

化妆品毒理学试验方法的标准比对(II)

何立成, 桑晶, 谢珍, 瞿霖吉, 康桦, 匡荣* (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, 浙江省药品接触材料质量控制研究重点实验室, 杭州 310052)

摘要:《化妆品新原料注册备案资料管理规定》对化妆品新原料进行了分类管理, 制订了系统、详实的新原料注册/备案资料清单。本文对此进行梳理, 并比较了国内外急性经口毒性试验、亚慢性经口毒性试验和慢性毒性/致癌性结合试验标准, 对现有的化妆品标准提出意见和建议。

关键词: 化妆品; 急性经口毒性试验; 亚慢性经口毒性试验; 慢性毒性/致癌性结合试验; 标准比对

中图分类号: R992 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)16-2224-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222389

引用本文: 何立成, 桑晶, 谢珍, 等. 化妆品毒理学试验方法的标准比对(II)[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2224-2230.

Standard Comparison of Toxicological Test Methods for Cosmetics (II)

HE Licheng, SANG Jing, XIE Zhen, QU Linji, KANG Hua, KUANG Rong* (Zhejiang Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Animal Alternative Testing Technology of Cosmetics, Key Laboratory of Drug Contacting Materials Quality Control of Zhejiang Province, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: "Measures for the Administration of the Registration and Recordation of Cosmetics" classified new cosmetic raw materials, setting a systematic and detailed request list for new raw materials registration and recordation. This paper sorted out the requirements and compared domestic and foreign standards for acute oral toxicity test, subchronic oral toxicity test and combined chronic toxicity/carcinogenicity test, providing comments and suggestions on current standards.

KEYWORDS: cosmetics; acute oral toxicity test; subchronic oral toxicity test; combined chronic toxicity/carcinogenicity test; standard comparison

化妆品原料是化妆品安全的基础, 是行业创新发展的源泉。原国家食品药品监督管理局 2011 年发布的《化妆品新原料申报与审评指南》较为简略, 无分类管理, 审评尺度也未结合化妆品原料的特点。2021 年 5 月 1 日起施行的《化妆品新原料注册备案资料管理规定》^[1](以下简称《规定》)对化妆品新原料进行了分类管理, 制订了系统、详实的新原料注册/备案资料清单。

《规定》在毒理学试验项目要求中明确提出, 申请注册或进行备案的化妆品新原料原则上应当提供以下毒理学试验项目资料: ①急性经口或急性经皮毒性试验; ②皮肤和眼刺激性/腐蚀性试验; ③皮肤变态反应试验; ④皮肤光毒性试验(原料具有紫外线吸收特性需做该项试验); ⑤皮肤光变态反应试验(原料具有紫外线吸收特性需做该项试验); ⑥致突变试验(至少应当包括 1 项基因突变试验和 1 项染色体畸变试验); ⑦亚慢性经口或经皮毒性试验(如

果该原料在化妆品中使用经口摄入可能性大时, 应当提供亚慢性经口毒性试验); ⑧致畸试验; ⑨慢性毒性/致癌性结合试验; ⑩吸入毒性试验(原料有可能吸入暴露时须做该项试验); ⑪长期人体试用安全试验; ⑫根据原料的特性和用途, 需提供其他项目的毒理学试验资料。同时, 《规定》根据新原料的功能、性状, 以及在国内外化妆品中使用历史情况, 或者食用历史情况等将新原料分为 6 种情形, 申请人按情形提交相应的毒理学试验项目资料, 见表 1。

在前文《化妆品毒理学试验方法的标准比对》^[2]中, 课题组比较了急性经皮毒性试验(1)、亚慢性经皮毒性试验(7)和致畸试验(8)的国内外标准, 本文继续比较急性经口毒性试验(1)、亚慢性经口毒性试验(7)和慢性毒性/致癌性结合试验(9)的国内外相关标准, 分析目前中国现行标准存在的具体问题并提出建议。如各标准基本一致则不在本文中体现。

基金项目: 浙江省药品监督管理局系统科技计划项目(2021024)

作者简介: 何立成, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: helicheng@zjyj.org.cn *通信作者: 匡荣, 男, 博士, 主任药师 E-mail: kuangrong@zjyj.org.cn

表 1 各情形需提供的毒理学试验项目资料

Tab. 1 Toxicological test data to be supplied in each circumstance

序号	具体情形	毒理学试验项目											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	①国内外首次；②高风险*、较高生物活性	○	○	○	▲	▲	○	○	○	○	▲	○	▲
2	①国内外首次；②非高风险	○	○	○	▲	▲	○	○	-	-	-	-	-
3.1	①国外上市安全使用3年以上；②非高风险	○	○	○	▲	▲	○	-	-	-	-	-	-
3.2	满足“3.1”情形且有国外安全评估报告或人体安全报告	-	○	○	▲	▲	○	-	-	-	-	-	-
4	①国外上市安全使用>3年；②高风险	○	○	○	▲	▲	○	○	-	-	-	-	-
5	有安全食用历史	-	○	○	▲	▲	-	-	-	-	-	-	-
6	大分子聚合物	-	○	-	▲	-	-	-	-	-	-	-	-

注：*具有防腐、防晒、着色、染发、祛斑美白、防脱发、祛痘、抗皱(物理性抗皱除外)、去屑、除臭功能的新原料。○必选；▲依据原料情况选择；-不要求。

Note: * new cosmetic raw materials with anti-corrosion, sunscreen, coloring, hair coloring, freckle removal or skin whitening, hair loss prevention, acne removal, anti-wrinkle(except physical anti-wrinkle), anti-dandruff and deodorizing functions. ○ required; ▲ according to the material; - not required.

1 急性经口毒性

急性经口毒性试验是评估化妆品原料毒性特性的第一步，通过短时间经口染毒可提供受试物对健康危害的信息。试验结果可作为化妆品原料毒性分级、标签标识以及确定亚慢性毒性试验和其他毒理学试验剂量的依据。本文从动物选择、剂量设计、LD₅₀测定方法、受试物经口毒性分级等方面，将 GB/T 21603-2008《化学品急性经口毒性试验方法》^[3]、GB/T 21804-2008《化学品急性经口毒性固定剂量试验法》^[4]、GB/T 21826-2008《化学品急性经口毒性上下法》^[5]、GBZ/T 240.2-2011《化学品毒理学评价理疗和试验方法第 2 部分：急性经品毒性试验》^[6]、GB 15193.3-2014《食品安全国家标准急性经口毒性试验》^[7]、经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) TG420《化学品急性经口毒性固定剂量法》^[8]、423《化学品急性经口毒性等级分级法》^[9]、425《化学品急性经口毒性上下法》^[10]与《化妆品安全技术规范》^[11](以下简称《规范》)进行比对。

1.1 动物选择

《规范》未对啮齿类动物的周龄和体质量进行规定，而其他标准均有规定：GB/T 21603-2008、GBZ/T 240.2-2011、GB 15193.3-2014 均规定了体质量，GB/T 21826-2008、OECD TG 420、423、425 规定了周龄，GB/T 21804-2008 规定了周龄和常用体质量。由于动物体质量、周龄对毒性反应有较大影响，建议《规范》对此做出规定。

1.2 剂量设计

《规范》要求设置 4~6 个剂量组，而 GB/T 21603-2008、GBZ/T 240.2-2011 只要求设置 4~5 个

剂量组。当使用限量法时，《规范》要求为 10 只动物(雌雄各半)口服 5 000 mg·kg⁻¹不引起死亡，GB/T 21603-2008 要求为 20 只动物(雌雄各半)，GB 15193.3-2014 同样要求 20 只动物(雌雄各半)且剂量上限为 10g·kg⁻¹，而 OECD 的所有指南考虑到动物福利和 3R 原则，使用的动物数均每组<5 只(单一性别)，设置的剂量组也尽可能少。因此，建议《规范》要求设置 4~5 个剂量组，限量法使用的动物数不变。

1.3 半数致死量(median lethal dose, LD₅₀)测定方法

《规范》里建议采用一次最大限度试验、霍恩氏法、上-下法、概率单位-对数图解法和寇氏法等测定 LD₅₀，但并未在正文及附录里提及这些方法的具体做法，而其他标准均以正文、附录或单独标准等方式体现，因此建议《规范》在正文或附录里加上这些内容，方便申请人和检验检测机构选择合适的方法。

1.4 受试物经口毒性分级

与 GB/T 21603-2008 相比，对于受试物经口毒性试验《规范》少了“剧毒”，对低毒的标准设立了 5 000 mg·kg⁻¹的上限，并增加了“实际无毒”级，与 GB 15193.3-2014 相比，《规范》少了“极毒”，GB 15193.3-2014 的“剧毒”和《规范》的“高毒”一致，见表 2。由于用于化妆品的原料毒性可能比普通化学品低，因此《规范》的毒性分级可不进行更改。另外，OECD 的分级标准和国内不同，为全球化学品统一分类和标签制度(GHS)标准，因此不在此进行比较；GBZ/T 240.1 附录 C 列举了 8 种急性经口毒性分级标准供试验者参考，因此也不进行比较。

表 2 受试物急性经口毒性分级(LD₅₀)Tab. 2 Acute oral toxicity classification of test substances (LD₅₀)

标准号	极毒	剧毒	高毒	中等毒	低毒	实际无毒
《规范》	-	-	≤50	51~500	501~5 000	>5 000
GB/T 21603-2008	-	<5	5~	50~	>500	-
GB 15193.3-2014	<1	1~50	-	51~500	501~5 000	>5 000

2 亚慢性经口毒性试验

亚慢性经口毒性试验是判断受试物长期毒性作用的必选方法之一,通过该试验不仅可获得一定时期内反复接触受试物后引起的健康效应、受试物作用靶器官和受试物体内蓄积能力资料,还可估计接触的无有害作用水平,后者可用于选择和确定慢性试验的接触水平,并初步计算人群接触的安全性水平。

本文从动物选择、恢复期(追踪观察期)、受试物给予、体质量测定、临床检查、病理检查等方面,将 GB/T 21763-2008《化学品啮齿类动物亚慢性经口毒性试验方法》^[12]、GBZ/T 240.18-2011《化学品毒理学评价程序和试验方法第 18 部分:亚慢性经口毒性试验》^[13]、GB 15193.13-2014《食品安全国家标准 90 天经口毒性试验》^[14]、OECD TG 408《化学品啮齿类动物 90 天经口毒性研究》^[15]与《规范》进行比对。

2.1 动物选择

GB/T 21763-2008 要求大鼠以断奶后为宜,≤9 周龄;GBZ/T 240.18-2011 要求大鼠 6 周龄为宜,≤9 周龄;GB 15193.13-2014 要求大鼠≤6 周龄,体质量 50~100 g;TG 408 要求与 GB/T 21763-2008 一致;《规范》要求为 6~8 周龄大鼠。考虑到大鼠 3~4 周断奶,6~8 周龄性成熟,如果受试物为儿童化妆品或对性成熟、内分泌等有影响,则需要从 4 周龄开始给药,因此建议《规范》放宽大鼠周龄要求,与 GB/T 21763-2008 和 TG408 一致,让申报人根据受试物自行选择合适的起始周龄。

2.2 恢复期(追踪观察期)

《规范》要求为另设一组追踪观察组,选用 20 只动物(雌雄各半),给予最高剂量受试物 90 d,恢复期不少于 28 d。GB/T 21763-2008 和 TG408 要求为 10 只动物(雌雄各半),恢复期时长根据毒性自行选择。GBZ/T 240.18-2011 提供了 2 种方法,一种与《规范》一致,另一种是在试验设计时每组增加一定的动物数,试验结束时每组剖杀部分

动物,剩余动物继续观察。GB 15193.13-2014 要求对照和高剂量增加卫星组,每组 10 只(雌雄各半),但未规定恢复期时长。对比以上标准,发现除食品标准外,其他标准均未指明要求包含对照组,但恢复期高剂量组无法与给药期对照组比较,因此建议《规范》明确恢复期对对照组的要求。此外,根据动物福利和 3R 原则,建议《规范》减少恢复期使用的大鼠数量至 10 只动物(雌雄各半)。

2.3 受试物给予

《规范》要求每周 7 d 染毒,GB 15193.13-2014 要求每周 6 d 染毒,而 GB/T 21763-2008、GBZ/T 240.18-2011 和 TG 408 可每周染毒 5 d 但需说明理由,建议《规范》参考其他标准,明确每周染毒 5 d 是否可以接受。

2.4 体质量测定

GB 15193.13-2014 要求前 4 周每周 2 进行 2 次体质量测定,之后每周 1 次,其他标准均为每周 1 次,可能是由于 GB 15193.13-2014 要求大鼠起始体质量较低,大鼠在前 4 周的体质量变化较大所致,如果《规范》放宽了大鼠起始体质量,可对 4 周龄开始给受试物的大鼠要求每周称体质量 2 次,持续 2~4 周,而对 6 周龄开始给受试物的大鼠仍维持每周称 1 次体质量的要求。

2.5 临床检查

2.5.1 检查时间 《规范》要求染毒前、染毒中期、染毒结束及追踪观察结束时进行血液、血液生化检查,一般不检查尿液。GB/T 21763-2008 和 TG408 要求在实验结束进行血液、血液生化检查,在最后一周进行尿液检查,并且明确指出只有在历史数据不足时才可进行染毒前的血液、血液生化指标检测,一般不推荐在染毒前获取这些数据,但另外规定了可以在试验中期进行血液生化检查。GBZ/T 240.18-2011 与 GB/T 21763-2008 和 TG 408 要求基本一致。GB 15193.13-2014 要求在试验中期(卫星组)、试验结束、恢复期结束(卫星组)进行血液、血液生化和尿液的检查,但主试验组大鼠仅在试验结束时进行血液和血液生化检查。综合上述

标准, 建议《规范》减少检查次数, 取消染毒前的检查, 主试验组仅在染毒结束进行检查, 如有必要可设卫星组在染毒中期进行血液学、血液生化检查, 追踪观察用大鼠在追踪观察结束检查。

2.5.2 检查项目

2.5.2.1 血液学 《规范》和 GBZ/T 240.18-2011 要求检测血细胞比容(hematocrit, HCT)、血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、红细胞数(red blood cell count, RBC)、白细胞总数(white blood cell count, WBC)和分类, 必要时测定凝血功能如凝血时间(clotting time, CT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)或血小板数(platelet, PLT)等指标。GB/T 21763-2008 要求和《规范》类似, 但其对凝血功能的检查描述为 CT、凝血能力的测定, 没有设具体的项目, 与 TG 408 的描述一致, 推测相关的指标为 PT、APTT 等。GB 15193.13-2014 要求与其他标准基本一致, 但更为详细, 比如规定了白细胞为至少 3 分类, 凝血相关指标为 PT 和 APTT, 如果受试物对血液系统有影响应加测网织红细胞、骨髓涂片等。综合各标准情况, 建议《规范》对凝血功能的检测指标描述为 PT、APTT, 去除 CT, 并增加网织红细胞相关内容。

2.5.2.2 血液生化 《规范》推荐的指标有钙、磷、氯、钠、钾、禁食血糖(glucose, GLU)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase; ornithine decarboxylase, ODC)、 γ 谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, GGT)、尿素氮(urea nitrogen, BUN)、白蛋白(albumin, ALB)、肌酐(creatinine, CREA)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)及总蛋白(total protein, TP)。GB/T 21763-2008 和 TG408 少了钙、磷、氯, 在反映肝损伤的指标选择上也与《规范》有较大不同, 该标准要求在一系列反映肝损伤的酶中选择 2 项以上, 可选的除 ALT、AST、GGT 以外还有碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和山梨酸脱氢酶(sorbitol dehydrogenase, SDH)。GBZ/T 240.18-2011 必须检测的指标比《规范》多了 ALP、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH), ODC、GGT 为补充指标。GB 15193.13-2014 必须检测的指标比《规范》多了 ALP、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG), 钙、

磷、ODC 为补充指标。综合各标准和实际情况, 建议《规范》将 ODC、GGT、钙和磷从必须检测的项目中剔除, 而将 ALP 作为必选检测指标。

2.6 病理检查

《规范》和 GB/T 21763-2008、TG408 基本一致, 但没有对肺灌注提出要求, 三者要求脏器称重和检查数量高于 GBZ/T 240.18-2011 和 GB 15193.13-2014, 因此不需要修改。

3 慢性毒性/致癌性结合试验

化学物质在体内出现蓄积作用就会引发慢性毒性。当某种化学物质经 QSAR、遗传毒性试验、短期筛选试验等证明具有潜在致癌性, 或其化学结构与某种已知致癌剂十分相近, 而此化学物质有一定实际应用价值时, 就需用致癌性试验进一步验证。动物致癌性试验为人体长期接触该物质是否引起肿瘤的可能性提供资料。各标准体系中除了慢性毒性/致癌性结合试验外, 还分别有慢性毒性试验和致癌性试验, 由于《规范》将慢性毒性(12 个月)纳入到致癌性(24 个月)中进行评价, 故本文只对比各体系中的结合试验, 不单独对比慢性毒性试验和致癌性试验。本文从动物选择、恢复期(追踪观察期)、受试物给予、体质量测定、临床检查、病理检查等方面, 将 GB/T 21788-2008《化学品慢性毒性与致癌性联合试验方法》^[16]、GBZ/T 240.28-2011《化学品毒性学评价程序和试验方法第 28 部分: 慢性毒性致癌性联合试验》^[17]、GB 15193.17-2014《食品安全国家标准慢性毒性和致癌合并试验》^[18]、OECD TG 453《化学品慢性毒性致癌性结合试验》^[19]与《规范》进行比对。

3.1 动物年龄选择

除 GB 15193.17-2014 要求一般周龄为 6~8 周外, 其他标准均要求大鼠刚断奶就尽快开始试验, 最好在 6 周龄之前, 考虑到大鼠的寿命和给药 24 个月的周期, 不建议《规范》对此进行更改。

3.2 剂量及分组

在剂量设置上几个标准有些许不同, 《规范》和 GBZ/T 240.28-2011 要求低剂量一般不应低于高剂量的 10%。GB/T 21788-2008 要求低剂量一般不应低于上一高剂量的 10%。GB 15193.17-2014 要求剂量组间距以 2~4 倍为宜, ≤ 10 倍。TG 453 对剂量间隔倍数没有明确的要求, 但在设置第 4 剂量组时通常使用较大的间隔倍数如 6~10 倍, 但不建议 >10 倍。综合各标准, 建议《规范》将低剂量

一般不应低于高剂量的 10%改为不低于上一高剂量的 10%，即剂间比 <10 。此外 GB/T 21788-2008 和 TG453 还规定了饲料中掺入毒物量不应 $>5\%$ ，GB 15193.17-2014 要求掺入量一般 $<5\%$ ，若 $>5\%$ (最大不应 $>10\%$)则应调整营养素水平，建议《规范》对此进行规定。

3.3 染毒时间

《规范》要求 1 周灌胃 7 d, GB/T 21788-2008、TG453 和 GBZ/T 240.28-2011 建议 1 周灌胃 7 d，但是考虑到实际情况，1 周灌胃 5 d 也可以接受，但要说明理由，而 GB 15193.17-2014 要求 1 周灌胃 6 d。由于染毒时间长和动物数量大，建议《规范》对此进行调整。

3.4 体质量、摄食量、饮水量

《规范》和 GB/T 21788-2008 要求前 13 周每周测 1 次体质量，1 次摄食量，13 周后每 4 周测 1 次体质量，每 3 个月测 1 次摄食量。GBZ/T 240.28-2011 要求前 13 周每周测 1 次体质量，1 次摄食量，13 周后每 4 周测 1 次体质量，1 次摄食量。GB 15193.17-2014 要求前 4 周每周测 2 次体质量，5~13 周每周测 1 次体质量，之后每 4 周测 1 次体质量，摄食量和饮水量要求前 13 周每周测 1 次，之后每 4 周 1 次，并要求在试验结束时，计算动物体质量增长量、总摄食量、食物利用率(前 3 个月)、受试物总摄入量等。TG 453 要求前 13 周每周至少测 1 次体质量、摄食量、食物利用率、饮水量(经饮水给受试物时)，之后每月至少测 1 次以上项目。《规范》的要求较为合理，不用修改。

3.5 临床检查

3.5.1 眼科检查

《规范》和 GB/T 21788-2008 对眼科检查没有要求，只在日常观察时要求关注眼睛的变化，GBZ/T 240.28-2011 建议在染毒前后，对所有动物，至少是高剂量和对照组动物，进行眼科检查，若有眼科变化则应对所有动物进行检查。GB 15193.17-2014 要求试验前对动物的角膜、球结膜、虹膜进行检查，试验结束时，对高剂量组和对照组动物进行眼部检查，若高剂量组动物有眼部变化，则应对其他组动物进行检查。TG 453 建议在第 1 次使用受试物之前，应对所有动物进行眼科检查。研究结束时，至少要对高剂量组和对照组进行检查，最好对所有的动物进行检查。如果发现眼睛有变化，应检查所有动物。如果已知对眼睛有毒性作用还应提高检测频率。建议《规范》加入对眼科检查的要求。

3.5.2 血液学、血液生化及尿液检查

各标准血液学、血液生化及尿液检查的频率、检查动物数、其他特殊要求等的区别见表 3~5。建议《规范》增加“如果与 90 天经口毒性试验的剂量水平相当且未见任何血液学指标改变，则试验第 3 个月可不检查”；减少血液学检查动物数，与血液生化、尿液一致。由于目前大部分机构血液学检查使用全自动血液分析仪，血液生化检查使用全自动或半自动生化分析仪，尿液检查使用试纸条，因此建议《规范》对血液、血液生化、尿液的检查项目参考 GB 15193.17-2014 和 TG 453，作适当增加。

表 3 各标准血液学检查频率和范围对比

Tab. 3 Comparison of each standards on frequency and range of haematology

标准	检查频率	检查动物数	检查项目	其他
《规范》	3 个月、6 个月、以后每隔 6 个月、实验结束时	各组每个性别 20 只大鼠，每次采集的血标本应来自相同的大鼠	HGB、HCT、RBC、WBC、PLT、其他 凝血试验。最高剂量组和对照组大鼠应在同样的时间间隔内进行白血球分类计数，中等剂量组大鼠只是在必要时才做	无
GB/T 21788-2008		非啮齿类全部动物，啮齿类 20 只/性别/组，每次检查的动物最好相同		
GBZ/T 240.28-2011		非啮齿类全部动物，大鼠 10 只/性别/组，每次检查的动物最好相同		如果没有该品系动物的历史资料时，可在实验开始时做正常值
GB 15193.17-2014	3 个月、6 个月、12 个月、必要时，试验第 18 个月试验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物，每次检查应尽可能使用同一动物	HGB、HCT、红细胞平均容积(MCV)、红细胞平均血红蛋白量(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度、RBC、WBC(至少三分类)、PLT、PT、APTT 等，如果对造血系统有影响，应加测网织红细胞计数和骨髓涂片	如果与 90 d 经口毒性试验的剂量水平相当且未见任何血液学指标改变，则试验第 3 个月可不检查
TG 453	3 个月、6 个月、12 个月、实验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物。小鼠使用 卫星动物，非啮齿类 4 只/性别/组		

表 4 各标准血液生化检查频率和范围比对

Tab. 4 Comparison of each standards on frequency and range of clinical biochemistry

标准	检查频率	检查动物数	检查项目	其他
《规范》	每 6 个月、实验结束时	各组每个性别 10 只大鼠,尽可能在各个时间间隔内采取相同的大鼠血标本	TP、ALB、肝功能试验(如 ALP、ALT、AST、GGT、ODC); 糖代谢, 如糖耐量; 肾功能, 如 BUN 糖代谢, 如 GLU; 其他同上	无
GB/T 21788-2008				
GBZ/T 240.28-2011	3 个月、6 个月、以后每隔 6 个月、实验结束时	非啮齿类全部动物, 大鼠 10 只/性别/组, 每次检查的动物最好相同	ALT、AST、BUN、CREA、TP、ALB、Ca、P、Na、K、Cl、GLU、ALP、TBIL。某些情况须检测有关酶、胆酸、脂类、激素、高铁血红蛋白、胆碱酯酶活性等; 有脏器改变应增加检测指标	
GB 15193.17-2014	3 个月、6 个月、12 个月、必要时, 试验第 18 个月试验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物, 每次检查应尽可能使用同一动物	至少包含 ALT、AST、ALP、GGT、BUN、CREA、GLU、TP、ALB、TC、TG、Ca、Na、K、Cl、TBIL。必要时检测 P、尿酸(UA)、总胆汁酸(TBA)、球蛋白(GLOB)、胆碱酯酶(ChE)、特定激素、高铁血红蛋白、SDH 等	如果与 90 d 经口毒性试验的剂量水平相当且未见任何血液学指标改变, 则试验第 3 个月可不检查
TG 453	3 个月、6 个月、12 个月、实验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物。小鼠使用卫星动物, 非啮齿类 4 只/性别/组	BUN、CREA、GLU、TP、ALB、TC、TG、Ca、Na、K, 至少 2 项肝细胞测试(ALT、AST、谷氨酸脱氢酶(GDH)、TBA)及至少两项肝胆测试(ALP、GGT、5'-核苷酸酶(5'-NT)、TBIL、TBA)。根据药物的毒性, 可以适当地测量特定的激素和 ChE	

表 5 各标准尿液检查频率和范围比对

Tab. 5 Comparison of each standards on frequency and range of urinalysis

标准	检查频率	检查动物数	检查项目	其他
《规范》	3 个月、6 个月、以后每隔 6 个月、实验结束时	收集各组每性别 10 只大鼠尿样进行分析, 每次检查的动物最好相同	外观; 每个动物的尿量和比重; 蛋白, 糖, 酮体, 潜血(半定量); 沉淀物镜检(半定量)	可单个进行, 也可每组同性别的尿标本混在一起测定
GB/T 21788-2008				无
GBZ/T 240.28-2011		非啮齿类全部动物, 大鼠 10 只/性别/组, 每次检查的动物最好相同	外观、pH 值、蛋白、糖和潜血。如有毒反应指征, 则可增加有关的尿液检查项	无
GB 15193.17-2014	3 个月、6 个月、12 个月、必要时, 试验第 18 个月试验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物	外观、比重、pH 值、蛋白、糖和潜血。如有毒反应指征, 则可增加尿沉渣镜检和细胞分析	如果与 90 d 经口毒性试验的剂量水平相当且未见任何血液学指标改变, 则试验第 3 个月可不检查
TG 453	3 个月、6 个月、12 个月、实验结束时	每组至少检查雌雄各 10 只动物。小鼠使用卫星动物, 非啮齿类 4 只/性别/组	外观、体积、渗透压或比重、pH 值、蛋白、糖、酮体、尿素原、胆红素和潜血。如有毒反应指征, 则可增加有关的尿液检查项	

3.6 病理检查

3.6.1 检查项目 各标准病理检查项目的区别见表 6。建议《规范》解剖脏器删除“生殖附属器官”，

将其准确定义；增加主动脉和骨髓检查，称重脏器增加心脏、脾和子宫，胸腺由于随大鼠年龄增加而逐渐萎缩，后期不宜称重，故不建议《规范》

表 6 各标准病理检查范围比对

Tab. 6 Comparison of each standards on range of pathology

标准	解剖脏器	称重脏器
《规范》	脑(髓/脑桥、小脑皮质、大脑皮质)、垂体、甲状腺(包括甲状旁腺)、胸腺、肺(包括气管)、心脏、唾液腺、肝、脾、肾、肾上腺、食管、胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠、膀胱、淋巴结、胰腺、性腺、生殖附属器官、乳腺、皮肤、肌肉、外周神经、脊髓(颈、胸、腰)、胸骨或股骨(包括关节)和眼, 肺和膀胱用固定剂填充能更好地保存组织	脑、肝、肾、肾上腺、性腺, 非啮齿类加甲状腺(旁腺)
GB/T 21788-2008	减少生殖器附属器官, 增加子宫	
GBZ/T 240.28-2011	增加主动脉	增加脾
GB 15193.17-2014	减少生殖器附属器官, 增加主动脉、骨髓、前列腺、子宫, 必要时增加精囊腺和凝固腺、副泪腺、任氏腺、鼻甲、子宫颈、输卵管、阴道、骨	增加心脏、脾、子宫、胸腺, 必要时增加甲状腺(旁腺)及前列腺
TG 453	增加眶外泪腺、前列腺、子宫颈、凝固腺、精囊腺、阴道、胆囊(除大鼠外的物种)、哈氏腺、骨髓切片或涂片, 必要时增加牙齿、舌头、上呼吸道(包括鼻子、鼻甲骨和副鼻窦、输尿管、尿道、股骨与关节、嗅球、胸骨等)	增加甲状腺(旁腺)、心脏、脾、子宫

增加胸腺的称重。

3.6.2 病理检查要求 各标准对病理检查的要求基本一致,但《规范》未对“受试物引起的动物寿命改变”和“种系自发病变”进行规定,建议增加。

4 结语

本文分别对国内外化学品、食品、化妆品的急性经口毒性试验、亚慢性经口毒性试验和慢性毒性/致癌性结合试验标准进行了详细对比,对现有的化妆品标准提出意见和建议,并希望依托“化妆品标准体系建设五年规划”对现有化妆品安全性评价程序和试验方法进行优化,使其更好地用于化妆品的研发及监管。

REFERENCES

- [1] 国家药品监督管理局:药监局公告2021年第31号.化妆品新原料注册备案资料管理规定[S].2021.
- [2] XIE Z, SANG J, GAO H, et al. Standard comparison of toxicological test methods for cosmetics[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(24): 3097-3101.
- [3] 中华人民共和国国家标准:GB/T 21603—2008, 化学品急性经口毒性试验方法[S].2008.
- [4] 中华人民共和国国家标准:GB/T 21804—2008, 化学品急性经口毒性固定剂量试验方法[S].2008.
- [5] 中华人民共和国国家标准:GB/T 21826—2008, 化学品急性经口毒性试验方法 上下增减剂量法(UDP)[S].2008.
- [6] 中华人民共和国国家职业卫生标准:GBZ/T 240.2—2011, 化学品毒理学评价程序和试验方法 第2部分:急性经口毒性试验[S].2012.
- [7] 中华人民共和国国家标准:GB 15193.3—2014, 食品安全国

家标准 急性经口毒性试验[S].2014.

- [8] OECD: Test No.420. OECD guideline for the testing of chemicals Acute Oral Toxicity—Fixed Dose Procedure[S].2001.
- [9] OECD: Test No.423. OECD guideline for the testing of chemicals Acute Oral Toxicity—Acute Toxic Class Method[S].2001.
- [10] OECD: Test No.425. OECD guideline for the testing of chemicals Acute Oral Toxicity—Up-and-Down-Procedure (UDP)[S].2008.
- [11] 国家药品监督管理局. 化妆品安全技术规范(2015)[S].2015.
- [12] 中华人民共和国国家标准:GB/T 21763-2008, 化学品啮齿类动物亚慢性经口毒性试验方法[S].2008.
- [13] 中华人民共和国国家职业卫生标准:GBZ/T 240.18—2011, 化学品毒理学评价程序和试验方法 第18部分:亚慢性经口毒性试验[S].2011.
- [14] 中华人民共和国国家标准:GB 15193.13—2014, 食品安全国家标准 90天经口毒性试验[S].2014.
- [15] OECD: Test No.408. OECD guideline for the testing of chemicals Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents[S].2018.
- [16] 中华人民共和国国家标准:GB/T 21788—2008, 化学品慢性毒性与致癌性联合试验方法[S].2008.
- [17] 中华人民共和国国家职业卫生标准:GBZ/T 240.28—2011, 化学品毒理学评价程序和试验方法 第28部分:慢性毒性/致癌性联合试验[S].2011.
- [18] 中华人民共和国国家标准:GB 15193.17—2014, 食品安全国家标准 慢性毒性和致癌合并试验[S].2014.
- [19] OECD: Test No.408. OECD guideline for the testing of chemicals Combined chronic toxicity/carcinogenicity studies[S].2018.

收稿日期:2022-07-05

(本文责编:曹粤锋)