

# 中华人民共和国国家标准

GB 7919—87

---

## 化妆品安全性评价程序和方法

**Procedures and methods of safety  
evaluation for cosmetics**

1987-05-28发布

1987-10-01 实施

---

中华人民共和国卫生部 发布

# 目 录

1	目的	(1)
2	适用范围	(1)
3	化妆品安全性评价程序	(1)
4	对化妆品原料和化妆品产品安全性评价的规定	(2)
5	化妆品安全性评价试验方法	(2)
5.1	急性皮肤毒性试验	(2)
5.2'	急性经口毒性试验	(2)
5.3	皮肤刺激试验	(3)
5.4	眼刺激试验	(4)
5.5	皮肤变态反应试验	(7)
5.6	皮肤光毒和光变态反应试验	(9)
5.7	人体激发斑贴试验和试用试验	(11)
5.8	亚慢性皮肤毒性试验	(12)
5.9	亚慢性经口毒性试验	(13)
5.10	致畸试验	(14)
5.11	慢性毒性试验	(15)
5.12	致癌试验	(15)
5.13	鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验(Ames 试验)	(16)
5.14	体外哺乳动物细胞的染色体畸变和 SCE 检测试验	(20)
5.15	哺乳动物骨髓细胞染色体畸变率检测试验	(21)
5.16	动物骨髓嗜多染细胞微核试验	(21)
5.17	小鼠精子畸形检测试验	(23)
附录A	实验动物体表面积估算方法	(24)
附录B	化学物质毒性的 LD50 计算方法	(25)
附录C	化学物质的急性毒性(LD50)分级	(27)

# 化妆品安全性评价程序和方法

## Procedures and methods of safety evaluation for cosmetics

### 1 目的

为向广大消费者提供符合卫生要求的化妆品，防止化妆品对人体产生近期和远期危害，特制定本程序和方法

### 2 适用范围

本程序和方法适用于在我国生产和销售的一切化妆品原料和化妆品产品。

### 3 化妆品安全性评价程序

#### 3.1 第一阶段 急性毒性和动物皮肤、粘膜试验

##### 3.1.1 急性毒性试验

3.1.1.1 急性皮肤毒性试验。

3.1.1.2 急性经口毒性试验。

##### 3.1.2 动物皮肤、粘膜试验

3.1.2.1 皮肤刺激试验。

3.1.2.2 眼刺激试验。

3.1.2.3 皮肤变态反应试验。

3.1.2.4 皮肤光毒和光变态反应试验。

#### 3.2 第二阶段 亚慢性毒性和致畸试验

3.2.1 亚慢性皮肤毒性试验。

3.2.2 亚慢性经口毒性试验。

3.2.3 致畸试验。

#### 3.3 第三阶段 致突变、致癌短期生物筛选试验

3.3.1 鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验 (Ames 试验)。

3.3.2 体外哺乳动物细胞染色体畸变和SCE 检测试验。

3.3.3 哺乳动物骨髓细胞染色体畸变率检测试验。

3.3.4 动物骨髓细胞微核试验。

3.3.5 小鼠精子畸形检测试验。

#### 3.4 第四阶段 慢性毒性和致癌试验

3.4.1 慢性毒性试验。

3.4.2 致癌试验。

3.5 第五阶段 人体激发斑贴试验和试用试验。

## 4 对化妆品原料和化妆品产品安全性评价的规定

4.1 凡属于化妆品新原料，必须进行五个阶段的试验。

4.2 凡属于含药物化妆品必须进行动物急性毒性试验、皮肤与粘膜试验和人体试验，但是根据化妆品所含成分的性质、使用方式和使用部位等因素，可分别选择其中几项甚至全部试验项目。

4.3 凡属于化妆品新产品必须进行动物急性毒性试验、皮肤与粘膜试验和人体试验，但是根据化妆品所含成分的性质、使用方式和使用部位等因素，可分别选择其中几项甚至全部试验项目。

4.4 凡进口化妆品应由进口单位提供安全性评价资料。

## 5 化妆品安全性评价试验方法

### 5.1 急性皮肤毒性试验

人体接触化妆品主要途径是皮肤。当评价化妆品及其成分对人体健康的可能危害时，进行皮肤毒性的研究是必不可少的。

5.1.1 目的：确定受试物能否经皮肤渗透和短期作用所产生的毒性反应，并为确定亚慢性试验提供实验依据。

5.1.2 定义：系指受试物涂敷皮肤一次剂量后所产生的不良反应。

剂量表示方法：以敷用受试物的质量 (g、mg) 或以实验动物平均单位体重敷用受试物的质量 (mg/kg) 来表示。

一次敷用受试物引起50%受试动物死亡的剂量，称之为半数致死量 (LD50)。LD50 值的单位为 mg或 g/kg 体重。

5.1.3 动物的准备：选用两种性别成年大鼠、豚鼠或家兔均可。建议试验起始动物体重范围为大鼠200~300g, 豚鼠350~450g, 家兔2.0~3.0kg。

实验动物应在动物笼内观察3~5天，使其适应环境，并观察其健康状况。

正式给药前24h，将动物背部脊柱两侧毛发剪掉或剃掉，注意不要擦伤皮肤，因为损伤能改变皮肤的渗透性，受试物涂抹处，不应少于动物体表面积的10%。各类动物体表面积计算方法见附录A。

5.1.4, 受试物的配制：若受试物是固体，应磨成细粉状，并用适量水或无毒无刺激性赋形剂混匀，以保证受试物与皮肤良好的接触。常用的赋形剂有橄榄油、羊毛脂、凡士林等。若受试物是液体，一般不必稀释。

5.1.5 剂量和分组：将两种性别的实验动物分别随机分为5~6组，若用赋形剂，需设赋形剂对照组。化学物质毒性的半数致死量 (LD50) 计算方法见附录B。

机率单位-对数图解法，每组最好10只动物。各剂量组间要有适当的组距，以使各剂量组产生一系列的毒性反应或死亡率。最高剂量可达2000mg/kg。

5.1.6 试验方法：将受试物均匀地涂敷于动物背部，并用油纸和两层纱布覆盖，再用无刺激性胶布或绷带加以固定，以防脱落和动物舔食受试物，共敷药24h。试验结束后，可用温水或适当的溶剂清除残留的受试物。一般观察一周，若给药4天后仍有动物死亡时，仍需继续观察一周。

给药后注意观察动物的全身中毒表现和死亡情况，包括动物皮肤、毛发、眼睛和粘膜的变化，呼吸、循环、自主和中枢神经系统、四肢活动和行为方式等的变化，特别要注意观察震颤、惊厥、流涎、腹泻、嗜睡、昏迷等现象。

凡是试验过程中死亡的动物和/或有毒性反应的动物，均应进行尸检和肉眼观察。当肉眼可见病变时，还应进行病理组织学镜检。

5.1.7 结果评价：急性毒性分级标准详见附录C。

### 5.2 急性经口毒性试验

当化妆品成分的皮肤毒性低时，很难测得其经皮 LD50, 为了解该化学物质与已知毒物的相对毒性，

以及由于婴幼儿误服化妆品的可能，进行经口毒性试验也很必要。

**5.2.1 定义：**系指受试物一次经口饲予动物所引起的不良反应。剂量表示法同急性皮肤毒性试验。

**5.2.2 动物的准备：**分别选用两种性别的成年小鼠和/或大鼠。小鼠体重18~22g, 大鼠180~200g, 或选择其它敏感的动物。

实验前，一般禁食16h左右，不限制饮水。

**5.2.3 受试物溶液的配制：**常用水或食用植物油为溶剂。若受试物不溶于水或油中，可用羧甲基纤维素、明胶、淀粉做成混悬液。给药最大体积，小鼠不超过0.4ml/20g 体重，大鼠不超过1.0ml/100g 体重。

**5.2.4 剂量和分组：**一般分为5~6个剂量组。每组动物数，5~10. 只，根据所选 LD50 计算方法而定。各剂量组间间距大小，随受试物的毒性作用带宽窄而异。通常以较大组距和较少量动物进行预试，找出其粗略致死剂量范围，然后再设计正式试验的剂量分组。

受试物最高剂量可达5000mg/kg 体重。

**5.2.5 试验方法：**正式试验时，将动物称量，并随机分组，然后用特制的灌胃针头将受试物一次给予动物。若估计受试物毒性很低，一次给药容积太大，可在24h 内分成2~3次给药，但合并作为一日剂量计算。

给药后，密切注意观察并记录动物的一般状态、中毒表现和死亡情况，并进行 LD50 的计算，其方法见附录B。

### 5.2.6 结果评价

急性毒性分级标准详见附录C。

## 5.3 皮肤刺激试验

皮肤刺激是指皮肤接触受试物后产生的可逆性炎症症状。

### 5.3.1 试验方法的原则

**5.3.1.1** 受试物应以一次剂量或多次剂量涂(敷)于健康的无破损的皮肤上。

**5.3.1.2** 每种受试物至少要用4只健康成年动物(家兔或豚鼠)。

**5.3.1.3** 试验均采用自身对照。

**5.3.1.4** 受试物使用浓度，一般情况下，液态受试物采用原液或预计人应用的浓度。固态受试物则用水或合适赋形剂(如花生油、凡士林、羊毛脂等)，按1:1浓度调制。

**5.3.1.5** 凡具有高度皮肤毒性，或pH<2 或 pH>11.5 的化学物质，均不进行本项试验。

### 5.3.2 试验方法

**5.3.2.1 急性皮肤刺激试验(一次皮肤涂抹实验)**

**5.3.2.1.1** 试验前24h, 将实验动物背部脊柱两侧毛剪掉，不可损伤表皮，去毛范围左、右各约3cm×6cm。

**5.3.2.1.2** 取受试物0.1ml(g) 滴在2.5cm×2.5cm 大小的四层纱布上敷贴在一侧皮肤上，或直接将受试物涂在皮肤上，然后用一层油纸覆盖，再用无刺激性胶布和绷带加以固定。另一侧涂赋形剂作为对照。敷用时间一般为24h, 亦可一次敷用4h。试验结束后用温水或无刺激性溶剂除去残留受试物。

**5.3.2.1.3** 于除去受试物后的1、24和48h 观察涂抹部位皮肤反应，按表1和表2进行皮肤反应积分和刺激强度评价。

表 1 皮肤刺激反应评分

红斑形成	积 分
无红斑	0
勉强可见	1
明显红斑	2
中等~严重红斑	3
紫红色红斑并有焦痂形成	4
水肿形成	
无水肿	0
勉强可见	1
皮肤隆起轮廓清楚	2
水肿隆起约1mm	3
水肿隆起超过1mm, 范围扩大	4
总 分	8

表 2 皮肤刺激强度评价

强 度	分 值
无刺激性	0~0.4
轻刺激性	0.5~1.9
中等刺激性	2.0~5.9
强刺激性	6.0~8.0

### 5.3.2.2 多次皮肤刺激试验

5.3.2.2.1 先将实验动物背部脊柱两侧皮肤的毛剪掉或剃掉，去毛范围各为2.5cm×2.5cm。

5.3.2.2.2 取受试物0.1~0.5ml(g) 涂抹在一侧皮肤上，另一侧涂赋形剂作为对照，每天涂抹1~2次，连续涂抹14天。每次涂药前应剪毛，不得损伤皮肤，保证受试物与皮肤充分接触。

5.3.2.2.3 每天观察皮肤反应，按表1评分。脱屑积分为1。最高刺激指数为14(观察次数)×8(总积分数)=112。

实验结束，用角膜环钻取涂抹部位皮肤进行病理组织学检查，按表3评分。

### 5.3.3 结果评价

按上述评定标准和指标的最高分值判断受试物的皮肤刺激作用的有无或刺激的强弱。多次皮肤刺激试验刺激指数超过30、病理组织检查积分超过4，应判断受试物对皮肤有明显刺激性。在许多情况下，家兔和豚鼠对刺激物质较人敏感，从动物试验结果外推到人可提供较重要的依据。

## 5.4 眼刺激试验

眼刺激性是指眼表面接触受试物后产生的可逆性炎性变化。

### 5.4.1 试验方法的原则

5.4.1.1 受试物应以一次剂量或多次剂量滴入(涂入)或喷洒眼内。

5.4.1.2 每种受试动物的眼睛应保证无任何炎性反应和眼损伤。

5.4.1.3 每组试验动物数至少4只，采用自身对照，首选动物为家兔。

5.4.1.4 受试物使用浓度一般用原液或用适当无刺激性赋形剂配制的50%软膏或其他剂型。

5.4.1.5 已证明有皮肤刺激性的物质，不必进行本项试验。

### 5.4.2 试验方法

表3 皮肤慢性刺激试验评分标准

皮肤改变	积分	最高分
A. 棘层肥厚 (a) 棘层肥厚 轻度(表皮为正常厚度1.5~3, 倍) 中度(表皮为正常厚度3~1倍) 重度(表皮为正常厚度4倍以上)	1 2	3
B. 角化过度 (B) 颗粒层增厚 (c) 角层增厚	1 1	1
C. 其他表皮改变 (d) 颗粒层缺乏 (e) 角化不全 (f) 表皮细胞空泡化或细胞内水肿或基底细胞液化变性 (g) 海绵形成 棘细胞间水肿 水疱形成	1 1 2	2
D. 表皮坏死 (h) 表皮坏死 轻度(占表皮切面的1/3以下) 中度(占表皮切面的1/3~2/3) 重度(占表皮切面的2/3以上)	8 10 15	15
E. 真皮变化 (i) 真皮结缔组织血管扩张充血或水肿 (j) 胶原纤维变性或解离 (k) 真皮炎性细胞浸润 轻度 中度 重度	1 1 1 2 3	1 3

注：①总分按(a+b+c+d+e+f+g)+(i+j+k) 或(h)+(i+i+k) 选择总分较大者。

② 解离指胶原纤维分离成细小碎片。

#### 5.4.2.1 一次眼刺激试验

5.4.2.1.1 将液态或软膏(0.1ml 或100mg) 受试物滴入(涂入) 实验动物一侧结膜囊内, 另一侧眼作为对照。滴药后使眼被动闭合5~10s, 记录滴药后6、24、48和72h 眼的局部反应, 第4、7天观察恢复情况。观察时应用荧光素钠检查角膜损害, 最好用裂隙灯检查角膜透明度、虹膜纹理改变。

5.4.2.1.2 如果受试物明显引起眼刺激反应, 可再选用6只动物, 将受试物滴入一侧结膜囊内, 接触4s 或30s 后用生理盐水冲洗干净, 再观察眼的刺激反应。

5.4.2.1.3 按表4所列眼损害分级标准积分, 再按表5进行眼刺激强度的评价。

#### 5.4.2.2 多次性眼刺激试验

将受试物原液0.1ml 或配制成的50%软膏约100mg 滴入或涂入一侧结膜囊内, 另一侧眼作为对照, 每日一次, 连续14天。实验结束后, 继续观察7~14天, 按表4分级标准记录眼的刺激反应, 并按表5眼刺激性评价标准进行眼刺激强度的评价。

表4 眼损害的分级标准

眼 损 害	积 分
角膜: A. 混浊(以最致密部位为准) 无混浊 散在或弥漫性混浊, 虹膜清晰可见 半透明区易分辨, 虹膜模糊不清 出现灰白色半透明区, 虹膜细节不清, 瞳孔大小勉强看清 角膜不透明, 由于混浊, 虹膜无法辨认 B. 角膜受损范围 $< \frac{1}{4}$ $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{2}$ $\frac{1}{2} \sim \frac{3}{4}$ $\frac{3}{4} \sim 1$	0 1 2 3 2' 3.
	积分A×B×5 · 最高积分为80
虹膜: A. 正常 皱褶明显加深, 充血、肿胀、角膜周围有轻度充血, 瞳孔对光仍有反应 出血、肉眼可见破坏, 对光无反应(或出现其中之一反应)	0. 1 2
	积分A×5最高积分为10
结膜: A. 充血, 系指睑结膜、球结膜部位 血管正常 血管充血呈鲜红色 血管充血呈深红色, 血管不易分辨 弥慢性充血呈紫红色 B. 水肿 无 轻微水肿(包括瞬膜) 明显水肿, 伴有部分眼睑外翻 水肿至眼睑近半闭合 水肿至眼睑超过半闭合 C. 分泌物 无 少量分泌物 分泌物使眼睑和睫毛潮湿或粘着 分泌物使整个眼区潮湿或粘着	0 1 2 3 0 1 2 3 4 2 3
	总积分(A+B+C)×2最高积分为20 ·
	角膜、虹膜和结膜反应累加最高积分为110



表 5 眼刺激性评价标准

急性眼刺激积分指数 (1、A、0、I) (最高数)	眼刺激的平均指数 (M、I、0、I)	眼刺激个体指数 (I、1、0、1)	刺激强度
0~5	48h后为0		无刺激性
5~15	48h后<5		轻刺激性
15~30	4日后<5		刺激性
30~60	7日后<20	7日后 (6/6 动物<30) (4/6 动物<10)	中度刺激性
60~80	7日后<40	7日后 (6/6 动物<60) (4/6 动物<30)	中度~重度刺激性
80~110			重度刺激性

#### 5.4.3 结果评价

按上述分级评价标准评定，如一次或多次接触受试物，不引起角膜、虹膜和结膜的炎症变化，或虽引起轻度反应，但这种改变是可逆的，则认为该受试物可以安全使用。

在许多情况下，哺乳动物眼的反应较人敏感，从动物试验结果外推到人可提供较有价值的依据。

### 5.5 皮肤变态反应试验

皮肤变态反应是指通过重复接触某种物质后机体产生免疫传递的皮肤反应。化学物质引起的变态性接触性皮炎，属IV型(即延迟型)变态反应。在人类的反应可能是瘙痒、红斑、丘疹、水疱或大疱，动物仅见皮肤红斑和水肿。

#### 5.5.1 试验方法的原则

5.5.1.1 由于接触致敏的发病过程包括致敏(诱导)和激发两个阶段，动物在第一次接触受试物后至少1周，再次给予激发接触。通过激发接触能否引起皮肤反应确定有无致敏作用。

5.5.1.2 实验首选动物为白色豚鼠，每组动物数10~25只。

5.5.1.3 受试物剂量(浓度):致敏(诱导)浓度允许引起皮肤轻度刺激反应(即最高耐受浓度)。激发浓度一般应低于致敏浓度，不得引起原发性刺激性皮肤炎症反应。

5.5.1.4 为避免出现假阳性或假阴性结果，试验中除要求使用的试剂、绷带、胶布均无刺激性外，并设立阳性或阴性对照组。

5.5.1.5 为提高皮肤反应的阳性率(增加敏感性)，通常采用福氏完全佐剂(FCA)，而不影响实验的评价。

注：福氏完全佐剂(FCA)的制备：

轻质石蜡油	50ml
羊毛脂(或吐温80)	25ml
结核杆菌(灭活)	62mg
生理盐水	25ml

制成油包水乳化剂后，经高压消毒备用。

#### 5.5.2 豚鼠最大值试验(皮内和涂皮结合法，简称 GPMT)

5.5.2.1 试验前24h在豚鼠颈背脊柱两侧4cm×6cm 范围内剪毛或脱毛。

注：脱毛剂配方：

可溶性淀粉	6份
滑石粉	6份
硫化钡	6份
颗粒状阳离子表面活性剂	27份

用水调成糊状涂在脱毛部位，保留4min左右，用水冲洗残留脱毛剂。

5.5.2.2 从头部向尾部成对地做三次皮下注射。①注射0.1mlFCA;②注射0.1ml受试物;③注射0.1ml受试物与FCA的等量混合物。如图1所示,各点间距1.5cm。

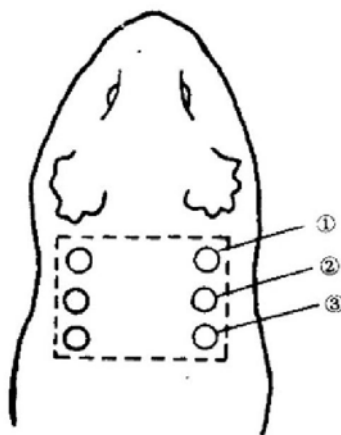


图 1

5.5.2.3 注射后第8天,用2cm×4cm滤纸涂以用适当赋形剂(花生油、凡士林、羊毛脂等)配制的受试物,将其贴敷在上背部的注射部位,持续封闭固定48h,作为第二次致敏。为加强致敏作用,对无皮肤刺激作用的化学物质,可在第二次致敏前24h,在注射部位涂抹10%十二烷基硫酸钠(SLS)。对照组仅用溶剂或赋形剂注射或涂抹。

5.5.2.4 激发接触,即在末次致敏后14~28天,分别用2cm×2cm的滤纸涂以受试物,再次贴敷在上背部两侧的去毛区,持续封闭和固定24h。对照动物作同样处理。

5.5.2.5 激发接触后24、48和72h观察反应,按表6进行皮肤反应强度评分。

表 6 皮肤反应强度评价

	积 分
(I) 红斑形成	
无红斑	0
轻微可见红斑	1
中度红斑	2
严重红斑	3
水肿性红斑	4
(2) 水肿形成	
无水肿	0
轻度水肿	1
中度水肿	2
严重水肿	3
总积分	7

$$\text{平均反应值} = \frac{\Sigma(1) + (2)}{\text{合计动物数}}$$

由于化学物的接触致敏作用并非完全遵循一般的毒理学剂量-反应规律。Maghusson 按动物致敏百分数提出以下分级标准(表7)。

表7 致敏率

致敏率%	分级	强度分类
0~8	I	弱致敏物
9~28	II	轻度致敏物
29~64	III	中度致敏物
65~80	IV	强度致敏物
81~100	V	极强致敏物

#### 5.5.2.6 结果评价

本试验适用于弱致敏物(化学原料)的筛选。凡能引起10%以下动物致敏,即1/15或1/20动物致敏,可认为该受试物为弱致敏物,依以上分级标准类推。由于人群中变态性接触性皮炎的发生因素复杂,受到诸多因素如化学物的使用浓度、接触频数、持续时间及接触时原皮肤的健康状况等的影响,试验所得阳性结果应结合人群斑贴试验和流行病学调查进行综合性分析和评价。

#### 5.5.3 局部封闭涂皮法(Buehler test,简称BT)

5.5.3.1 实验前24h,用脱毛剂将豚鼠背部左侧3cm×3cm 范围区脱毛。

5.5.3.2 将受试物0.1~0.2ml涂在2cm×2cm 滤纸上,并将其敷贴在去毛区,二层纱布一层油纸覆盖,再以无刺激胶布封闭固定,持续6h。第7天和第14天以同样方法重复一次。

5.5.3.3 激发接触,即末次致敏后14~28天,将0.1~0.2ml或低于诱导浓度的受试物斑贴于豚鼠背部右侧2cm×2cm 去毛区(接触前24h脱毛),然后用二层纱布、一层油纸和无刺激胶布固定6h,将斑贴受试物拿掉,24和48h后观察皮肤反应,按表5评分。

对照动物仅给予激发接触。

本试验要求动物数每组10~20只。

#### 5.5.3.4 结果评价

本试验适用于强致敏物(或成品)的筛选。致敏途径与实际接触方式接近,按皮肤反应强度评分标准评价。根据对照组与试验组豚鼠皮肤反应的差别测定变态反应的程度。一般情况下,在豚鼠身上致强过敏物质,可能在人身上引起大量的变态反应,但在豚鼠身上致弱过敏者有可能或不可能引起人体变态反应。

### 5.6 皮肤光毒和光变态反应试验

皮肤光变态反应是指某些化学物质在光能参与下所产生的抗原抗体皮肤反应。不通过机体免疫机制,而由光能直接加强化学物质所致的原发皮肤反应,则称为光毒反应。

#### 5.6.1 试验方法的原则

5.6.1.1 首选动物为白色豚鼠和白色家兔,每组动物8~10只。

5.6.1.2 照射源一般采用治疗用汞石英灯,水冷式石英灯作光源,波长在280~320nm 范围的中波紫外线或波长在320~400nm 范围的长波紫外线。

5.6.1.3 照射剂量按引起最小红斑量(MED)的照射时间和最适距离来控制。一般需做预备试验确定MED值。

5.6.1.4 受试物浓度采用原液或按人类实际用浓度,光变态反应试验的激发接触浓度可采用适当的稀释浓度。采用无光感作用的丙酮或酒精作稀释剂。

5.6.1.5 光变态反应试验需采用阳性对照,常用阳性光感物为四氯水杨酰替苯胺。

5.6.1.6 光源照射前应使受试物有足够的时间穿透皮肤,一般大于30min,并确证受试物存留在皮肤内。

5.6.1.7 如已证明受试物具有光毒性,可以不做光变态反应试验。

#### 5.6.2 皮肤光毒试验方法

5.6.2.1 先将实验动物背部脊柱一侧的毛剪掉，去毛范围为3cm×8cm（见图2）。

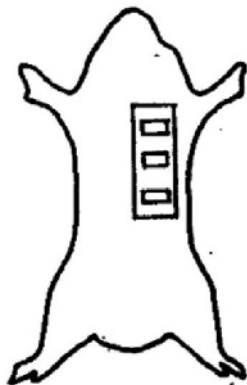


图 2

5.6.2.2 用中波紫外线灯照射去毛区，时间以秒为单位，分几档，测定 MED。

5.6.2.3 观察确定照射后8~12h 引起一度红斑（刚刚可见）的照射时间为1个MED，

5.6.2.4 预试验3天后，用剪刀再将实验动物背部脊柱两侧去毛共四块，范围每块2cm×2cm（见图3）。

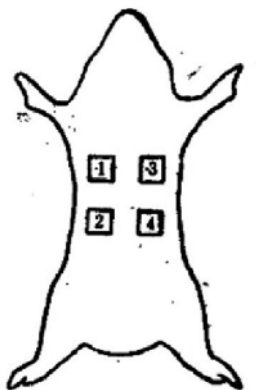


图 3

• 5.6.2.5 将受试物0.05~0.1ml(g) 均匀涂在1、2脱毛区，并用黑纸覆盖避光，

5.6.2.6 涂药30min 后，第一脱毛区用亚 MED的中波紫外线灯照射；第二脱毛区用黑纸覆盖不予照射；第三区仅用亚 MED 的中波紫外线照射，不涂药；第四区作空白对照，不给予任何处理。

5.6.2.7 照射后1、24和48h, 观察皮肤反应，按表6进行皮肤反应强度的评价。

5.6.2.8 结果评价

凡实验动物第一次与受试物接触，并在光能作用下引起类似晒斑的局部皮肤炎症反应，即可认为该受试物具有光毒作用。

5.6.3 皮肤光变态反应试验

5.6.3.1 诱导阶段：实验动物颈部用脱毛剂脱毛2cm×4cm。干脱毛区四角皮内注射福氏宗全依剂(FCA) 各0.1ml(见图4)。

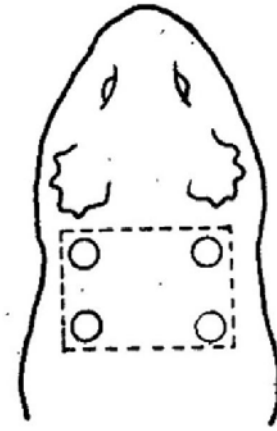


图 4

- 5.8.3.2 于脱毛区涂20%十二烷基硫酸钠 (SLS) 溶液，再将受试物0.1ml(g) 涂在该脱毛部位。
- 5.6.3.3 用波长在280~400nm 的中长波紫外线灯照射涂药部位，距离和时间以产生明显红斑为准。中波紫外线的照射剂量为6.6J/cm<sup>2</sup>，长波紫外线为10J/cm<sup>2</sup>。
- 5.6.3.4 隔日重复5.6.3.2及5.6.3.3步骤，共5次。
- 5.6.3.5 激发阶段：于诱导操作后两周，将实验动物背部脊柱两侧脱毛1.5cm×1.5cm/ 块，共4块 (见图5)。

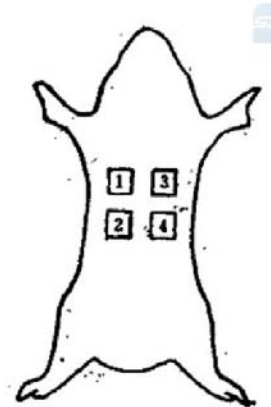


图 5

- 5.6.3.6 第1块涂受试物0.1ml后30min用长波紫外线照射；第2块涂受试物后用黑纸遮盖不照射；第3块不涂受试物，仅用长波紫外线照射；第4块用黑纸遮盖，不涂受试物，亦不照射。
- 5.6.3.7 照射后24、48和72h, 观察皮肤反应，控表5进行皮肤反应强度评分。
- 5.6.3.8 结果评价
- 凡化学物质单独与皮肤接触无作用，经过激发接触和特定波长光照射后，局部皮肤出现红斑、水肿、甚而全身反应，而未照射部位无此反应者，可认为该受试物是光敏感物质。
- 5.7 . 人体激发斑贴试验和试用试验、

激发斑贴试验是借用皮肤科临床检测接触性皮炎致敏原的方法，进一步模拟人体致敏的全过程，预测受试物的潜在致敏原性。

#### 5.7.1 人体激发斑贴试验方法的原则

- 5.7.1.1 实验全过程应包括诱导期、中间休止期及激发期。
- 5.7.1.2 受试物(可疑致敏原)与皮肤有充分接触时间。
- 5.7.1.3 选择合适敏感斑贴部位，如人体上背部或前臂屈侧皮肤。
- 5.7.1.4 受试者应无过敏史，样本数不少于25人。
- 5.7.1.5 实验前应向受试者详细介绍实验目的和方法，以取得圆满合作。

#### 5.7.2 试验方法

5.7.2.1 将5%十二烷基硫酸钠(SLS)液0.1ml滴在2cm×2cm大小的四层纱布上，然后敷贴在受试者上背部或前臂屈侧皮肤上，再用玻璃纸覆盖，用无刺激胶布固定。24h后将敷贴物去掉，皮肤应出现中度红斑反应。如无反应，调节SLS浓度或再重复一次。

5.7.2.2 将0.2ml(g)受试物按上述方法敷贴在同一部位上，固定48h后，去掉斑贴物，休息一日。

5.7.2.3 重复5.7.2.2步骤，共四次。如试验中皮肤出现明显反应，诱导可停止。

5.7.2.4 于最后一次诱导两周，选择未做过斑贴的上背部或前臂屈侧皮肤两块，间距3cm，一块作对照，一块敷贴含上述受试物0.2ml(g)的1cm×1cm纱布，封闭固定48h后，去除斑贴物，立即观察皮肤反应。24、48和72h再观察皮肤反应的发展或消失情况。按表8和表9进行皮肤反应评定。

表8 皮肤反应评级标准

皮 肤 反 应	分 级
无反应	0
红斑和轻度水肿、偶见丘疹	1
浸润红斑、丘疹隆起、偶而可见水疱	2
明显浸润红斑，大小水疱融合	3

表9 致敏原强弱标准

致敏比例	分 级	分 类
0~2/25	1	弱致敏原
3~7/25	2	轻度致敏原
8~13/25	3	中度致敏原
14~20/25	4	强致敏原
21~25/25		极强致敏原

#### 5.7.3 结果评定

如人体斑贴试验表明受试物为轻度致敏原，可作出禁止生产和销售的评价。

#### 5.7.4 人体试用试验的原则及方法

- 5.7.4.1 志愿者按日常使用方法或选用前臂屈侧5cm×5cm皮肤进行受试物试用试验。
- 5.7.4.2 样本数为200人。
- 5.7.4.3 受试物每天使用1~2次，连续试用30天以上。
- 5.7.4.4 每周至少观察一次，记录受试者主诉，如痒、热、刺痛感觉等或局部皮肤反应，如皮肤脱屑、皲裂、红斑、水肿、丘疹、水疱、痤疮或色素沉着等。

#### 5.7.4.5 结果评价

200名受试者中有1人出现上述主诉和体征，均可认为该受试物有皮肤刺激或致敏作用。结合化妆品的试用情况以及动物试验结果，作出是否安全的评价。

### 5.8 亚慢性皮肤毒性试验

5.8.1 目的：确定受试物多次重复涂抹皮肤可能引起健康的潜在危害，为提供经皮渗透可能性，靶器官和慢性皮肤毒性试验剂量选择提供依据。

5.8.2 定义：系指受试物重复涂抹动物皮肤所引起的不良反应。

5.8.3 动物的选择：选用成年大鼠、家兔和豚鼠。建议实验起始动物体重范围，大鼠200~300g，家兔2.0~3.0kg，豚鼠350~450g。

• 动物皮肤的准备和受试物的配制，参见急性皮肤毒性试验，不过一般需每天或两三天剪毛一次。

5.8.4 剂量和分组：至少有三个剂量组和一个赋形剂对照组。每个剂量组至少20只动物，雌、雄动物各10只。最高剂量组可出现毒性反应，但不能出现死亡。最低剂量组不能出现任何毒性反应。理想的中间剂量，应产生最小的可观察到的毒性反应。如果受试物涂抹后产生了严重的皮肤刺激毒性，应该中止试验，重新设计试验方案，使新设计的最高剂量组，由于浓度的降低致使皮肤刺激反应减弱或消失。

5.8.5 试验方法：将受试物涂抹于动物背部皮肤，涂皮面积参见急性皮肤毒性试验，对毒性强的物质，涂抹面积可适当减少。实验期限为90天。

5.8.5.1 临床检查：整个试验过程中，注意观察并记录动物的一般表现、行为、中毒症状和死亡情况。每周称体重一次，并调整敷药量。

5.8.5.2 血液学检查：一般于试验结束时测定之。包括项目：血色素含量、红细胞数、白细胞数及其分类计数、血小板数、网织红细胞数等。

5.8.5.3 血液生化学检查：一般认为适合于所有研究的测试范围是肝、肾功能、碳水化合物代谢、电解质平衡。特殊测定之项目由受试物的作用方式来决定。建议的项目有：谷丙转氨酶、谷草转氨酶，血中尿素氮、非蛋白氮及肌酐含量，血清中白蛋白/球蛋白等。必要时，可根据所观察的毒性反应选择其他的临床生化学指标。

5.8.5.4 脏器称重：肝、肾和其他脏器的绝对重量和脏/体之比的测定。

5.8.5.5 病理学检查：试验结束时，处死所有动物，进行大体尸检，并将主要器官和组织固定保存、制片和镜检。在各剂量组动物大体检查无明显病变时，可以只进行高剂量组和对照组动物主要脏器(肝、肾、脾、胃、肠等)和皮肤的组织病理学检查，发现病变后再对较低剂量组相应器官及组织进行镜检。许多毒物可引起肝、肾组织病变，故肝、肾的镜检已列入常规项目，其他器官或组织的镜检则需根据情况而定。

#### 5.8.6 试验的意义和价值

亚慢性皮肤毒性试验将提供重复皮肤接触受试物时动物机体反应的资料。虽然从实验结果外推到人的正确性是有限的，但它能提供关于化学物质经皮肤吸收程度的有用资料。若实验结果表明受试物经皮吸收可能性甚微或几乎无可能性，则没有必要进行经皮慢性毒性和致癌试验。

### 5.9 亚慢性经口毒性试验

5.9.1 目的：确定受试物重复经口给予动物可能引起健康的潜在危害，为提供靶器官、蓄积可能性和慢性/致癌性实验提供实验依据。

5.9.2 定义：系指动物多次重复经口接受化学物质所引起的不良反应。

5.9.3 动物的选择：一般选用啮齿类动物，首选品种为大鼠。使用雌雄两种性别，理想的给药时间是小于6周龄。

5.9.4 剂量和分组：至少应有三个剂量组和一个对照组。每个剂量组至少20只动物，雌雄各10只。各剂量组选择的原则同亚慢性经皮毒性试验。

5.9.5 试验方法：给药方式可采用受试物掺入饲料、饮水或灌胃方式。当受试物掺入饲料时，要确保给药量不能影响动物正常的营养需要。以灌胃方式给药时，每周称体重，并按体重调整给药量，以维持稳定的给药量。

在整个实验过程中，动物一般观察、临床检查和病理检查的原则和具体要求，参见亚慢性皮肤毒性试验。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/757200061021006123>