

である。

1 2. 動物の痛みや苦痛、および他の有害作用の分類についての国際的に合意されたガイドラインが存在すべきである。これには有害作用を認識やその測定のための生理学的・行動学的な徴候についての合意を含むものでなくてはならない。

1 3. 個人や機関は、個々の試験計画において使用される動物が実際に経験する、あるいは経験すると思われる有害作用の性質とそのレベルをそれぞれの国家当局が予見的におよび回顧的に評価することについて責任を持たなくてはならない。

1 4. 純化と動物福祉についての研究は奨励されなくてはならない。また、資金を与えられなくてはならない。この研究には痛みや苦痛を最小にすることを目的とする手法の作成されるデータの質への影響に関する研究も含まれる。

#### 置き換え代替法(Replacement Alternatives)

1 5. 置き換え代替法とは特定の目的を動物を用いて行う実験や他の科学的な手法を用いずに達成するための方法である。

1 6. 置き換え代替法の範疇には以下のものが含まれる。

- a. 既に行われた動物実験情報の保管、交換、及び使用の改善。このことにより不必要な試験の繰り返しが避けられる。
- b. 物理的・化学的手法の利用、及び分子の物理的及び化学的性質に基づく予測法の利用。
- c. 数学的及びコンピューターモデルの利用。これには構造活性相関モデル、分子モデルおよびコンピューターグラフィックスの利用、また、生化学的、薬理学的、生理学的、毒性学的及び行動学的過程のモデルの利用を含む。
- d. 知覚機能の乏しい、より”低”級動物の使用（例、無脊椎動物、植物、微生物）。

- e. 脊椎動物発生初期段階、即ち、実験や他の科学的目的のためへの使用が制限される時点に達する前の段階での使用。
  - f. 短時間維持が可能な灌流臓器、組織スライス、及び細胞懸濁液、適正な細胞や組織培養を含む *in vitro* 試験法の利用。多くの *in vitro* 試験においては特に倫理的、法的、及び安全生の問題が満足されているならば、実験動物から分離したものよりもヒト由来の細胞や組織を優先して使用すべきである。
- 
- g. ヒト試験。これには疫学や市販後調査、及び倫理的に承認された志願者の使用が含まれる。

17. 行政的な有効性、安全性、及び毒性試験の場合においては、妥当性の確認された置き換え代替法を提供することを特に目指した研究を奨励すべきであるし、また、それに資金提供を行うべきである。

18. 理想的には置き換え代替法の発展は測定あるいは研究する現象の基礎となっている分子及び細胞機構についての十分な理解に基づくべきである。

19. 多くの状況において、動物を用いた試験は単一の置き換え代替法により置き換えることはできないと思われることから、段階的な試験戦略や複数の試験を統合した試験スキームの開発やその評価及び最適化についての研究も奨励されるべきである。

20. 妥当性について満足すべの結果の得られた置き換え代替法の受け入れと使用、及び同等の動物試験法の使用停止は選択肢としてではなく、要求項目とすべきである。

#### 教育・訓練

21. 動物や代替法の使用についての正しい姿勢をもたらすことに寄与することを目的とする教育と、正しい動物の世話や使用への寄与や質の高い実験を確保するための訓練を明確に区別すべきである。

22. 行政当局はどのような形であれ、実験動物使用を伴う作業に従事するものが認可されたコースを受けるように要求すべきである。このコースは三つの R と置き換え代替法を可能な限り使用するという法的な義務を強調されているものである。

23. 学校や大学、大学院の学生は定められた過程を実行するように強制されるのではなく、選択肢としての代替法を提供されるべきである。

---

## 結論

第三回生命科学における代替法と動物使用に関する世界会議の参加者は Russell と Burch (1) が 1959 年に提案した原則を支持し、人道的な科学のみが良い科学であり、良い科学は三つの R を厳格に促進し適用することにより最も良く達成されるものであることを再確認した。

唯一許容される動物実験は倫理委員会により認められたものであり、科学的目的の達成に矛盾しない限り、動物使用数を可能な限り削減し、起こりうる苦痛を最小にしたものである。

三つの R は統一的な概念として見なされるべきであり、すべての種類の科学的、経済的及び人道的な利益を得るための挑戦であり、機会であると見なされるべきである。

## 引用文献

1. Russell, W.M.S. & Burch, R.L. (1959). The Principle of Humane Experimental Technique. 238pp. London: Methuen.
2. Smyth, D. (1978). Alternatives to Animal Experiments. 218pp. London: Scolar Press.
3. Council of Europe. (1986). European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. 51pp. Strasboug: Council of Europe.
4. EEC. (1986) Council Directive of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions

of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal of the European Communities L358, 1-29.

5. US Congress. (1986) Alternatives to Animal Use in Research, Testing and Education. 441 Pp. Washington, DC: US Congress Office of Technology Assessment.

6. Howard-Jones, N. (1985). A CIOMS ethical code for animal experimentation. WHO Chronicle 39 (2), 51-56.

---

7. Balls, M., Goldberg, A.M., Fentem, J.H., Broadhead, C.L., Burch, R.L., Festing, M.F.W., Farzier, J.M., Hendriksen, C.F.M., Jennings, M., van der Kamp, M.D.O., Morton, D.B., Rowan, A.N., Russell, C., Russell, W.M.S., Spielmann, H., Stephens, M.L., Stokes, W.S., Straughan, D.W., Yager, J.D., Zurlo, J. & van Zutphen, B.F.M. (1995). The Three Rs: the way forward. ATLA 23, 838-866.

## DECLARATION OF BOLOGNA

### Reduction, Refinement and Replacement Alternatives and Laboratory Animal Procedures

Adopted by the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use  
in the Life Sciences, Bologna, Italy, 31 August 1999

The "Three Rs" of Russell and Burch, *reduction, refinement and replacement*, had their origin in a project initiated in 1954 by the Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), which led to the publication in 1959 of *The Principles of Humane Experimental Technique*, by W.M.S. Russell and R.L. Burch (1). In 1978, David Smyth used the word *alternatives* to define the Three Rs (2).

In their book, Russell and Burch stated that "The greatest scientific achievements have always been the most humane and the most aesthetically attractive, conveying that sense of beauty and elegance which is the essence of science at its most successful". They defined:

*Reduction alternatives* as methods for obtaining comparable levels of information from the use of fewer animals in scientific procedures, or for obtaining more information from the same number of animals.

*Refinement alternatives* as methods which alleviate or minimise potential pain, suffering and distress, and which enhance animal well-being.

*Replacement alternatives* as methods which permit a given purpose to be achieved without conducting experiments or other scientific procedures on animals.

1. Russell, W.M.S. & Burch, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. 238pp. London: Methuen.
2. Smyth, D. (1978). *Alternatives to Animal Experiments*. 218pp. London: Scolar Press.

The participants in the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences strongly endorse and reaffirm the principles put forward by Russell and Burch in 1959. Humane science is a prerequisite for good science, and is best achieved in relation to laboratory animal procedures by the vigorous promotion and application of the Three Rs.

The "Three Rs" should serve as a unifying concept, a challenge, and an opportunity for reaping benefits of every kind - scientific, economic and humanitarian.

## BACKGROUND TO THE THREE RS DECLARATION OF BOLOGNA

Conclusions and Recommendations on the Reduction, Refinement and Replacement of Laboratory Animal Procedures

Adopted by the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Bologna, Italy, 31 August 1999

### INTRODUCTION

Laboratory animal procedures have made significant contributions to biomedical research in the past, as well as to the safety and efficacy evaluation of chemicals and products of various kinds. Some such use of vertebrate animals will continue to be necessary for the foreseeable future, in the interests of human beings and other animals.

#### *The Origins of the Three Rs Concept*

What are now known as the Three Rs of Russell and Burch, namely, *reduction*, *refinement* and *replacement*, had their origin in a project initiated in 1954 by the Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), which led to the publication in 1959 of *The Principles of Humane Experimental Technique*, by W.M.S. Russell and R.L. Burch (1).

Russell and Burch defined *reduction* as a means of lowering "the number of animals used to obtain information of a given amount and precision", *refinement* as any development leading to a "decrease in the incidence or severity of inhumane procedures applied to those animals which have to be used", and *replacement* as "any scientific method employing non-sentient material which may in the history of animal experimentation replace methods which use conscious living vertebrates". They summed up their main message, as follows:

*If we are to use a criterion for choosing experiments to perform, the criterion of humanity is the best we could possibly invent.*

*The greatest scientific achievements have always been the most humane and the most aesthetically attractive, conveying that sense of beauty and elegance which is the essence of science at its most successful.*

#### *The Acceptance of the Three Rs Concept*

Relatively little attention was paid to the Three Rs concept during the 1960s, but a number of significant developments took place during the 1970s, including the publication of a survey of *Alternatives to Animal Experiments*, conducted for the Research Defence Society by Professor David Smyth, in which he provided a Three Rs definition of alternatives (2):

*All procedures which can completely replace the need for animal experiments, reduce the number of animals required, or diminish the amount of pain or distress suffered by animals in meeting the essential needs of man and other animals.*

The 1980s saw the introduction of a number of national and international laws and conventions with a Three Rs basis, notably, in Europe, the *Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes* (3) and *Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes* (4).

Also in 1986, a report by the US Congress Office of Technology Assessment on *Alternatives to Animal Use in Research, Testing and Education* (5) provided detailed evidence of the broad scope and potential value of the Three Rs concept of alternatives, while in 1985, the Council of International Organisation in the Medical Sciences (CIOMS) published a set of *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals* (6).

#### *The Three Rs Concept Today*

By the end of the 1980s, new laws and guidelines were in place in various parts of the world, which not only recognised Russell and Burch's concept, but placed legal and moral obligations on all concerned, to seek to reduce, refine and/or replace laboratory animal procedures wherever possible.

Much will have been achieved by the end of the 1990s, but, for some time to come, securing the universal implementation of the Three Rs concept will remain a major challenge confronting all those who are in any way involved in the use of laboratory animals in research, testing and education.

The 1st and 2nd World Congresses on *Alternatives and Animal Use in the Life Sciences* were held in Baltimore, USA, in 1993, and in Utrecht, The Netherlands, in 1996. The Executive Committee for the 3rd World Congress put this Declaration before participants in the Congress, in Bologna, Italy, on 31 August 1999, in a year which marked the fortieth anniversary of the publication of *The Principles of Humane Experimental Technique*. The Declaration is based on the conclusions and

recommendations of *The Three Rs: The Way Forward*, a workshop held in Sheringham, UK, on 30 May to 3 June 1995, under the auspices of the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) and the Johns Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT).

## CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

### Legal Controls, and Scientific and Ethical Justification

1. All countries should have a legal framework which actively incorporates the Three Rs into all animal-based research, testing and education.
2. There should be formal and informal mechanisms for the education and training of all scientists and officials involved in any way in animal experimentation, to ensure compliance with the spirit and letter of laboratory animal protection legislation, guidelines and regulations.
3. Any proposed experiments should be subjected to prior and effective expert and independent review, for both scientific and animal welfare considerations.
4. It should be recognised that the assessment and weighing of the likely benefit and likely animal suffering involved in a proposed programme of work are essential parts of the review process whereby permission for the work to proceed is/is not granted.
5. There should be international agreement on levels of animal suffering which should not be permitted in any circumstances, regardless of any potential or likely benefits.
6. It should be regarded as unacceptable for scientific work involving laboratory animals to be exported to other countries, as a means of avoiding scientifically realistic, but more stringent, controls on laboratory animal studies.

### Reduction Alternatives

7. The term *reduction alternatives* describes methods for obtaining comparable levels of information from the use of fewer animals in scientific procedures, or for obtaining more information from the same number of animals.
8. In cases where a choice between species is possible, there is generally no scientific justification for using more of the smaller species than of the larger one.
9. The design of regulatory testing procedures, including the sample sizes required, should be reviewed regularly, as part of a continuous international harmonisation process.

10. All research workers should have adequate training in experimental design and in the proper use of statistical methods.

### Refinement Alternatives

11. *Refinement alternatives* encompass those methods which alleviate or minimise potential pain and distress, and which enhance animal well-being. Pain results from potential or actual tissue damage, such as that caused by injury, surgery or disease, and can lead to distress. *Distress* is an aversive state, in which an animal is unable to adapt completely to stressors and the resulting stress. *Suffering* is a generic term for "undergoing, experiencing or being subject to pain, distress and/or lasting harm".
12. There should be internationally agreed guidelines for the categorisation of animal pain, distress and other adverse effects, including agreement on physiological and behavioural signs for the recognition of adverse effects and for their measurement.
13. Individuals and institutions should be responsible to their national authorities for prospective and retrospective assessments of the nature and levels of adverse effects likely to be experienced and actually experienced by the animals used in each programme of work.
14. Research on refinement and animal welfare should be encouraged and funded, including studies on the effects on the quality of data produced of procedures aimed at minimising pain and distress.

### Replacement Alternatives

15. *Replacement alternatives* are methods which permit a given purpose to be achieved without conducting experiments or other scientific procedures on animals.
16. The range of replacement alternative approaches includes the following:
  - a. The improved storage, exchange and use of information from animal experiments already carried out, so that unnecessary repetition can be avoided.
  - b. The use of physical and chemical techniques, and of predictions based on the physical and chemical properties of molecules.
  - c. The use of mathematical and computer modelling, including modelling of structure-activity relationships, molecular modelling and the use of computer graphics, and modelling of biochemical, pharmacological, physiological, toxicological and behavioural processes.

d. The use of "lower" organisms with limited sentience (e.g. invertebrate animals, plants and microorganisms).

e. The use of early developmental stages of vertebrates, before they reach the point at which their use for experimental and other scientific purposes is controlled.

f. The use of *in vitro* methods, including the short-term maintenance of perfused organs, tissue slices and cell suspensions, and cell and tissue culture proper. For most *in vitro* studies, human cells and tissues should be used in preference to those isolated from laboratory animals, provided that the unavoidable ethical, legal and safety considerations have been fully satisfied.

g. Human studies, including epidemiology, post-marketing surveillance, and the ethically approved use of human volunteers.

17. In the case of regulatory efficacy, safety and toxicity testing, research specifically aimed at providing validated replacement alternative procedures should be encouraged and funded.

18. Ideally, the development of replacement alternative methods should be based on a sufficient understanding of the molecular and cellular mechanistic basis of the phenomenon being measured or studied.

19. Since it is likely that, in many circumstances, an animal test could not be replaced by a single replacement alternative method, the development, evaluation and optimisation of stepwise testing strategies and integrated testing schemes should be encouraged.

20. The acceptance and use of a satisfactorily validated replacement alternative method, and the cessation of use of the equivalent animal procedure, should not be seen as options, but as requirements.

#### **Education and Training**

21. A clear distinction should be made between *education*, which aims to contribute to the development of proper attitudes toward the use of animals and alternatives, and the *training*, which aims to contribute to the proper care and use of animals and to ensuring that experiments are of the highest quality.

22. The responsible authorities should require all those with any practical involvement in laboratory animal work to take accredited courses, with emphasis on the Three Rs and the legal obligation to use replacement alternative methods wherever possible.

23. School, college and undergraduate university students should not be forced to conduct regulated procedures, but should be provided with alternative options.

#### **CONCLUDING STATEMENT**

The participants in the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the *Life Sciences* endorse the principles put forward by Russell and Burch in 1959 (1), and reaffirm that only humane science is good science, which is best achieved by vigorous promotion and application of the Three Rs (*reduction, refinement and replacement alternatives*).

The only acceptable animal experiment is one which has been approved by an ethical review committee, uses the smallest possible number of animals, and causes the least possible suffering which is consistent with the achievement of its scientific purpose.

The Three Rs should be seen as a unifying concept, and as a challenge and an opportunity for reaping benefits of every kind - scientific, economic and humanitarian.

#### **References**

1. Russell, W.M.S. & Burch, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. 238pp. London: Methuen.
2. Smyth, D. (1978). *Alternatives to Animal Experiments*. 218pp. London: Scolar Press.
3. Council of Europe. (1986). *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes*. 51pp. Strasbourg: Council of Europe.
4. EEC. (1986). Council Directive of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities* L358, 1-29.
5. US Congress. (1986). *Alternatives to Animal Use in Research, Testing and Education*. 441Pp. Washington, DC: US Congress Office of Technology Assessment.
6. Howard-Jones, N. (1985). A CIOMS ethical code for animal experimentation. *WHO Chronicle* 39 (2), 51-56.
7. Balls, M., Goldberg, A.M., Fentem, J.H., Broadhead, C.L., Burch, R.L., Festing, M.F.W., Frazier, J.M., Hendriksen, C.F.M., Jennings, M., van der Kamp, M.D.O., Morton, D.B., Rowan, A.N., Russell, C., Russell, W.M.S., Spielmann, H., Stephens, M.L., Stokes, W.S., Straughan, D.W., Yager, J.D., Zurlo, J. & van Zutphen, B.F.M. (1995). The Three Rs: the way forward. *ATLA* 23, 838-866.



## 分担研究報告書

### in Vitro 試験法を用いた化粧品の安全性評価法 及びその国際的ハーモナイゼーションに関する研究

分担研究者

高松 翼、日本化粧品工業連合会、技術委員会安全性部会

#### 要約

化粧品分野においては、EU 化粧品指令第 6 次改正に定められる猶予期限（2000 年 1 月 1 日）と動物試験の禁止期限（2000 年 6 月 30 日）が急迫してきたことから、昨年度に引き続き、第 7 次改正を含めたその後の動向追跡を中心に検討を行った。最終製品に対する試験禁止と原料試験に対する ECVAM を中心とする個別対応が、昨年度末時点の方向として示されていたが、EU が抱える種々の政治的な問題から、依然検討保留の状態が続いている。現時点では、第 7 次改正では時間的な問題から、対処が困難な状況となっており、再度の延期が最も妥当な対処として予測される。今年度は EU 第 24 局、化粧品及び非食品科学諮問委員会での検討状況を主体に調査研究を実施したが、化粧品原料安全性評価ガイダンス改定第 3 版において、光毒性、皮膚腐食性、経皮吸収性の 3 試験法が付属資料に追加されたことが確認でき、更に皮膚腐食性との関連においてヒト試験に対する考え方が示されたことから、昨年度調査と第 7 次改正の方向は確認することができた。OECD においては、本年度末になって光毒性及び皮膚腐食性代替法のガイドライン草案が各国コーディネーター宛てに送付され、コメントの収集に入った。既に草案を別途入手していた光毒性代替試験法については、この公示に備え、業界としてのコメント、要望事項などのまとめを行った。

#### A. 研究目的

動物を用いた安全性試験について、動物愛護団体等からの反対運動が活発に行われており、欧米では動物実験を行っている化粧品会社の製品の不買運動が行われたり、米国パークレー市のようにウサギを用いた眼粘膜刺激性試験を禁止するところもある。また、EU では適切な代替法があればとの前提つきではあ

るが、2000 年には化粧品に関する動物実験を禁止する予定で検討が進められてきた。OECD や EU でも in vitro の試験法を用いた眼刺激性試験、皮膚刺激性試験、皮膚光毒性試験、経皮吸収試験等のガイドラインやそのバリデーションのあり方、それを用いた評価スキームについて検討されてきた。

一方、わが国では厚生科学研究の基で in vitro の眼刺激性評価法については幅広い研

究が行われ、その結果を欧米に発信しているが、その他の試験法については、経験が浅いとともに情報も少ないことから、OECD や EU への対応に苦慮している。

そこで、本研究では、OECD 及び EU で検討の進んでいる上記試験項目について調査するとともに、文献的、実験的に検討することにより、その妥当性や問題点について検討する。

## B. 研究方法

文献的に調査するとともに、第三回国際代替法会議、COLIPA の会議に出席し、我が国の考えを述べるとともに、関連情報を収集した。

## C. 研究結果と考察

### 1. EU における化粧品指令第 6 次改正の追跡調査

#### 1.1 昨年度調査結果概要

実験動物を用いて安全性を評価した化粧品原料および最終製品の販売を 1998 年 1 月 1 日より禁止することを定めた EU COSMETIC DIRECTIVE 第 6 次改正<sup>1)</sup> の Article 4.1.i の施行を、2000 年 6 月 30 日まで延期することが、EU 議会により 1997 年 4 月 17 日に決定された。<sup>2)</sup> この決定内容は、2000 年 1 月 1 日までに再検討されることが付記されており、以来、European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) や COLIPA が中心となって代替試験法の再検討、開発が進められてきた。

その結果、皮膚腐食性試験に関しては EPISKIN TEST<sup>3)</sup> 及び RAT SKIN TRANSCUTANEOUS ELECTRICAL RESISTANCE (TER) TEST<sup>4)</sup> が 1998 年 4 月 3 日に、また光毒性試験に関しては 3T3 NRU PT TEST<sup>5)</sup> が 1998 年 5 月 20 日に、ECVAM の Scientific Advisory Committee (ESAC) によって科学的に確立された代替試験法として認められた。この認知は試験が多くのバリデーションガイドラインに基づいて実施されていることが条件として挙げられている。<sup>6)</sup>

<sup>10)</sup>

これらの研究開発動向を前提に、第 7 次改正案として、最終製品の試験禁止、原料についての試験項目ごとの対応が検討されていた。

#### 1.2 第 2 回 COLIPA 代替法シンポジウム出席調査

第 2 回 COLIPA 動物実験代替法シンポジウムが、99 年 3 月 24 日及び 25 日の両日にわたり、ベルギー、ブラッセルにおいて、出席者約 270 名のもと開催された。シンポジウムの基調は、その直前まで EU において議論されていた EU 化粧品指令第 7 次改正案を頭に置いた形で、以下のようにまとめられる。

- 1) 95 年開催の第 1 回シンポジウムに比較して格段の進歩が見られた。
- 2) 最終製品試験については、動物試験を必要としなくなった。
- 3) 原料試験についても、一部の試験法（光毒性、皮膚腐食性）がバリデートされてきた。
- 4) ヒトによる試験には倫理面の問題もあり、安全確認のための試験として位置付ける。
- 5) 中小企業のためのガイダンス、トレーニング等の検討が進行中である。
- 6) 法的な受容、国際的な受け入れが重要である。

既に COLIPA を中心に進められてきた化粧品指令第 7 次改正草案を全面的に支持する形でまとめられていたし、中小企業への対策、法的な受容、国際的な対応など、一歩進んだ議論へと展開しており、その意味では全般的に世界をリードしている状況が伺われた。一方、2000 年 6 月 30 日以降の動物実験全面禁止、そのための検討デッドラインとなる 2000 年 1 月 1 日を定める現行第 6 次改正への対応を目前に控え、今後についてかなり触れられるとされていた関連官庁からの講演者による Regulatory Round Table においては、それほど活発な議論には至らなかった。Commission レベルでの政治的な問題から、シンポジウム寸前に草案の議会提出、会員各国への送付が中止されたこと、併せて草案内容の変更指示

も出されていることなどがその原因と考えられた。その延長上で、Validationはある意味で容易で、法的な受容 (Regulatory Acceptance) が最も重要との観点が強調されていたし、加えて、国際的な受容、Harmonization の問題も指摘されていた。EU 加盟各国間の協調は勿論、OECD との協調にも言及され、その検討の進展状況を巡って OECD 代表との応酬が認められた場面もあった。以下、プログラムに合わせて、主要な講演の概要を示した。

1) SCCNFP 議長、Prof. Kemper

化粧品関連指令においては、主要な役割を果たしている Scientific Committee on Cosmetic Products & Non-food Products intended for Consumers (SCCNFP) の議長の立場で全体的な動向が俯瞰された。消費者の安全と動物福祉の両者を満足させると言うジレンマが強調された上で、最近の活動として、Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation の第 2 版が出来上がり、Commission での総合検討に移っていることが挙げられた。第 7 次改正については、あまり触れられず、草案が廃案になったとのうわさもあると言った程度に止められた。いずれにしても独立性と透明性の確保が強調されていた。

2) DGXII 局長 (科学、研究開発担当)、Dr. Gerold

代替法開発における研究プログラムを担当する DGXII の局長の立場で、1998 年から 2002 年の研究開発プログラム (5 次フレームワークプログラム) について触れられ、Quality of Life & Management of Living Resources、The Cell Factory 等のプロジェクト紹介があった。眼刺激性試験に関する研究プログラムは、業界からの申請が近々出されることになっていること、また KC、MC、LC を含めた 3 次元モデルの開発なども挙げられているとの報告があった。4 次フレームワークプログラムでは 22 プロジェクト (139 研究機関) が動き、内 50% がアカデミア、34% が研究機関、残りが大きな業界プログラムに分割され、in

Vitro 研究では 8.6 Mecu が消費されたと報告された。動物使用数の観点では、97 年統計において、年間 10 万匹の内、化粧品は 35000 匹であり、0.35% に相当することが示された。

3) 業界代表、L'oreal ライフサイエンス 研究所長、Dr. Leclair

業界代表として考え方及び進行状況のまとめが報告された。92 年に SCAAT が設立され、眼刺激性、感作性、経皮吸収、腐食性 (一次刺激性を含む)、光毒性のタスクフォースが各々検討を行なってきたし、バリデーションに向けても、プレバリデーションから本バリデーションへの流れ、あるいはプレイクシオンモデルの設定とそれによるバリデーションなどの考え方を打ち出してきた。一方、化粧品業界が担当する範囲は、経皮吸収試験を中間に全身毒性に関する代替検討は、化学品業界の担当であることが強調されていた。95 年第 1 回シンポジウムからの大きな動きとして、最終製品については、DGIII 局との中小企業対象のガイドライン作成検討が終了すれば、禁止を受け入れられる所まで来たことがまず挙げられた。原料の試験については、短期的に解決できるものとして OECD においても検討されている光毒性、経皮吸収、腐食性、限定された眼刺激性が、中期的には一次刺激性の全面代替が挙げられた。一般的な話として、99 年 1 月 SCCNFP は、ヒト試験を代替法としては考慮しない可能性を示唆する結論を出していることが報告された。感作性は、ICCVAM (米国官庁間代替法バリデーション委員会) で LLNA 法が採択されているし、ECVAM/COLIPA でも ZENECA が中心となってプレバリデーションが行なわれていると報告された。

4) 個々の試験法に関する状況報告

\* 光毒性、Spielman、独、ZEBET

光毒性に関しては、ECVAM におけるバリデーションが終了し、DGIII、DGXXIV (SCCNFP)、DGXII などの関連規制局が中心となり、法規制への取り込みを検討しているし、OECD の方でも最初の代替法として最終検討段階に入っている。米国に

においては、ICCVAM において検討が行なわれている。方法は 3T3 細胞を用いる NRU アッセイである。これに関しては COLIPA より、試験法プロトコル、アッセイに用いるコンピューターソフトウェア、OECD ガイドライン草案、バリデーション関連論文、紫外線吸収剤についての試験結果などの情報パックが会員に配布されている。

- \* 眼刺激性、deSilva、仏、L'oreal  
既に行なわれてきたバリデーションは成功に至らなかったとの前提で、1997 年末のワークショップ開催からの経緯が説明された。これに端を発した研究プログラム、即ち現在の方法では検出することの出来ない痛み、損傷からの回復過程、あるいは眼刺激性そのものの機構などの長期的研究を先に挙げた DGXII の 5 次フレームワークプログラムの中で検討することが報告された。5 月には最終的な予算申請が提出される予定である。この前に実施されてきた各国において実施されたバリデーション研究の結果から短期的な解決策を求める ECVAM のプログラムについてはあまり言及されず、日本の結果 (MHW/JCIA) については初めて論文が出たとの表現に止まっていた。
- \* 皮膚腐食性及び一次刺激性、Fentem、英、Unilever  
皮膚一次刺激性については、プレバリデーションに入っていることが報告され、腐食性試験法として ECVAM がバリデートしたラット皮膚 TER 法その他、Skin2ZK1350 (米国) 及び EpiSkin (仏) を用いて、R34、35 表示が必要な刺激性物質 60 種について検討が開始されたと報告された。その他、OECD では腐食性表示に関わる OECD Advisory Group of Harmonization が段階的 (Tier 方式) なアプローチを開始しており、98 年 12 月に SAR、pH、Epiderm、EpiSkin、PrediSkin などのビトロ試験 1 乃至 2 種、Non-perfused Pig Ear 試験を検討している。ここでは、20 物質、3 物

質/研究機関程度の規模となっている。同時にヒト試験の標準化も検討されていることが報告された。

- \* 感作性、Baskettar、英、Unilever  
大きな障害の予測と言う観点では、構造相関プログラムの DEREK と経皮吸収ファクターを考慮することにより、かなり近いところまで到達できるとの見解が示された。即ち、化学的な反応性と経皮吸収により、化学構造に対して警告を発することが可能との見解である。最終的にはヒトに対する危険性評価を実施することになるが、この部分で十分に固めきれていないことが挙げられ、ベンチマーク (標準物質) の使用の可能性を示唆していた。
  - \* 経皮吸収、Diembeck、独、Beiersdorf  
OECD ガイドラインの動きがあるが、米国、カナダあるいはノルウェーを説得するためのデータベース確立が課題となっている。意見の食い違いもあり、4-5 月には外部の評価パネル検討会、6 月には拡大運営委員会が予定されており、これらが終了すれば、受け入れにかなり近い状態になると予測が示された。
  - \* ヒト試験、Elsner、独、Friedrich 大学 (SCCNFP 委員)  
98 年 11 月 SCCNFP は、ヒト試験は動物試験の代替法として考慮しない旨のガイドラインをだした。即ち、ヒト試験は確認のための試験であって、それ自体が安全性の評価に用いられるべきものではないと言う考え方が出されている。試験法としては、ROAT (Repeated Open Application Test) が考えられているし、これらに関しては EEMCO/ECVAM の報告があるとされていたが、内容については触れられなかった。
- 5) 最終製品安全性試験における代替法  
最終製品の代替法による試験については、いくつかの例が示されたが、1) 原料データからの予測 (問題原料の有無)、2) 物理化学的な性質からの検討、3) 被曝量、頻度からの検討、4) 参照同類製品 (陰性と陽性) を用

いての代替法試験、5) ヒトによる確認試験と言う流れが一般的であり、特に多くの製品についてのデータベースの重要性が示されていた。一方で、これが中小企業など外部試験機関を用いなければならない所には、大きな問題とされていたし、それを受託する試験機関にとっても守秘義務との関連で問題となり、何らかのガイドラインの必要性が指摘されていた。以下にそれらの例を示した。

- \* 最終製品に関する代替法による刺激性試験フローについては、種々検討したが、最終的にEpiSkinを採用したとの前提で、原料試験結果の考察、最終製品の物理化学的性質、最終製品の使用方法、暴露量の評価、問題原料がある場合には代替法による配合濃度の決定、参照製品についての代替法試験と同種製品についての製品試験結果データベースとの比較による判定、ヒトによる確認試験の流れが示された。また、眼刺激性についてはBCOPとHET-CAMの組み合わせが使用されていた。データベースには1000製品程度のデータが保存されているとし、これらの試験フロー及びデータベースにより、動物を用いた試験フローと同等の確信が得られるようになったと述べられた。
- \* 眼刺激性の例では、HET-CAM、NRR、再構成皮膚の組み合わせ試験が示されたが、やはりvivoの試験結果を持っている成分を使用、参照物質を含めた代替法による試験、倫理的に受容可能な眼科医を含めたヒト試験のフローが提唱されていた。ここで、話題を呼んだのが、ヒト試験(40名)で眼科医を含めた試験であったが、3週間の通常条件下の使用とされていたものの、代替法で刺激物質と判定されており、まずは何故倫理的に問題無くヒト試験に進めるのかなどの議論があった。この議論は、この試験の結果として涙膜Breaking、炎症等が報告されていたことも火をつける原因となった。勿論、パネルにはお金が支払われているし、コンサルも取付けているとの説明がされたが、

眼刺激性が代替可能(ヒト試験との組み合わせにより)との雰囲気に対する反発もあったものと思う。

#### 6) 法規制及びまとめの報告

この項目については、特筆すべき点はない。ともかく、動物福祉と消費者の安全確保との狭間に立ち、更に国際的なプレッシャーを受け、加えてEU政府の崩壊と法規制関係者の悩める姿を見たとの印象であった。明確に方向が示されたのは、中小企業用のガイドライン策定であり、DGIII局とCOLIPAにより、2000年6月完成を目処に検討しているとの報告が目目されたのみであった。

冒頭にも述べたが、Commissionの再編成、議会選挙などEU政府としての機能の回復が先決課題であり、その意味で具体的な今後の方向性が見えるべきであったのに見えなかったと言うのが本シンポジウムの全般的な印象である。従って、冒頭の基調として挙げた6項目がどのような形で法規制に反映されて行くのかについての推測は避けるが、少なくとも感覚的な全面禁止ではなく、できることからできるだけ早くと言う精神が表現されていたとの印象を持ったし、その意味で大きな進展が見られたものとする。

#### 1.3 EU第24局における検討状況の調査

前項におけるCOLIPAシンポジウムにおいて、EUの今後の動向が明らかとされなかったことから、調査方向をEU第24局のScientific Committee On Cosmetic Products and Non-Food Productsに切替えた。主としてホームページに掲載されている同委員会の結論、意見あるいは会議記録等から検討を行った。最も鍵となる資料は、99年1月20日で採択された“Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation”改定第3版(添付資料-1)であり、関連する付属資料として次のものが挙げられる。

Annex 2: the use of methods alternative to animal studies in the safety evaluation of

cosmetic ingredients and combinations of ingredients

Annex 3: guidelines for in vitro assessment of the phototoxic potential of UV-filters

Annex 7: guidelines for the safety assessment of the finished cosmetic product

Annex 9: in vitro methods to assess skin corrosivity

Annex 10: in vitro methods to assess percutaneous absorption 及び Basic criteria for in vitro assessment

Annex 11: guidelines on the use of human volunteers in the testing of potentially cutaneous irritant cosmetic ingredients

Annex 12: guidelines on the use of human volunteers in compatibility testing of finished cosmetic products

既に第 7 次改正に予測されていた光毒性、皮膚腐食性、経皮吸収性（代替法の使用に関しての基本的な考え方を含む。）の代替法試験が付属資料中に規定されている他、ヒト試験の倫理的問題をも規定する付属資料が皮膚腐食性との関連で添付されており、OECD で検討され、日本からも倫理的問題、実用上の問題などを既に提起しているヒトを用いる腐食性試験法に対する批判にも対処がなされたものと考えられる。

もう一つの鍵となる文書が、第 6 次改正に定める年度ごとの代替法開発の進捗状況を示す報告書であるが、98 年度報告書の公開が遅れていたものの、これに相当すると考えられる文書（添付資料-2）が、同様に 6 月 23 日付けで採択されている。内容的には、上記と同様に既に情報を得ている第 7 次改正の方向を支持するものと考えられた。

一方、第 24 局は、EU 政府の改組と同時に Health and Consumer Protection として改組され、同時に化粧品に関する法規制を担当する第 3 局も Enterprise として改組された。このような政治的な動きが中心となり、検討は第 7 次改正案に沿った方向で進められてはいるものの、実際に第 6 次改正の執行期限前に第 7 次改正を発効させることは困難な状況にあると判断される。従って、最も妥当な推測

は、現第 6 次改正の再度の延期ではあるが、具体的な方策を示さないままの再度の延期にも EU 新政府の抵抗があることから、事態は混沌としたまま今日を迎えている。

#### D まとめ

第 6 次改正の追跡調査の結果は、上述の如く最終的な方向を見出せないまま今年度末を迎えた。EU の動向には、米国も注目しており、99 年度末に行われた欧米間のビジネスダイアログ (Transatlantic Business Dialogue、TABD) においても、要注意課題としての提起がなされており、早期警告システムの対象となっている。<sup>10</sup> 代替法は、科学的な議論から、現在 WTO を含めた政治的な議論への展開を示していることから、今後は既に妥当との判断が EU 内でなされている光毒性、皮膚腐食性、経皮吸収性代替法を中心に OECD での検討状況を更に注目していく必要がある。ECVAM では、既に皮膚刺激性試験の Pre-validation 研究<sup>12</sup> が 2000 年 3 月末終了を目標に進行中であり、この面でもフォローが必要である。また、EU 各国の動きでは、仏にて眼刺激性ポテンシャルの試験法としての Cytotoxicity after diffusion on an Agarose gel とウサギ角膜繊維芽細胞薄層 (NR) が 99 年 12 月 30 日に公示されたことを付け加えておく。

#### 2 光毒性代替法に関する予備的な検討

光毒性代替法については、COLIPA が起草し、OECD に提出した試験法案（添付資料-3）が入手できたことから、同試験法の OECD からの公示に備え、予備的な検討を行った。結果は、羅列の形ではあるが、添付資料-4 に示した。同試験法については、動物を用いる試験法を含めて 1999 年度中には公示に至るものと予測されていたが、結局本年度末に公示に至り、OECD における検討の全般的な遅れを示唆させる結果となった。いずれにしても、本検討結果は研究成果として留保し、他の研究成果とともに反映させていきたい。併せて、皮膚腐食性についても公示に至ったことを付け加えておく。

### 3 米国における状況調査

米国の状況を代表する機関として、ICCVAM (Inter-agency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) が挙げられるが、各試験法ごとに Peer Review を行う方式が取られている。皮膚腐食性代替法としての Corrositex が、ECVAM の結論とは逆に、妥当な方法として認められたことが注目される。また、完全な代替法ではないが、感作性試験法としての Local Lymph Node Assay も妥当な方法としての認知がなされている。また、カリフォルニア州など一部の州法で動物実験禁止を提起するものが認められているが、法成立には至っておらず、やはり注目すべきは上記の ICCVAM の動向であろう。

#### E 参考文献

- 1) Council Directive 93/35/EEC, 6th Amendment of 76/768/EEC; Official J European Comm., No. L151, P32, 1993
- 2) Commission Directive 97/18/EC of 17 April 1997; *ibid.*, No. L114, 1.5., P43, 1997
- 3) Statement on the Scientific Validity of the EPISKIN Test (An In Vitro Test for Skin Corrosivity); ATLA, 26, 278-280, 1998
- 4) Statement on the Scientific Validity of the Rat Transcutaneous Resistance (TER) Test (An In Vitro Test for Skin Corrosivity); *ibid.*, 26, 275-277, 1998
- 5) Statement on the Scientific Validity of

the 3T3 NRU PT Test (An In Vitro Test for Phototoxicity); ATLA, 26, 7-8, 1998; A Study on UV Filter Chemicals; 26, 385-386, 1998

6) Balls, M. et al; *ibid.*, 18, 303-337, 1990

7) Balls, M., et al; *ibid.*, 23, 120-147, 1995

8) Balls, M., et al; *ibid.*, 23, 884-886, 1995

9) Annon.; Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test method; P60, Paris, OECD, 1995

10) Annon.; Validation and regulatory Acceptance of Toxicological Test Methods. A Report of the ad hoc Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods; P105, Research Triangle Park: NIEHS, 1997

11) The Rose Sheet; P3, November 29, 1999

12) Pre-validation of In Vitro Tests for Acute Skin Irritation; *ibid.*, 27, 221-223, 1999

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし



Europa

The European  
Commission

Health and  
Consumer Protection



## Health and Consumer Protection

Consumer Health Protection ⇄ Scientific Committees ⇄ Scientific Committee for  
Cosmetic Products, and Non-food Products intended for Consumers ⇄ Outcome  
of discussions

Opinion on the use of alternative methods to animal testing in the safety evaluation of cosmetic ingredients or mixtures of ingredients (with three annexes) and the updating of notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation (with two annexes) adopted by the SCCNFP at the plenary meeting of 20 January 1999

### SUMMARY

The opinion concerns :

a- the status of alternative methods to animal testing for the safety assessment of cosmetic ingredients in January 1999. The SCCNFP is of the opinion that three *in vitro* methods to assess skin corrosivity and phototoxicity have been validated and can be considered applicable to the safety evaluation of cosmetic ingredients or mixtures of ingredients. These methods are the "Rat Skin Transcutaneous Electrical Resistance Test" and the "EPISKIN Test" for the assessment of skin corrosivity, and the "3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test" for the assessment of phototoxicity.

The SCCNFP has considered the possible usefulness of the various existing *in vitro* methodologies to evaluate the percutaneous absorption of cosmetic ingredients and will define a set of minimal criteria needed for the acceptance of *in vitro* percutaneous absorption studies for the evaluation of toxicological profile of cosmetic ingredients.

b- the updating of the Notes of Guidance (XXIV/1878/97) which includes guidelines on the use of human volunteers in the testing of potentially cutaneous irritant cosmetic ingredients or mixtures of ingredients and an opinion on the microbiological quality of finished cosmetic products.

c- the issues regarding alternative methods and the dossier to be discussed during the year 1999.

#### 1. Mandate to the SCCNFP (XXIV/1890/98)

1.1 The SCCNFP shall act as a resource of scientific expertise to the European Commission, with regards to the development of



alternative methods. To that effect they will regularly meet with representatives from the concerned parties to :

- give pro-active advice on research proposals and on-going studies
- offer, as appropriate, peer reviews of study data.

However, such advice in no way prejudices the right of the SCCNFP to reject data previously discussed, if the scientific standard of the work is considered inappropriate.

- The SCCNFP shall serve as an expert resource, as appropriate, to those services of the Commission charged with the validation of alternative methods. Specifically, they should offer expert guidance in the design and applicability of test methods, the selection of test materials and communication of results as they apply to cosmetic products.
- The SCCNFP shall, on the request of the appropriate Commission services, review data submitted on *in vitro* methods that have been assessed and validated by the services of the European Commission, or could be considered appropriate for the replacement of methods using animal testing. The SCCNFP shall give an opinion, and offer guidance as appropriate, on the applicability of such tests in the evaluation of the safety of cosmetic ingredients and products.
- The SCCNFP should encourage the use of appropriate *in vitro* methods for use in the safety evaluation of cosmetic ingredients and products. To this end, it shall consider data from *in vitro* tests that are submitted in support of safety dossiers from the Industry, if the scientific design, justification and data presentation of such studies are considered of an acceptable scientific standard.
- Upon request, the SCCNFP shall advise the European Commission on the status of alternatives to animal testing in cosmetics on an on-going basis and in particular, in accordance with Article 4, 1(1) of the EU Cosmetic Directive 76/768/EEC.

Although this mandate has been developed in relation to cosmetic ingredients, it is envisaged that scientifically sound non-animal methods for safety assessment will have broad application.

1.2. The SCCNFP was requested to continuously update the Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for their Safety Evaluation as stated on page 8 of the 2<sup>nd</sup> Revision, adopted by the former SCC (Scientific Committee on Cosmetology) on January 16<sup>th</sup>, 1997.

Due to the almost complete review of the former SCC, and the presence in the SCCNFP of experts on other disciplines, it was decided to include technical modifications to the content of the Notes, such as Guidelines for Human Testing, as it seems

appropriate to give advice on this new aspects.

## **2. Background**

In a note from the responsible Commission Service of August 11<sup>th</sup> 1998, with the subject to review on the status of alternative methods to animal testing in the safety evaluation of cosmetic ingredients, it is stated:

"... it would be appreciated if the summary on the status of alternative methods for safety assessment of cosmetic ingredients could be available by the end of January 1999 at the latest".

The Specific Working Party (SPW) of the SCCNFP "Alternatives to Animal Testing & Dossiers" was established on November 14<sup>th</sup> 1997 (during the 1<sup>st</sup> Plenary Meeting of the SCCNFP) and was put into operation in January 1998. The SPW met on Feb. 16<sup>th</sup>, March 4-5<sup>th</sup>, March 24-25<sup>th</sup>, April 20-21<sup>st</sup>, May 12-13<sup>th</sup>, June 16<sup>th</sup>, Sept. 22<sup>nd</sup>, Nov. 24<sup>th</sup>, Dec. 10<sup>th</sup>. It met with representatives of the concerned Commission Services, of ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods) and with representatives of the European Cosmetic Industry.

### **3. Opinion on the Use of Alternative Methods to Animal Testing in the Safety Evaluation of Cosmetic Ingredients or Mixture of Ingredients**

#### **3.1. *In Vitro* Methods to Assess Skin Corrosivity in the Safety Evaluation of Cosmetic Ingredients or Mixtures of Ingredients**

ECVAM has concluded positively the validation of two *in vitro* methods to assess the skin corrosivity potential of several chemicals, including 60 agents employed as cosmetic ingredients.

The SCCNFP considers that in the safety evaluation of chemicals intended to be used as cosmetic ingredients, when corrosivity potential cannot be excluded, they should be tested by the "Rat Skin Transcutaneous Electrical Resistance (TER) Test" or by the "EPISKIN Test", before testing for irritancy on animals or humans. An opinion of the SCCNFP has been adopted during its Plenary Session on November 25<sup>th</sup>, 1998 (SCCNFP/0070/98Final, November 1998).

The guideline on the use of TER and EPISKIN methods has been presented by ECVAM to OECD (98/III/COS/21) and it is now ready for approval. Annex 1.

#### **3.2. *In Vitro* Methods to Assess Phototoxicity in the Safety Evaluation of Cosmetic Ingredients or Mixtures of Ingredients**

As reported in the "Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation" (XXIV/1878/97) adopted by

the former SCC, all chemicals which can absorb UVA and/or UVB light may change their molecular configuration and may undergo further biological reactions of toxicological relevance for consumers. The former SCC as well as the present SCCNFP request for all such chemicals routine testing for phototoxicity.

Animal models have not been validated for testing for phototoxicity.

ECVAM, in cooperation with COLIPA (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association), has concluded a series of studies representing pre-validation, validation and application to cosmetic ingredients of one *in vitro* method, named "3T3 Neutral Red Uptake, Phototoxicity Test (3T3 NRU PT)".

The principle of the method is based on a comparison of the cytotoxicity of a chemical when tested in the presence and in the absence of exposure to a non-cytotoxic dose of UVA/visible light.

The predictive value of this method for a potential human phototoxic chemical has been demonstrated to be between 95 and 100%.

The method has been demonstrated to be able to identify UV filter chemicals which are non-phototoxic for consumers and which are employed in cosmetic products. A guideline for testing UV light absorbing chemicals by using 3T3 NRU PT has been presented to OECD.

An opinion of the SCCNFP has been adopted during its Plenary Session on November 25<sup>th</sup>, 1998, proposing the use of 3T3 NRU PT test as a method for testing UV light absorbing cosmetic ingredients, or mixtures of ingredients for phototoxic potential (SCCNFP/0069/98 Final, November 1998): Annex 2.

### **3.3. *In Vitro* Methods to Assess Percutaneous Absorption of Cosmetic Ingredients**

The assessment of the percutaneous absorption of a given cosmetic ingredient has primary relevance in the procedure for evaluating the safety of cosmetics for consumers. The need to develop a series of toxicological studies as a new cosmetic ingredient depends very much on the knowledge of the percutaneously absorbed dose which could be distributed systemically in the human body (XXIV/1878/97).

In the last few years, two OECD Proposals to evaluate percutaneous absorption by *in vivo* or *in vitro* methods have been presented, but none of them has been accepted in the regulatory system yet.

COLIPA has presented a technical document on *in vitro/in vivo* percutaneous absorption, reporting data and protocols in use since many years by several cosmetic companies, in the evaluation of the safety of hair dyes, UV filters and some other cosmetic ingredients.

The data presented include technical information on methodologies used and contain technical details in relation to the systems developed to assess percutaneous absorption, the application of the test substance and the conditions during the analysis, the type of the skin and the species from which it derives, a series of comparisons between different species of skin and different systems (namely *in vitro* Vs *in vivo*) some intra-assay and inter-laboratory comparisons, the evaluation of the results.

The SCCNFP has reviewed this documentation submitted by COLIPA and agrees with the rationale for using *in vitro* methods to evaluate the percutaneous absorption as it was already recommended in the "Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation" (XXIV/1878/97).

---

However, the SCCNFP considers relevant to define in a short time a set of minimal criteria needed for the acceptance of *in vitro* percutaneous absorption studies to be evaluated when the dossiers of these cosmetic ingredients for their inclusion in the Annexes of Cosmetic Directive 76/768/EEC are submitted.

An opinion of the SCCNFP was adopted during its Plenary Meeting on January 20<sup>th</sup> 1999, proposing the use of *in vitro* methods to assess percutaneous absorption of cosmetic ingredients (SCCNFP/0088/98 Rev 2, January 1999): Annex 3.

#### **4. Updating of Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for their Safety Evaluation**

##### **4.1. Guidelines on the Use of Human Volunteers in the Testing of Potentially Cutaneous Irritant Cosmetic Ingredients or Mixtures of Ingredients**

In the "Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation" (XXIV/1878/97) the former SCC stated that "for an analysis of potential adverse effects of a cosmetic product or ingredient (e.g. irritation, sensitization, non-invasive cutaneous penetration studies) observations on human subjects should be used if available". This opinion was recently expressed also by the present SCCNFP, by considering that tests on animals for skin irritation or (not yet) validated alternative methods may be limited regarding their predictive value for exposure of a human population. The SCCNFP states that confirmatory tests on humans should be scientifically and ethically necessary, provided that the toxicological profile of an ingredient or a mixture of ingredients based on animal or alternative methods is available and that a high degree of safety is to be expected (SCCNFP/0003/98). Therefore, an opinion on the use of human volunteers in the testing of potentially cutaneous irritant cosmetic ingredients has been adopted by the SCCNFP in its plenary session of November 25<sup>th</sup>, 1998 (SCCNFP/0003/98 Final, November 1998): Annex 4.