附件1

**皮肤刺激性/腐蚀性试验**

**技术指导原则**

**（征求意见稿）**

中国食品药品检定研究院

2023年4月

**目 录**

一、概述 1

二、基本原则 1

三、基本内容 1

（一） 实验动物饲养管理和使用 2

（二） 受试物 2

（三） 各组别的给予方式和剂量 3

四、结果分析与评价 4

（一） 结果观察与分析 4

（二） 结果解释 5

（三） 结果评价 6

五、参考文献 6

六、术语和释义 6

七、附录 6

 一、概述

皮肤刺激性/腐蚀性试验是确定和评价受试物对哺乳动物皮肤局部是否有刺激作用或腐蚀作用及其程度的试验。

本指导原则依据《化妆品安全技术规范》《化妆品注册和备案检验工作规范》《化妆品注册备案资料管理规定》《化妆品新原料注册备案资料管理规定》等相关要求，并参考国内外相关指南制定。

本指导原则适用于化妆品和新原料的皮肤刺激性/腐蚀性及其程度的评价及安全评估。

本指导原则是在现行法规和标准以及当前科学认知水平下制定的，随着法规和标准的更新完善，以及科学技术的发展，将适时进行调整。

二、基本原则

本指导原则仅阐述皮肤刺激性/腐蚀性试验需要重点关注的问题，试验时需具体情况具体分析。

皮肤刺激性/腐蚀性试验的设计应符合毒理学试验随机、对照、重复的基本原则，试验数据应真实、完整、准确、可追溯，试验结果统计分析应科学合理。

如果实验动物在试验的任何阶段出现严重抑郁、痛苦的表现，应当给予人道处死。

三、基本内容

将受试物一次（或多次）涂敷于受试动物的皮肤上，在规定的时间间隔内，观察动物皮肤局部刺激作用的程度并进行评分。

1. **实验动物饲养管理和使用**

实验动物应为健康、成年、皮肤无损伤的哺乳动物，首选白色家兔。雌雄均可，雌性动物应为未孕及未曾产仔的。

试验一般至少需要4只动物，如需进一步解释可疑实验结果，可增加动物数。

实验动物、饲养设施及动物实验室应符合国家相应规定。动物应单笼饲养，试验前进行检疫并使动物适应环境。给予实验动物常规饲料喂养，自由饮水，室内光照条件应保持12小时明暗交替。

1. **受试物**

若受试物为液体，一般不做稀释，直接使用原液。若受试物为固体，应制备为细粉状，并用水或其它无刺激性溶剂将其充分湿润，以保证受试物与皮肤有良好的接触；若使用其他溶剂润湿受试物，应考虑溶剂是否会对受试物的皮肤刺激性产生影响。若产品的使用方法是需要稀释后使用，应先进行产品原型的皮肤刺激性/腐蚀性试验，如果试验结果显示皮肤刺激性结果为中度以上，可选用合适的溶剂按使用浓度进一步稀释后，检测其皮肤刺激性/腐蚀性试验，并设置溶剂对照。

试验时应按照产品实际使用方法配制受试物，并明确配制方法和使用浓度。

若预判受试物可能引起严重刺激或腐蚀作用，可先进行预实验，一般采取分段试验法，考察受试物是否会在3分钟、60分钟和4小时中任何一个时间点，出现皮肤腐蚀作用。当皮肤涂敷受试物的部位，在以上任何一个时间点出现严重皮肤刺激或腐蚀作用，不再进行后续试验。

此外，以下情况可不进行皮肤刺激试验：

1. 受试物为强酸或强碱（pH值≤2或≥11.5）；
2. 受试物有很强的经皮吸收毒性，经皮LD50＜200 mg/kg；
3. 受试物在急性经皮毒性试验中，剂量达2000 mg/kg时仍未出现皮肤刺激性作用。

对于化妆品新原料，应根据原料的溶解性选择适宜的溶剂进行润湿或稀释配制，并设阴性对照。

1. **各组别的给予方式和剂量**

备皮：试验前约24小时将动物背部脊柱左右两侧毛剪掉约3 cm×3 cm范围，不可损伤表皮。

受试物区：一般取受试物样品0.5 mL（g）均匀涂布于受试部位，涂抹面积为2.5 cm×2.5 cm。若受试物样本难以获得，用量可适当减少。

对照区：试验采用自身对照，以科学评判受试物对皮肤的刺激作用。当受试物使用无刺激性溶剂配制时，于涂抹受试物的皮肤另一侧涂抹溶剂作为对照。

为保证试验的一致性，涂布面积应尽量相等。

给予方式：采用封闭试验，敷用时间一般为4小时，一次/每次敷用结束后用温水或无刺激性溶剂清除残留受试物。对于化妆品产品，可根据人体实际使用情况和产品类型延长或缩短敷用时间。用后冲洗的化妆品产品，可仅敷用2小时。

急性皮肤刺激性试验仅给予受试物1次；多次皮肤刺激性试验为每天涂抹1次，连续涂抹14天。

四、结果分析与评价

1. **结果观察与分析**
2. 急性皮肤刺激性试验：清除受试物后1、24、48和72小时观察涂抹部位皮肤反应，72小时仍未观察到刺激反应或刺激反应完全恢复，即可停止观察。在皮肤涂敷部位出现刺激反应且未恢复之前，应每天继续观察，观察时间应延长至足以观察到可逆或不可逆刺激作用的全过程，一般不超过14天。按《化妆品安全技术规范》中的标准对受试物区和对照区进行皮肤评分并记录，皮肤反应主要分为红斑和焦痂形成，以及水肿形成两种表现。当皮肤涂敷部位出现严重红斑（紫红色）至轻微焦痂形成或重度水肿（皮肤隆起超过1 mm，范围扩大）时，均分别记4分；当出现中度至重度红斑或中度水肿（皮肤隆起约1 mm）时，均分别记3分；当出现明显红斑或轻度水肿（皮肤隆起轮廓清楚）时，均分别记2分；当轻微红斑或水肿（勉强可见）时，均分别记1分；最终以受试动物积分的平均值进行综合评价。

根据24、48和72小时三个观察时间点之中最高积分均值，按《化妆品安全技术规范》中的标准判定皮肤刺激强度，积分均值为6.0~8.0时，结果为强刺激性；积分均值为2.0~＜6.0时，结果为中刺激性；积分均值为0.5~＜2.0时，结果为轻刺激性；积分均值为0~＜0.5时，结果为无刺激性。

2. 多次皮肤刺激性试验：清除受试物后1小时观察局部皮肤反应，按《化妆品安全技术规范》中的标准进行评分并记录，皮肤刺激反应的评分标准同“急性皮肤刺激性试验”。按照下列公式计算每天每只动物平均积分，按《化妆品安全技术规范》中的标准判定刺激强度，皮肤刺激强度的分级标准同“急性皮肤刺激性试验”。

$$每天每只动物平均积分={\frac{\sum\_{}^{}红斑和水肿积分}{受试动物数}}/{14}$$

3. 需注意的是，两项试验中，观察时间点为1小时的积分不计算在内。

1. **结果解释**

1. 急性皮肤刺激性试验结果从动物外推到人的可靠性有限；

2. 白色家兔在大多数情况下对有刺激性或腐蚀性的物质较人类敏感。若用其它品系动物进行试验时也得到类似结果，则会增加从动物外推到人的可能性。

3. 当试验出现非预期结果或可疑结果时，则需追加动物进行重复试验。

1. **结果评价**

化妆品产品的急性皮肤刺激性试验和多次皮肤刺激性试验结果一般不得有明显的刺激性和腐蚀性，即皮肤刺激强度为轻刺激性及以下（积分均值＜2.0）。

婴幼儿和儿童用产品从严要求，其皮肤刺激性试验结果应为无刺激性（积分均值＜0.5）。

五、参考文献

1. 国家药品监督管理局.化妆品安全技术规范.(2015.12)

2. OECD. OECD Guideline for the testing of chemicals: Acute dermal irritation/corrosion (404).(2015.7)

3. 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国国家职业卫生标准 化学品毒理学评价程序和试验方法 第6部分：急性 皮肤刺激性/腐蚀性试验: GBZ/T 240.6-2011. (2011.8)

六、术语和释义

（一）皮肤刺激性（Dermal irritation）：

皮肤涂敷受试物后局部产生的可逆性炎性变化。

（二）皮肤腐蚀性（Dermal corrosion）：

皮肤涂敷受试物后局部引起的不可逆性组织损伤

七、附录

可参考《化妆品安全技术规范》中收录的“皮肤刺激性/腐蚀性试验”方法。