化妆品毒理学试验方法的标准比对(I)

谢珍[1]，瞿霖吉[1]，桑晶[1]，张霄鹏[2]，何立成[1]，康桦[1]，匡荣[1*](1.浙江省食品药品检验研究院，国家药品监督管理局化妆品动物替代试验技术重点实验室，杭州 310052；2.杭州瑞旭科技集团有限公司，杭州 310052)

摘要：近年来，我国在化妆品监管和技术领域不断取得进步。在技术标准方面，已建立起化妆品技术法规动态修订机制，以标准化促进化妆品质量提升，带动产业转型升级。本文对毒理学试验方法中的皮肤刺激性/腐蚀性试验、急性眼刺激性/腐蚀性试验的国内、外相关标准情况进行梳理和比对，分析目前标准存在的具体问题并提出建议。

关键词：化妆品；皮肤刺激性/腐蚀性试验；急性眼刺激性/腐蚀性试验；标准比对

中图分类号：R991　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2023)10-1422-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222264

引用本文：谢珍，瞿霖吉，桑晶，等. 化妆品毒理学试验方法的标准比对(I)[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(10): 1422-1428.

Standard Comparison of Toxicological Test Methods for Cosmetics(I)

XIE Zhen[1], QU Linji[1], SANG Jing[1], ZHANG Xiaopeng[2], HE Licheng[1], KANG Hua[1], KUANG Rong[1*]
(*1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Animal Alternative Testing Technology of Cosmetics, Hangzhou 310052, China; 2.Hangzhou REACH Technology Group Co., Ltd., Hangzhou 310052, China*)

ABSTRACT: Recent years have seen continuous progress in cosmetic regulation and technology. In terms of technical standards, a dynamic revision mechanism of cosmetic technical regulations has been established to promote the quality improvement of cosmetics by standardization and to drive the transformation and upgrading of the industry. This paper compares domestic and foreign standards for dermal irritation/corrosion test and acute eye irritation/corrosion test, and analysis the specific problems of the current standards and make recommendations.

KEYWORDS: cosmetics; dermal irritation/corrosion test; acute eye irritation/corrosion test; standard comparison

化妆品引起的皮肤刺激性和眼刺激性的评估对于确保产品安全至关重要，其评价在中国是依据《化妆品安全技术规范》(2015 版)[1](以下简称“《规范》”)中“毒理学试验方法”进行。本文对毒理学试验方法中的皮肤刺激性/腐蚀性试验、急性眼刺激性/腐蚀性试验的国内、外相关标准情况进行梳理和比对，分析目前标准存在的具体问题并提出建议。

1　皮肤刺激性/腐蚀性试验

从无需进行试验的情况、分阶段试验、受试物处理、介质种类、实验动物的选择、动物数量及动物检疫时间、动物准备、染毒剂量、染毒步骤、观察时限等方面，将国家标准 GBZ/T240.6-2011[2]、GB/T21604-2008[3]、GB/T15670.7-2017[4]、经济合作与发展组织(OECD)测试指南 404[5]与《规范》[1]进行比对，其中 GB/T15670.7-2017 同《规范》一致，包括急性皮肤刺激性试验和多次皮肤刺激性试验，其余 2 项标准只针对急性皮肤刺激性/腐蚀性试验。

1.1　无需进行试验的情况

从受试物的物理性质、化学性质及其体外试验结果等方面，比较了各标准中无需进行试验的情况的差异，见表 1。鉴于其他标准的情况及目前体外试验方法快速发展的形势，建议《规范》在对于不进行试验的情况中增加体外试验结果的相关内容。

1.2　分阶段试验

在《规范》里分阶段试验的要求为如怀疑受试物可能引起严重刺激或腐蚀作用，可采取分段试验，将 3 个涂布受试物的纱布块同时或先后敷贴在 1 只家兔背部脱毛区皮肤上，分别于涂敷后 3 min、60 min 和 4 h 取下一块纱布，皮肤涂敷部位在任一时间点出现腐蚀作用，即可停止试验。上述 3 项国标和 OECD 404 中的分阶段试验的主要内容与《规范》基本一致，不同点在于 GB/T21604-2008 和 OECD 404 中描述为 3 个涂布受试物的纱布块先后作用于动物皮肤，并非“同时或

作者简介：谢珍，女，硕士，主管药师　E-mail: cheerxie@163.com　*通信作者：匡荣，男，博士，主任药师　E-mail: kuangrong@zjyj.org.cn

先后”。此外，分阶段试验完成后，正式试验的要求也各不相同：《规范》和 GBZ/T240.6-2011 无相关描述。GB/T21604-2008 中要求如果怀疑受试物质具有强烈的刺激性而无腐蚀性，则使用一块试验贴作用于动物皮肤 4 h。GB/T15670.7-2017 中要求如果无腐蚀作用，则需另选 2 只家兔进行敷用时间为 4 h 的试验。OECD 404 中要求如果在取下最后一块纱布后没有观察到腐蚀作用，则观察动物 14 d，并最多使用 2 只动物进行敷用时间为 4 h 的试验，确认刺激性或阴性反应。

1.3 受试物处理

依据受试物的物理状态对受试物处理的差异进行比较。对于液体受试物，各标准的要求基本一致，即不需稀释，使用原液。对固体受试物的处理要求存在差异，具体差异情况见表 2。上述标准均要求当使用水以外的介质时，应考虑到该溶剂对受试物皮肤刺激性的影响，GBZ/T240.6-2011 还列出了介质的种类，如凡士林、阿拉伯树胶、乙醇和水、羧甲基纤维素、聚乙二醇、丙三醇、植物油和矿物油等，操作性更强。

1.4 动物选择、动物数量及动物检疫时间

分别从动物选择、动物数量及动物检疫时间方面，对各标准的相关规定进行了比较，具体差异情况见表 3。为避免试验期间动物相互抓挠，上述标准均要求单笼饲养。动物数量方面，OECD 404 依据所观察到的动物反应的不同，所使用的动物数量也不同，表现为因分阶段试验结束后正式试验的要求，使用的动物数为 3 只；在未进行分阶段试验的特殊情况下，2~3 只家兔进行涂敷时间为 4 h 的试验，当使用 2 只动物时，如都表现出相同的反应，就不需要进一步的测试。否则，需要第 3 只动物进行试验。即 OECD 404 中要求的动物数量为≥2 只。上述标准均要求如要澄清某些可疑的反应则需增加实验动物数。

表 1 无需进行试验的情况的差异比较

Tab. 1 Comparison of differences in cases where no *in vivo* testing was necessary

标准文件	物理性质	化学性质	体外试验结果	其他
《规范》	强酸或强碱(pH 值≤2 或≥11.5)	有很强的经皮吸收毒性，经皮 LD_{50}<200 mg·kg^{-1} 体质量、在急性经皮毒性试验中剂量为 2 000 mg·kg^{-1} 体质量仍未出现皮肤刺激性作用	无	无
GBZ/T240.6-2011	强酸或强碱(pH 值≤2 或≥11)	有很强的经皮吸收毒性(LD_{50}≤200 mg·kg^{-1} 体质量)	在充分并公认的体外试验结果中确定可能产生腐蚀或刺激毒性、从受试样品的结构活性构效关系可以预见潜在的腐蚀毒性	无
GB/T21604-2008	同《规范》	具有很强的经皮吸收毒性、在急性经皮毒性试验中，在限量试验剂量 2 000 mg·kg^{-1} 体质量时仍未出现皮肤刺激作用	根据体外试验的结果预知具有腐蚀作用	无
GB/T15670.7-2017	同《规范》	无	无	该受试物应视为对皮肤具有腐蚀性
OECD 404	无	无	根据证据权重分析或以前的体外试验被判定为腐蚀性、刺激性或未分类时	无

表 2 受试物处理的差异比较

Tab. 2 Comparison of differences in preparation of the test chemicals

标准文件	液体受试物	固体受试物	其他
《规范》	一般不需稀释，可直接使用原液	研磨成细粉状，并用水或其他无刺激性溶剂充分湿润，以保证受试物与皮肤有良好的接触	需稀释后使用的产品，先进行产品原型的皮肤刺激性/腐蚀性试验，如果试验结果显示中度以上的刺激性，可按使用浓度再进行试验
GBZ/T240.6-2011	采用原液或实际应用浓度	若受试样品为固态可溶物质，则用水作为溶剂进行配制。若受试样品为不溶性或难溶固体或颗粒状，受试样品经研磨粉碎，过 100 目筛，然后用水或适当的介质按一定比例调制	无
GB/T21604-2008	同《规范》	粉碎并用水或其他适宜的介质溶解或润湿	无
GB/T15670.7-2017	同《规范》	研磨成细粉状，并用水或其他无刺激性溶剂充分润湿(尽可能用少量的水或溶剂，使固体受试物润湿即可)	无
OECD 404	同《规范》	如有必要，可以粉碎，应用最小量的水(或必要时，其他合适的介质)湿润	无

表 3 动物选择、动物数量及动物检疫时间的差异比较

Tab. 3 Comparison of differences in selection of animal species, number of animals and animal quarantine time

标准文件	动物选择	动物数量	动物检疫时间
《规范》	多种哺乳动物均可被选为实验动物，首选白色家兔，雌性和雄性均可，但雌性动物应是未孕和未曾产仔的	≥4 只	≥3 d
GBZ/T240.6-2011	首选健康成年白色家兔，其次为白色豚鼠。如果使用其他的哺乳动物做试验，试验者应提供选择的依据，雄性和/或雌性均可	同《规范》	同《规范》
GB/T21604-2008	首选健康成年的白色家兔，雄性和/或雌性均可	同《规范》	≥5 d
GB/T15670.7-2017	白色家兔为首选实验动物，选用其他种属实验动物，需要说明合理的特殊理由，体质量 2.0~3.0 kg，雌性和雄性均可，雌性动物应是未妊娠和未经产的	≥3 只	同《规范》
OECD 404	首选健康成年的白色家兔，若使用其他种属应给出理由	依据受试物的刺激性而定	无

1.5 动物准备

《规范》中要求试验前约 24 h，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 3 cm×3 cm，选择皮肤健康完整无损的动物进行试验。GB/T21604-2008、GB/T15670.7-2017 与《规范》一致。GBZ/T240.6-2011 和 OECD 404 除上述要求外，还规定不应在长有浓密岛状毛的部位进行试验。因有些品种的兔子有浓密的毛发斑块，在一年中的某些时候更加突出，这种毛发生长密集的区域会影响受试物与皮肤的良好接触，进而影响试验结果的准确性。

1.6 剂量

上述标准均规定染毒剂量为 0.5 mL(g)，GBZ/T240.6-2011 除此规定外，还要求如受试样品难以获得，或易产生全身毒性等原因，用量可适当减少，但为了试验的一致性，涂布面积应力求相等。在实际试验中，如某些原料的价值很高，但实际使用浓度很低，是否有必要按照 0.5 mL(g) 的剂量进行染毒？该要求值得借鉴。

1.7 染毒步骤

《规范》中要求取受试物直接涂在皮肤上，然后用二层纱布(2.5 cm×2.5 cm)和一层玻璃纸或类似物覆盖，再用无刺激性胶布和绷带加以固定。GBZ/T240.6-2011 除了要求 4 层纱布外，其余同《规范》。GB/T21604-2008 基本与 GBZ/T240.6-2011 一致，还依据受试物的状态补充了“仔细、缓慢涂布，不使药液流失”的要求，以及规定当受试物为液体或膏状物时，需先将其置于纱布上，然后再接触皮肤，与 OECD 404 中“在受试物不能直接应用的情况下(例如液体或某些膏剂)，应首先将其置于纱布上，然后应用于皮肤上”一致。GB/T15670.7-2017 同《规范》。

1.8 观察时限

《规范》要求 72 h 仍未见刺激反应或刺激反应完全恢复，即可停止观察。观察时间应足以观察到可逆或不可逆刺激作用的全过程，一般≤14 d。动物如果在试验的任何阶段出现严重抑郁、痛苦的表现，则应当给予处死。GBZ/T240.6-2011、GB/T15670.7-2017 与《规范》一致。除上述要求外，GB/T21604-2008 还规定如果第 14 天前出现可逆反应，或出现剧烈疼痛、衰竭的表现，应停止试验；OECD 404 中还要求动物表现出严重疼痛或痛苦的任何时候或在 14 d 之前发现可逆性，则应终止试验。除了观察刺激性外，所有的局部毒性作用都应充分描述和记录，如皮肤脱脂，以及任何全身不良反应(如对临床毒性体征和体质量的影响)。应考虑进行组织病理学检查，以进一步确定反应。

1.9 其他

《规范》中“多次皮肤刺激性试验”的第 2 天试验步骤要求为从第 2 天开始，每次涂抹前应剪毛，用水或无刺激性溶剂清除残留受试物。1 h 后观察结果，对照区和试验区同样处理。上述描述比较简单，为增强指导性和可操作性，建议参考 GB/T15670.7-2017 修改成：从第 2 天开始，先观察前 1 d 涂抹受试物后皮肤的反应，按表评分，如果毛的长度不影响继续试验，即可继续涂抹受试物；否则应及时去毛，去毛后 1 h 涂抹受试物，不必每天清除残留受试物，只有当残留受试物影响继续实验时，可在涂抹受试物前，用水或无刺激性溶剂清除残留受试物，1 h 后可再涂抹受试物。

《规范》中的《皮肤刺激反应评分》表对皮肤反应，包括红斑和焦痂形成、水肿形成进行评分，按《皮肤刺激强度分级》表判定皮肤刺激强度，但表中均无皮肤腐蚀性的相关描述和规定，建议参考 GB/T15670.7-2017 增加皮肤腐蚀性的相关描述和规定。

2 急性眼刺激性/腐蚀性试验

2019 年 3 月,《化妆品用化学原料体外兔角膜上皮细胞短时暴露试验》为新增检测方法纳入《规范》。经搜索，急性眼刺激性/腐蚀性试验相关的国家标准有 GBZ/T240.5-2011[6]、GB/T21609-2008[7]、GB/T15670.8-2017[8]。从无需进行试验的情况、受试物处理、动物选择、动物数量、动物检疫时间及动物准备、剂量、染毒步骤、眼损害评分标准及眼刺激性分级标准等方面，将上述国家标准和 OECD 测试指南 405[9]与《规范》[1]进行比对。

2.1 无需进行试验的情况

从受试物的物理性质、化学性质及其他证明性资料等方面，比较了各标准中无需进行试验的情况的差异，见表 4。同“1.1”项下，建议《规范》对于不进行试验的情况中增加体外试验结果的相关内容。

OECD 405 虽未明确说明无需进行试验的情况，但与之相关的内容较为详细，主要为第一步应对受试物已有的潜在眼睛刺激/腐蚀性相关的现有数据进行评估，包括人体数据、体内数据、体内/体外眼睛或皮肤刺激/腐蚀数据、理化性质数据和非测试方法。第二步进行证据权重(weight of evidence，WoE)分析。如果 WoE 分析仍然不确定，第三步应该进行额外的测试，从体外方法或化学方法开始，并以体内测试方法，即动物试验作为最后的选择。此外，还对进行体外试验后考虑进行体内动物试验的情况进行了说明：①通过目前采用的体外试验方法无法直接对受试物的眼刺激性进行分类；②WoE 分析无足够的把握对受试物进行分类；③由于测试方法的限制，或超出测试方法的适用范围，不能用目前可用的体外测试方法进行测试。总之，OECD 405 出于动物福利的考虑，将动物试验作为受试物眼刺激性评估的最后手段。

2.2 受试物处理

依据受试物的物理状态及类型，对各标准中染毒前受试物处理的差异进行了比较，具体差异情况见表 5。考虑到受试物处理方式对试验结果的影响，避免喷射的压力对眼睛造成的潜在的“机械性”损伤,《规范》中明确要求“气溶胶产品需喷至容器中，收集其液体再使用”。如受试物中含有推进剂，按照此种方式处理后，在染毒时实际是不含推进剂的剂料部分。有报道[10]在含推进剂防晒喷雾样品的理化检验中，去除推进剂后能准确测定样品中防晒剂的含量，平行样测定结果平行性良好。

2.3 动物选择、动物数量、动物检疫时间及剂量

分别从动物选择、动物数量、动物检疫时间及剂量方面，对各标准的相关规定进行了比较，具体差异情况见表 6。动物数量方面，GBZ/T240.5-2011、GB/T21609-2008 均要求如果受试物有可预见的严重刺激性和腐蚀性效应，可以考虑先用 1 只动物进行试验。如果用 1 只动物得出的结果提示受试物有刺激或腐蚀作用，则不必进行进一步的试验。如果结果相反，则至少需要 3 只动物；OECD 405 要求先使用 1 只动物进行预试验，确定受试物眼刺激性的严重程度和可逆性。如果结果表明该受试物对眼睛有严重损害，则不应进行进一步的测试。如果未观察到严重的眼损伤或不可逆效应，然后对另外 2 只动物依次进行验证试验，而不是另外 2 只动物同时染毒。如第 2 只动物显示出严重的眼睛损伤或不可逆效应，或第 2 只动物的测试结果足以确定眼刺激性分级，均不应进行进一步的测试。

剂量方面，液体受试物的剂量均为 0.1 mL，主要差异在固体受试物。此外，GBZ/T240.5-2011

表 4 无需进行试验的情况的差异比较

Tab. 4 Comparison of differences in cases where no *in vivo* testing was necessary

标准文件	物理性质	化学性质	其他证明性资料	其他
《规范》	强酸或强碱(pH 值≤2 或≥11.5)	已证实对皮肤有腐蚀性或强刺激性	无	无
GBZ/T240.5-2011	强酸物质(pH≤2)或强碱物质(pH≥11)	已在皮肤试验中证实具有腐蚀或严重刺激性	在充分并公认的体外试验结果中确定可能产生刺激性或腐蚀性	无
GB/T21609-2008	强酸或强碱(pH 值≤2 或≥11.5)	已证实对皮肤有腐蚀性或严重刺激性	根据体外试验的结果确能预知具有腐蚀性或严重刺激性	无
GB/T15670.8-2017	pH 值≤2 或≥11.5	已证实对皮肤有腐蚀性	有文献资料及其他方法预测有严重眼刺激/腐蚀性	该受试物应视为对眼具有腐蚀性
OECD 405	见“2.1”项下			

表 5 受试物处理的差异比较

Tab. 5 Comparison of differences in preparation of the test chemicals

标准文件	液体受试物	固体受试物	装于手压泵式容器中的液态受试物	装于加压容器中的液体受试物	其他
《规范》	一般不需稀释，可直接使用原液	研磨成细粉状	需喷至容器中，收集其液体再使用	需喷至容器中，收集其液体再使用	无
GBZ/T240.5-2011	同《规范》	研磨成细粉状，过 74 μm 孔径筛	同《规范》	同《规范》	无
GB/T21609-2008	同《规范》	同《规范》	可采用喷雾的方法染毒，也可收集喷出的液体，然后再按液体同样的方法染毒	先将其挤压入另一容器中，然后按液体同样的方法染毒，不应用喷雾的方式染毒	无
GB/T15670.8-2017	同《规范》	同《规范》	采用喷雾的方法染毒	采用喷雾的方法染毒	无
OECD 405	同《规范》	同《规范》	同《规范》	同《规范》	唯一的例外是在加压容器中的受试物，由于蒸发而无法收集，这时需采用喷雾的方法染毒

表 6 动物选择、动物数量、动物检疫时间及剂量的差异比较

Tab. 6 Comparison of differences in selection of animal species, number of animals, animal quarantine time and dose level

标准文件	动物选择	动物数量	动物检疫时间	剂量
《规范》	首选健康成年白色家兔	≥3 只	适应≥3 d	液体受试物，染毒量为 0.1 mL；固体受试物，染毒量应为体积 0.1 mL 或质量≤100 mg
GBZ/T240.5-2011	首选健康成年白色家兔，体质量 2.0~3.0 kg。如使用其他的哺乳动物做试验，应提供选择的依据	1 只或 4 只	同《规范》	液体受试物染毒量为 0.1 mL；固态难溶性颗粒，染毒量应为 100 mg
GB/T21609-2008	首选健康成年白色家兔，如某些可疑反应，则需增加数量	1 只或 4 只	适应≥5 d	液体受试物，染毒量为 0.1 mL；固体受试物，染毒量应相当于 0.1 mL 容积的质量
GB/T15670.8-2017	首选健康成年白色家兔，体质量 2.0~3.0 kg。如选用其他种属实验动物，需说明合理的特殊理由	同《规范》	同《规范》	液体受试物染毒量为 0.1 mL；固体或颗粒状受试物，染毒量应为 0.1 mL 或 100 mg
OECD 405	首选健康成年白色家兔，使用健康的年轻成年动物。如选用其他种属实验动物，应提供理由	依据受试物的刺激性而定	无	同《规范》

和 OECD 405 均对挥发性物质的剂量测定提供了方法，即通过使用前后称量容器质量进行估算。在饲养条件方面，除了《规范》和 GBZ/T240.5-2011，其余标准均要求动物单笼饲养。

2.4 动物准备

各标准均明确要求试验开始前的 24 h 内要对动物的双眼进行检查，凡有眼睛刺激症状、角膜缺陷和结膜损伤的动物不能用于试验。GB/T21609-2008 中对检查方法进行了详细描述，如借助于辅助光源对每只试验动物的双眼进行肉眼检查，然后再进一步作荧光素检查，将 1 滴 2%荧光素钠生理盐水溶液滴入眼结合膜囊内，15 s 后用温生理盐水轻轻淋冲眼睛，在 365 nm 紫外光源下检查，如果膜表面有荧光素滞留，表明该部位角膜上皮脱落或溃疡。对于试验人员而言，操作性更强。

2.5 染毒步骤

分别从染毒后动物眼睑是否需要被动闭合、染毒方式、冲洗效果试验、局部麻醉药和全身镇痛药的使用等方面，对各标准的相关规定进行了比较，具体差异情况见表 7。为防止受试物的丢失，除 GB/T21609-2008 外，其余标准均要求染毒后使动物上、下眼睑被动闭合，只是在被动闭合时间上有轻微差异：1 s 或几秒钟。

考虑在眼睛上使用粉末状固体受试物会增加动物眨眼次数，受试物与眼组织之间的摩擦可能会导致更高程度的刺激性，因此 OECD 405 中要求如固体受试物并没有通过生理机制从动物的眼睛中移除，可用生理盐水或蒸馏水进行冲洗。

为避免或尽量减少眼刺激性测试过程中动物的疼痛和痛苦，GB/T21609-2008 和 GB/T15670.8-2017 均要求如果预期受试物会造成动物剧烈疼痛，可在染毒前使用局部麻醉，对照眼做同样处理，局麻药的类型和浓度应谨慎选择，确保对受试物作用无明显影响。OECD 405 中还增加了全身

表 7 染毒步骤的差异比较

Tab. 7 Comparison of differences in application of the test chemical

标准文件	被动闭合	染毒方式	冲洗效果试验	局部麻醉药和全身镇痛药的使用	其他
《规范》	染毒后使动物上、下眼睑被动闭合 1 s	滴入或涂入结膜囊中	染毒后 24 h 内不冲洗眼睛，如显示受试物有刺激性，需另选 3 只家兔进行 30 s 冲洗试验	无	对用后冲洗的产品(洗面奶、发用品、育发冲洗类)只做 30 s 冲洗试验；染发剂类产品只做 4 s 冲洗试验
GBZ/T240.5-2011	同《规范》	同《规范》	染毒后 24 h 内不冲洗眼睛，如果受试物出现中度以上刺激时，另选 3 只动物进行 30 s 冲洗试验	无	无
GB/T21609-2008	染毒后松开双睑，任其自由开或闭，应尽量避免瞬间遮盖角膜	滴(涂或放)于角膜上	染毒后 24 h 内不冲洗眼睛，结果显示有中度或中度以上眼刺激性，应考虑另选 6 只动物进行冲洗眼睛的效果试验，分别各选 3 只动物，进行 4 s、30 s 冲洗试验	如果受试物可引起剧烈疼痛，染毒前给以眼部局部麻醉	装于加压容器内的液体气溶胶态受试物，可采用喷雾的方法染毒，轻轻扒开双睑，从眼睛的正前方 10 cm 处向眼睛一次喷雾 1 s，应注意别损伤眼睛
GB/T15670.8-2017	同《规范》	同《规范》	染毒后 24 h 内不冲洗眼睛，若 72 h 刺激反应不消失，应另选 3 只动物进行 30 s 冲洗试验	如果预期受试物会造成动物极度疼痛，可考虑在染毒前使用局部麻醉	无
OECD 405	染毒后使动物上、下眼睑被动闭合几秒钟	同《规范》	染毒后至少 24 h 内不得冲洗眼睛，但固体受试物除外，以及立即造成严重的眼睛损伤或刺激作用的情况下	见“2.5”项下	在加压气溶胶容器中的受试物，由于蒸发而无法收集。在这种情况下，轻轻扒开双睑，在眼睛正前方 10 cm 的距离内以大约 1 s 的时间向眼睛喷射。距离可能根据喷射的压力及其内容物而变化

镇痛药的使用，并详细列出了使用方法，如染毒前 60 min，皮下注射给予丁丙诺啡 0.01 mg·kg^{-1}，以提供全身镇痛的治疗水平；染毒前 5 min，每只眼睛滴 1~2 滴眼部局部麻醉剂(0.5%盐酸丙哌卡因或 0.5%盐酸丁卡因)；染毒后 8 h，皮下注射给予丁丙诺啡 0.01 mg·kg^{-1} 和美洛昔康 0.5 mg·kg^{-1}，以提供持续的全身镇痛治疗水平等。

2.6 眼损害评分标准及眼刺激性分级标准

除了《规范》中列出的评分项目外，GBZ/T240.5-2011 和 GB/T21609-2008 均增加了角膜受损面积、结合膜分泌物，且该 2 项标准均需通过计算角膜、虹膜、结合膜损伤的加权积分来判断眼受试物刺激性分级，见表 8。

3 《规范》制修订建议

3.1 皮肤刺激性/腐蚀性试验

对于不进行试验的情况，建议《规范》增加体外试验结果的相关内容；避免动物毛发生长密集的区域影响受试物与皮肤的良好接触，进而影响试验结果的准确性，增加不应在长有浓密岛状毛的部位进行受试物的试验；因化妆品产品的类型多样，建议增加特殊类型受试物的染毒方式，如膜类等；“多次皮肤刺激性试验”的第 2 天试验步骤描述比较简单，为增强指导性和可操作性，建议参考 GB/T15670.7-2017；参考 GB/T15670.7-2017，增加《皮肤刺激反应评分表》和《皮肤刺激强度分级表》中皮肤腐蚀性的相关描述和规定。

3.2 急性眼刺激性/腐蚀性试验

对于不进行试验的情况，建议《规范》增加体外试验结果的相关内容；对受试物的处理，建议增加挥发性物质的染毒方式，喷雾染毒方式的方法模拟；为增加可操作性，建议参考 GB/T21609-2008 对荧光素钠的检查方法进行具体化。

3.3 其他

考虑到受试物处理方式对试验结果的影响，《规范》在“急性眼刺激性/腐蚀性试验”明确要求气溶胶产品需喷至容器中，收集其液体再使用，但在皮肤刺激性/腐蚀性试验中，未对此类受试物的具体处理方式作出规定，建议作进一步明确或说明，以保证检验检测结果的准确性。此外，在科学合理的前提下，毒理等相关各试验方法中的受试物处理方式应考虑尽量统一[11]。

表 8 眼损害评分标准及眼刺激性分级标准的差异比较

Tab. 8 Comparison of differences in grading criteria and classification standard of ocular lesions

标准文件	眼损害评分标准	眼刺激性分级标准	其他
《规范》	角膜：混浊 0~4 分 虹膜：0~2 分 结膜：充血 0~3 分；水肿 0~4 分	分为原料和产品	无
GBZ/T240.5-2011	角膜：混浊程度 0~4 分；角膜受损面积 1~4 分 虹膜：虹膜损伤 0~2 分 结膜：充血 0~3 分；水肿 0~4 分；结合膜分泌物 0~3 分	依据染毒后 4 d 内最高总积分平均值及刺激反应持续时间(总积分平均值)来判断眼刺激强度，包括无/轻/中度/重度刺激性	无
GB/T21609-2008	角膜：角膜浑浊 0~4 分；受损角膜面积 0~4 分 虹膜：虹膜损伤 0~2 分 结合膜：结合膜充血 0~3 分；结膜水肿 0~4 分；结合膜分泌物 0~3 分	按照染毒前 4 d 最高加权总积分值、规定时间点的加权总积分值及动物个体的加权总积分判定眼刺激性分级，包括无刺激性、实际无刺激性、轻微/轻度/中度/很重度/极重度刺激性	附录中列出了其他眼刺激反应的检查所见、定义及符号，包括角膜新生血管形成、眼睛继发性损伤所见、角膜的荧光检查、染毒后的临床表现
GB/T15670.8-2017	同《规范》	根据受试动物出现刺激反应的部位及恢复时间，分级为无/轻度/中度/强刺激性及腐蚀性	无
OECD 405	角膜：浑浊度 0~4 分 虹膜：0~2 分 结膜：充血 0~3 分；水肿 0~3 分	UN GHS 分类：不分类；2 类，2A 或 2B 类；1 类	无

4 结语

安全性评价是保证化妆品使用安全的重要手段。经过近 30 年的发展，中国制、修订并逐步完善化妆品安全评价标准体系，在保障消费者的化妆品使用安全方面发挥了重要的作用。但中国的化妆品安全评价体系也面临诸多挑战，存在化妆品卫生规范和技术标准并存，且由不同的主管部门制定颁布，缺乏统一的组织协调机制，标准项目易产生交叉、重叠的问题[12]。依托于中国食品药品检定研究院委托的“化妆品毒理试验相关标准体系五年规划”项目，本文针对毒理学试验方法中的皮肤刺激性/腐蚀性试验、急性眼刺激性/腐蚀性试验，通过与国标相关标准及国外标准进行比对，主要针对各标准之间的对同一事项规定不一致的情形，并在此基础上提出意见和建议，最终希望能够完善化妆品安全性毒理学评价程序和试验方法标准，建立适应中国国情的化妆品安全评价体系，以保证标准的统一性、时效性、科学性和先进性，满足化妆品安全监管需要，促进化妆品行业发展。

REFERENCES

[1] 国家药品监督管理局. 化妆品安全技术规范(2015 年版)[S]. 2015.

[2] 中华人民共和国卫生部. 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[3] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 急性皮肤刺激性/腐蚀性试验方法: GB/T 21604—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[4] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 农药登记毒理学试验方法 第 7 部分：皮肤刺激性/腐蚀性试验: GB/T 15670.7—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[5] OECD. Test No.404. OECD guideline for the testing of chemicals Acute Dermal Irritation/Corrosion[S]. 2015.

[6] 中华人民共和国卫生部. 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 5 部分: 急性眼刺激性/腐蚀性试验: GBZ/T240.5—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[7] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 急性眼刺激性/腐蚀性试验方法: GB/T21609—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[8] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 农药登记毒理学试验方法 第 8 部分: 急性眼刺激性/腐蚀性试验: GB/T15670.8—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[9] OECD. Test No.405. OECD guideline for the testing of chemicals *in vivo* eye irritation/serious eye damage[S]. 2021.

[10] GAO J M, GAO J, WANG G L. Study on sampling methods of sunscreen spray cosmetics with propellant[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2019, 49(5): 341-345.

[11] SU Z, GAO J M, LI L, et al. A review on international regulatory progress and technical supervision of spray-sunscreen[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2022, 52(1): 69-76.

[12] XIE Z, SANG J, GAO H, et al. Standard comparison of toxicological test methods for cosmetics[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(24): 3097-3101.

收稿日期：2022-06-24

(本文责编：沈倩)