

4 皮肤刺激性/腐蚀性试验

Dermal Irritation/Corrosion Test

1 范围

本规范规定了动物皮肤刺激性或腐蚀性试验的基本原则、要求和方法。
本规范适用于化妆品原料及其产品安全性毒理学检测。

2 试验目的

确定和评价化妆品原料及其产品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。

3 定义

3.1 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。

3.2 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。

4 试验的基本原则

将受试物一次(或多次)涂敷于受试动物的皮肤上,在规定的时间内,观察动物皮肤局部刺激作用的程度并进行评分。采用自身对照,以评价受试物对皮肤的刺激作用。急性皮肤刺激性试验观察期限应足以评价该作用的可逆性或不可逆性。

动物如果在试验的任何阶段出现严重抑郁、痛苦的表现,则应当给予人道地处死。依据试验情况对受试物进行适当评价。

5 试验方法

5.1 受试物

液体受试物一般不需稀释,可直接使用原液。若受试物为固体,应将其研磨成细粉状,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。使用其他溶剂,应考虑到该溶剂对受试物皮肤刺激性的影响。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,可按使用浓度为受试物再进行皮肤刺激性/腐蚀性试验。

受试物为强酸或强碱(pH 值 ≤ 2 或 ≥ 11.5),可以不再进行皮肤刺激试验。此外,若已知受试物有很强的经皮吸收毒性,经皮 LD_{50} 小于 200mg/kg 体重或在急性经皮毒性试验中受试物剂量为 2000mg/kg 体重仍未出现皮肤刺激性作用,也无需进行急性皮肤刺激性试验。

5.2 实验动物和饲养环境

多种哺乳动物均可被选为实验动物,首选白色家兔。应使用成年、健康、皮肤无损伤的动物,雌性和雄性均可,但雌性动物应是未孕和未曾产仔的。实验动物至少要用 4 只,如要澄清某些可疑的反应则需增加实验动物数。实验动物应单笼饲养,试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3d 时间。

实验动物及实验动物房应符合国家相应规定。选用标准配合饲料，饮水不限制。

5.3 急性皮肤刺激性试验步骤

5.3.1 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 3cm×3cm。

5.3.2 取受试物约 0.5 mL (g) 直接涂在皮肤上，然后用二层纱布 (2.5cm×2.5cm) 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。另一侧皮肤作为对照。采用封闭试验，敷用时间为 4h。对化妆品产品而言，可根据人的实际使用和产品类型，延长或缩短敷用时间。对用后冲洗的化妆品产品，仅采用 2 h 敷用试验。试验结束后用温水或无刺激性溶剂清除残留受试物。

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，将三个涂布受试物的纱布块同时或先后敷贴在一只家兔背部脱毛区皮肤上，分别于涂敷后 3 min、60min 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。

5.3.3 于清除受试物后的 1、24、48 和 72 h 观察涂抹部位皮肤反应，按表 1 进行皮肤反应评分，以受试动物积分的平均值进行综合评价，根据 24、48 和 72 h 各观察时点最高积分均值，按表 2 判定皮肤刺激强度。

5.3.4 观察时间的确定应足以观察到可逆或不可逆刺激作用的全过程，一般不超过 14d。

5.4 多次皮肤刺激性试验步骤

5.4.1 试验前将实验动物背部脊柱两侧被毛剪掉，去毛范围各为 3cm×3cm，涂抹面积 2.5 cm×2.5cm。

5.4.2 取受试物约 0.5mL(g) 涂抹在一侧皮肤上，当受试物使用无刺激性溶剂配制时，另一侧涂溶剂作为对照，每天涂抹 1 次，连续涂抹 14d。从第二天开始，每次涂抹前应剪毛，用水或无刺激性溶剂清除残留受试物。一小时后观察结果，按表 1 评分，对照区和试验区同样处理。

5.4.3 结果评价：按下列公式计算每天每只动物平均积分，以表 2 判定皮肤刺激强度。

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

表 1 皮肤刺激反应评分

皮肤反应	积分
红斑和焦痂形成	
无红斑	0
轻微红斑（勉强可见）	1
明显红斑	2
中度—重度红斑	3
严重红斑（紫红色）至轻微焦痂形成	4
水肿形成	
无水肿	0
轻微水肿（勉强可见）	1
轻度水肿（皮肤隆起轮廓清楚）	2
中度水肿（皮肤隆起约 1mm）	3
重度水肿（皮肤隆起超过 1mm，范围扩大）	4
最高积分	8

表 2 皮肤刺激强度分级

积分均值	强度
0 — < 0.5	无刺激性
0.5 — < 2.0	轻刺激性
2.0 — < 6.0	中刺激性
6.0 — 8.0	强刺激性

6 试验结果的解释

急性皮肤刺激试验结果从动物外推到人的可靠性很有限。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。若用其他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靠性。试验中使用封闭式接触是一种超常的实验室条件下的试验，在人类实际使用化妆品过程中很少存在这种接触方式。