/WE (13,14).

METODY OCENY DZIAŁANIA DRAŻNIĄCEGO *IN VIVO*

Innym obok testów *in vitro* sposobem badania działania drażniącego substancji chemicznych na skórę ludzką, zazwyczaj dotyczącą produktów już wprowadzanych do obrotu, są testy naskórkowe przeprowadzane u ochotników (7,15). Tylko substancje i produkty, których składniki wcześniej nie zostały uznane za niebezpieczne z powodu właściwości żrących lub toksycznych, mogą być badane z udziałem ludzi (16).

Do metod oceny działania drażniącego z zastosowaniem testów naskórkowych należą: 1) testy polegające na jednorazowej aplikacji badanej substancji pod okluzją, czyli w teście płatkowym (one-time occlusive tests); 2) testy wielokrotnej aplikacji w teście płatkowym (repeated occlusive tests); oraz 3) testy oparte na powtarzanej otwartej aplikacji (repeated open application tests). Metodyka tych testów została opracowana

dla laurylosiarczanu sodowego (SLS) jako modelowej substancji o działaniu drażniącym (17). Po przewidzianej protokołem eksperymentu ekspozycji skóry następuje jej ocena kliniczna pod kątem obecności rumienia, złuszczenia, rozpadlin, oraz pomiar parametrów biofizycznych przy użyciu nieinwazyjnych metod. Zazwyczaj dokonywany jest pomiar TEWL, badanie zawartości wody w naskórku, ocena przepływu krwi i niekiedy ocena barwy skóry. Wielkość przeznaskórkowej utraty wody mierzona jest przy pomocy tewametru lub ewaporymetru, stanowi ona odzwierciedlenie barierowej funkcji naskórka. Z kolei do pomiaru uwodnienia warstwy rogowej służy urządzenie zwane korneometrem, którego działanie oparte jest na zależności między mierzoną pojemnością elektryczną skóry a zawartością wody w naskórku. Oceny krążenia skórnoego dokonuje się przy użyciu laserowego dopplerowskiego przepływomierza (12,18,19). Barwa skóry zależy od obecności rumienia i pigmentacji, a główną rolę w jej postrzeganiu przez ludzkie oko odgrywają skórne chromofory — hemoglobina i melanina. Pomiaru dokonuje się przy pomocy kolorymetru lub spektrofotometru (12).

Ad 1) Jednorazowa aplikacja w teście płatkowym na 24 lub 48 godzin jest badaniem łatwym do przeprowadzenia, pozwala na identyfikację substancji mogących wywołać ostrą reakcję z podrażnienia. Jest stosowana do badania potencjału drażniącego produktów takich, jak detergenty czy kosmetyki. Metoda ta jednak nie odzwierciedla realnego narażenia w życiu codziennym, gdzie kontakt z czynnikiem drażniącym jest zwykle długotrwały i powtarzalny (17,19,20).

Ad 2) Opracowano wiele schematów oceny działania drażniącego z zastosowaniem wielokrotnej aplikacji w testach płatkowych. Frosch i Kligman w 1979 r. zaproponowali 5-dniowy wzorzec — aplikację ocenianej substancji na 24 godziny w pierwszej dobie i na 6 godzin każdego następnego dnia (21). Do lepszego odwzorowania praktycznego sposobu stosowania różnych środków w życiu codziennym stworzone zostały liczne inne modele, np. aplikacja badanej substancji na skórę w okluzyjnej komorze 2 razy dziennie na 45 min przez 5 dni roboczych, 2 razy dziennie na 45 min przez 3 tygodnie (22,23) lub raz dziennie na 2 godz. przez 3 tygodnie (17).

Od lat 90. do oceny ostrego działania drażniącego stosuje się metodę polegającą na krótkotrwałej stopniowanej, do 4 godzin, ekspozycji skóry na badaną substancję w teście płatkowym. Uzyskaną reakcję skóry porównuje się z efektem równoczesnej aplikacji wzorcowego podrażniacza — SLS w 20% roztworze wodnym



(16,24). Metodyka badania polega na założeniu testów płatkowych zazwyczaj na skórę ramienia po stronie bocznej. Czas ekspozycji stopniowo wzrasta, od 30 min przez 1, 2, 3 do 4 godzin. Reakcja skórna oceniana jest po 24, 48 i 72 godzinach w 4-stopniowej skali (od 0 do 3+). Badanie trwa 7 tygodni w przypadku aplikacji badanej substancji raz w tygodniu lub 2–3 tygodnie, gdy ekspozycja ma miejsce 2 razy w tygodniu. Jeśli dodatni odczyn na daną substancję występuje u badanych równie często lub częściej jak reakcja na SLS, zostaje ona uznana za produkt o działaniu drażniącym (24). Według Baskettera i wsp. metoda ta może stanowić podstawę klasyfikacji substancji chemicznych jako drażniących lub niewywierających działania drażniącego na skórę ludzką (16,24).

Ad 3) Testy powtarzanej otwartej aplikacji (repeated open application test — ROAT) polegają na krótkotrwałej ekspozycji skóry na badany produkt, bez okluzji, z określoną częstotliwością (17). Istnieje wiele procedur i schematów z zastosowaniem testów otwartych do oceny działania drażniącego, równocześnie w piśmiennictwie spotyka się różne terminy na określenie tych testów. Testy powtarzanej otwartej aplikacji i prowokacyjny test używania, zwany też testem prowokacji (provocative use test — PUT) zaliczane są do testów używania (use test), które naśladują zwykłe codzienne stosowanie produktu. Niekiedy określenia ROAT i PUT stosowane są zamiennie. Zazwyczaj polegają na powtarzanej 1–2 razy dziennie aplikacji określonej ilości substancji testowej na skórę przedramienia, ramienia, dołu łokciowego lub innej okolicy przez 4–28 dni, np. raz dziennie od 10 do 45 min, przez 1–3 tygodnie albo 2 razy dziennie na 30 min przez 4, 7 lub 14 dni (17,25,26–28). Wadą tych testów jest ich czasochłonność — zastosowanie ich w badaniach eksperymentalnych wymaga uczestnictwa wielu osób i jest zazwyczaj długotrwałe (17,27).

Odmianą tych testów są „wash test” lub „exaggerated wash test”, polegające na zmywaniu określonego obszaru skóry (zwykle ręki, przedramienia lub ramienia) z użyciem badanego środka w wyznaczonym czasie i z określoną częstotliwością (29). Opisane procedury polegają np. na indukcji reakcji z podrażnienia poprzez zmywanie skóry badaną substancją 3 razy dziennie przez 6 dni, a następnie utrzymanie tej reakcji poprzez 2-krotną ekspozycję w ciągu dnia. Inny protokół przewidywał mycie skóry przy użyciu danego środka 2 razy dziennie w ciągu 1 min przez tydzień (30,31). W testach tych stosowane są różne stężenia substancji wywołujących podrażnienie skóry, a natężenie ekspozycji na badany produkt może być zgodne z przeznaczeniem lub więk-

sze (30). Następnie dokonuje się oceny klinicznej i pomiarów biofizycznych właściwości skóry.

Badania wskazują na brak idealnej zgodności w ocenie działania drażniącego skórę między wynikami testów naskórkowych pod okluzją a testów otwartych. Testy płatkowe służą raczej ocenie ostrego działania drażniącego, testy używania pozwalają na oszacowanie zdolności substancji do wywołania reakcji z podrażnienia wskutek powtarzalnej i przewlekłej ekspozycji (30,31).

PODSUMOWANIE

Ocena potencjalnego działania drażniącego różnych substancji i produktów zarówno przed wprowadzeniem ich na rynek, jak i po, ma na celu eliminację ryzyka zdrowotnego związanego z ich użytkowaniem. Badania z użyciem zwierząt są stopniowo zastępowane przez alternatywne metody oceny działań niepożądanych dla skóry, w tym działania drażniącego. Dzięki ogromnemu wysiłkowi naukowemu i finansowemu opracowano liczne alternatywne metody, ale tylko niektóre z nich zostały zatwierdzone przez ECVAM jako prawnie akceptowana alternatywa dla testów na zwierzętach. Żaden pojedynczy test *in vitro* nie jest jednak wystarczający do uznania badanej substancji za bezpieczną dla zdrowia ludzkiego.

Istotnym bodźcem dla rozwoju metod alternatywnych stały się przepisy zawarte w Siódmej Poprawce do Dyrektywy Kosmetycznej UE (czyli Dyrektywie 2003/15/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 lutego 2003 r.), tj. zakaz wprowadzania do obrotu produktów kosmetycznych testowanych na zwierzętach lub zawierających składniki testowane na zwierzętach (od 11 marca 2009 r.) oraz zakaz testowania na zwierzętach składników i końcowych receptur kosmetyków. Zakazy te obowiązują, jeśli metody testów na zwierzętach zostały zastąpione przez jedną lub więcej metod alternatywnych zatwierdzonych i przyjętych na szczeblu wspólnotowym UE.

Przedkliniczna ocena oparta na eksperymentach *in vitro* może być uzupełniona przez badania z udziałem ochotników, polegające na wykonaniu testów naskórkowych z gotowymi produktami wprowadzanymi na rynek. Dotychczas stosowano rozmaite procedury testowania, różniące się czasem i częstotliwością ekspozycji, jak również wyborem okolicy skóry do aplikacji produktu. W związku z możliwym wzrostem znaczenia badań z udziałem ludzi korzystna byłaby aktualizacja standardów i opracowanie algorytmów oceny działania drażniącego skórę przy pomocy testów naskórkowych.



PIŚMIENNICTWO

1. Vinardell M.P., Mitjans M.: Alternative methods for eye and skin irritation tests: an overview. *J. Pharm. Sci.* 2008;97(1):46–59
2. Sekizawa J., Yasuhara K., Suyama Y., Yamanaka S., Tobe M., Nishimura M.: A simple method for screening assessment of skin and eye irritation. *J. Toxicol. Sci.* 1994;19:25–35
3. Zakład Chemii Kosmetycznej: Europejskie Centrum Walidacji Metod Alternatywnych (ECVAM). Adres: http://www.chemiakosmetyczna.edu.pl/index.php?option=com_content&task=view&id=155&Itemid=138
4. Kidd D.A., Johnson M., Clements J.: Development of *in vitro* corrosion/irritation prediction assay using the EpiDerm™ skin model. *Toxicol. In Vitro* 2007;21:1292–1297
5. Fentem J.H., Briggs D., Chesné C., Elliott G.R., Harbell J.W., Heylings J.R. i wsp.: A prevalidation study on *in vitro* tests for acute skin irritation: results and evaluation by the Management Team. *Toxicol. In Vitro* 2001;15:57–93
6. Stępnik M.: Ocena toksyczności z użyciem metod alternatywnych. Adres: http://www.chemikalia.gov.pl/files/3-Metody_Alternatywne_w_toksykologii.pdf
7. Tornier C., Rosdy M., Maibach H.I.: *In vitro* skin irritation testing on reconstituted human epidermis: reproducibility for 50 chemicals tested with two protocols. *Toxicol. In Vitro* 2006;20:401–416
8. European Centre for the Validation of Alternative Methods. Adres: <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
9. Innovia. Portal innowacji w kosmetologii: ECVAM zatwierdziło dwie kolejne metody do oceny działania drażniącego *in vitro*. Adres: http://innovia.pl/aktualnosci/ecvam_zatwierdzilo_dwie_kolejne_metody_do_oceny_dzialania_drazniacego_in_vitro.htm
10. Hoffmann S., Cole T., Hartung T.: Skin irritation: prevalence, variability, and regulatory classification of existing *in vivo* data from industrial chemicals. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2005;41:159–166
11. Hancyk B.: Klasyfikacja substancji i preparatów niebezpiecznych — jaka przyszłość? Adres: <http://www.ekoguma.pl/Klasyfikacja%20substancji%20i%20preparatow%20dla%20potrzeb%20REACH.pdf>
12. Fluhr J.W., Darlenski R., Angelova-Fischer I., Tsankov N., Basketter D.: Skin irritation and sensitization: mechanisms and new approaches for risk assessment. 1. Skin irritation. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2008;21:124–135
13. Hancyk B.: System GHS podstawą systemu REACH? Adres: <http://www.dgsa-adr.com/index-0-2-26a.pdf>
14. Biuro do Spraw Substancji i Preparatów Chemicznych. Adres: <http://www.chemikalia.gov.pl>
15. Basketter D.A., Chamberlain M., Griffiths H.A., Rowson M., Whittle E., York M.: The classification of skin irritants by human patch test. *Food Chem. Toxicol.* 1997;35:845–852
16. Basketter D.A., Whittle E., Griffiths H.A., York M.: The identification and classification of skin irritation hazard by a human patch test. *Food Chem. Toxicol.* 1994;32:769–775
17. Tupker R.A., Willis C., Berardesca E., Lee C.H., Fartasch M., Agner T. i wsp.: Guidelines on sodium lauryl sulphate (SLS) exposure tests. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997;37:53–69
18. Spoo J., Wigger-Alberti W., Berndt U., Fischer T., Elsnner P.: Skin cleansers: Three test protocols for the assessment of Irritancy Ranking. *Acta Derm. Venereol.* 2002;82:13–17
19. Barány E., Lindberg M., Lodén M.: Biophysical characterization of skin damage and recovery after exposure to different surfactants. *Contact Dermatitis* 1999;40:98–103
20. Astner S., Burnett N., Rius-Diaz F., Doukas A.G., Gonzalez S., Gonzalez E.: Irritant contact dermatitis induced by a common household irritant: a noninvasive evaluation of ethnic variability in skin response. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2006;54(3):458–65
21. Frosch P.J., Kligman A.M.: The soap chamber test. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1979;1:35–41
22. Tupker R.A., Pinnagoda J., Nater J.P.: The transient and cumulative effect of sodium lauryl sulphate on the epidermal barrier assessed by transepidermal water loss: interindividual variation. *Acta Derm. Venereol.* 1990;70:1–5
23. Tupker R.A., Pinnagoda J., Coenraads P.J., Nater J.P.: The influence of repeated exposure to surfactants on the human skin as determined by transepidermal water loss and visual scoring. *Contact Dermatitis* 1989;20:108–114
24. Robinson M.K., Kruszewski F.K., Al-Atrash J., Blazka M.E., Gingell R., Heitfeld F.A. i wsp.: Comparative assessment of the acute skin irritation potential of detergent formulations using a novel human 4-h patch test method. *Food Chem. Toxicol.* 2005;43:1703–1712
25. Zaghi D., Maibach H.I.: Quantitative relationships between patch test reactivity and use test reactivity: an overview. *Cutan. Ocul. Toxicol.* 2008;27(3):241–248
26. Nigam P.K.: Adverse reactions to cosmetics and methods of testing. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2009;75:10–19
27. Śpiewak R.: Alergia kontaktowa — diagnostyka i postępowanie. *Alerg. Astma Immun.* 2007;12(3):109–127
28. Tupker R.A., Schuur J., Coenraads P.J.: Irritancy of anti-septics tested by repeated open exposures on the human



- skin, evaluated by non-invasive methods. *Contact Dermatitis* 1997;37(5):213–217
29. Slotosch C.M., Kampf G., Löffler H.: Effects of skin disinfectants and detergents on skin irritation. *Contact Dermatitis* 2007;57:235–241
30. Clemmensen A., Andersen F., Petersen T.K., Kalden H., Melgaard A., Andersen K.E.: The irritant potential of n-propanol (nonanoic acid vehicle) in cumulative skin irritation: a validation study of two different human *in vivo* test models. *Skin Res. Technol.* 2008;14(3): 277–286
31. Hannuksela A., Hannuksela M.: Irritant effects of a detergent in wash, chamber and repeated open application tests. *Contact Dermatitis* 1996;34(2):134–137

Badania współfinansowane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY

