附件19

化妆品原料及其产品毒理学试验样品前处理技术要求

Technical requirements for pretreatment of cosmetic materials and products in toxicological experiments

1 范围

本规范规定了毒理学试验样品前处理的基本原则、要求和方法。

本规范适用于化妆品原料及其产品的毒理学试验检测。

2试验目的

在毒理学试验开始之前，首先应对样品进行前处理操作，通过样品前处理可以增加受试物与试验体系（包括实验动物、细胞、细菌等）的接触，增加样品吸收率，使样品性状更利于试验操作，保证毒理学试验的科学性和严谨性。

3 定义

3.1前处理

指在毒理学试验开始前，对受试样品进行溶解、研磨、混匀、赋形、剂量分组、合理保存等一系列的准备性操作。

3.2溶剂

能溶解受试样品成为均匀混合物的一种介质，可使受试物更好地进入试验体系，也称作溶媒。可分为有无机溶剂和有机溶剂，其中最常用的溶剂为蒸馏水，常见的有机溶剂有玉米油、DMSO、甘油等。

4 前处理的基本原则

化妆品原料及其产品的前处理方式需要综合考虑样品的理化性质和毒理学试验方案。对于化妆品原料而言，应根据受试物的理化特性和染毒方式确定前处理方法。对于化妆品产品而言，则主要考虑化妆品产品的物理性状和实际应用中的使用方法。稀释产品的前处理应保证最终供试品浓度不低于实际使用浓度。

5 前处理方法

根据毒理学试验的要求，需进行前处理（如去除已知干扰性成分、多剂量）的受试物，应提供处理方法、组成成分及比例，并提供相应的资料。受试物的处理不能改变其原有的毒理学性质。受试物进行不同试验时，应结合毒理学试验项目的染毒方式和受试物的理化性质进行相应的前处理工作。

5.1 溶剂的选择

化妆品原料及其产品的前处理应不改变样品的毒理学性质。多组分化妆品在前处理时，要遵循现用现配的操作规范。当样品需要溶解时，应注意溶剂的选择，以保证样品充分溶解或混悬。

溶剂的选择应充分了解其毒理特性。溶剂应无特殊刺激性或气味，本身应不产生毒性作用，与受试物各成分之间不发生化学反应，且保持其稳定性，如使用其他溶剂应说明理由。

体外遗传毒性试验中，所选溶剂必须是非致突变物，且不能影响细胞或细菌存活以及S9的活性。Ames试验常用溶剂首选无菌蒸馏水，其次DMSO、四氢呋喃、丙酮等。细胞试验常用溶剂首选培养液（不含血清）或无菌蒸馏水，其次DMSO、丙酮、甘油等；使用有机溶剂时，终浓度应不大于一定比例，如DMSO使用时浓度不应大于0.5%。

5.2化妆品原料

化妆品原料的前处理方法主要取决于样品的物理形态和染毒方式，具体如下：

5.2.1液态

（1）准备器材：一次性注射器（2mL-5mL），量筒（10mL），烧杯，搅拌棒，溶剂等。

（2）取样：根据毒理学试验项目、染毒方式以及样品原液性质计算各剂量组稀释倍数，然后用一次性注射器或量筒量取相应体积的样品原液，加入适宜溶剂中，并搅拌混匀。也可应用等比例稀释法。若样品原液为多介质分层液体，应上下摇晃，使其充分混匀后，再做稀释分组。若毒理学试验项目未明确要求剂量分组时，可使用一次性注射器或量筒直接量取样品原液。

（3）储存：将配置好的供试液密封，防止杂质污染，根据样品原液的储存方式选择室温或冷藏暂放。样品配制应适量，遵守现用现配的原则，防止样品在储存过程中发生变质或变性。

5.2.2 固态

（1）准备器材：研钵，电子天平，称量纸，称量勺，量筒（10mL），烧杯，搅拌棒，溶剂等。

（2）取样：首先根据样品物理性状，考虑是否需要研磨，若样品原样为细粉状，则无需研磨；否则，应先使用研钵，将块状、膏状等固体性状，充分研磨成细粉状或糊状。然后根据毒理学试验项目、染毒方式以及样品原样性质计算各剂量组浓度，用电子天平称量相应重量的样品，加入适宜溶剂中，并搅拌混匀。若毒理学试验项目未明确要求分剂量组时，可直接用电子天平称量相应重量的样品；如果试验项目为经皮染毒时，可考虑用最小体积的溶剂将样品湿化，或在正式试验时，先湿化皮肤。

（3）储存：将配置好的供试液密封，防止杂质污染，根据样品原样的储存方式选择干燥通风的环境，室温或冷藏暂放。样品配制应适量，遵守现用现配的原则，防止样品在储存过程中发生潮化或变质。

5.2.3 难溶样品

不溶于水或有机溶剂的难溶样品，常见处理方法有（1）使用样品浸提液。根据样品理化性质选择适宜浸提介质、浸提比例、浸提温度、浸提时间和浸提方法，并提供相应说明。（2）加入悬浮剂或赋形剂，使样品悬浮其中，形成分布均匀的混合物。悬浮剂或赋形剂应对皮肤无毒副作用、无色无味，且稳定性高。常见的悬浮剂及赋形剂有：玉米油、淀粉、明胶等。

5.3化妆品产品

化妆品产品进行毒理学试验的前处理工作时，主要根据化妆品产品剂型分类处理，此外，还需要考虑化妆品的实际使用方法等因素。

5.3.1 液体剂型化妆品产品

化妆品中的液体剂型（露、液、水、油、油水分离等），除膏、霜、蜜、脂以外的膏霜乳剂型（乳、乳液、奶、奶液等）、凝胶剂型（啫喱、胶等）等流动性的化妆品产品均可参照5.2.1处理。乳化类的液体产品稀释时，需根据产品特征选择极性或非极性溶剂。

5.3.2 固体剂型化妆品产品

化妆品中膏霜乳类中的膏体、霜类、蜜、脂，以及粉剂剂型（散粉、颗粒等），块状剂型（块状粉、大块固体等），泥状剂型（泥状固体等），蜡基剂型（以蜡为主要基料的产品）等固体化妆品产品的前处理方式可参照5.2.2处理。

5.3.3 敷贴类化妆品产品

化妆品中贴、膜、含基材剂型（贴、膜、含配合化妆品使用的基材类）的化妆品产品前处理方法如下：

（1）准备器材：取剪刀，一次性注射器（2mL-5mL），量筒（10mL），溶剂等。

（2）取样：根据毒理学试验项目和产品的使用方式，如若经皮接触，首先用剪刀将样品裁剪成适宜的形状（如2.5\*2.5cm的方块），比如含基质材料的面膜类；当原产品形状不足尺寸时，可叠加多个直到满足形状要求，比如痘痘贴类；如若经眼睛接触，可将样品液从产品袋中挤出，然后按照5.2.1处理。

（3）储存：将配置好的供试液密封，防止杂质污染，根据样品的储存方式选择室温或冷藏暂放。

5.3.4按配比使用的化妆品产品

染发剂、烫发剂等需按比例配制使用的化妆品，其前处理工作应与产品实际使用方法保持一致，具体如下：

（1）准备器材：一次性注射器（2mL-5mL）,量筒（10mL），电子天平，搅拌棒等。

（2）取样：根据化妆品产品的使用说明，用电子天平或一次性注射器定量取相应质量的各组分样品，然后搅拌使其充分均匀。

（3）储存：将配置好的供试液密封，防止杂质污染，根据样品的储存方式选择室温或冷藏暂放。此类化妆品产品应严格遵守现用现配原则。

5.3.5 气雾剂剂型及喷雾剂剂型化妆品产品

化妆品中气雾剂剂型（含推进剂）及喷雾剂剂型的化妆品前处理如下：

（1）准备器材：烧杯，一次性注射器（2mL-5mL）等。

（2）取样：一般情况下，首先将样品喷至烧杯容器中，收集其液体，再按照5.2.1处理。若样品因为蒸发而无法收集时，可模拟产品的实际使用方法，直接将产品在受试动物正前方10cm处喷射，此距离可根据喷雾压力及内容物做出适度调整。

（3）储存：将配置好的供试液密封，防止杂质污染或挥发，根据样品原液的储存方式选择室温或冷藏暂放，等待试验。

5.3.6 具有特殊使用方法的化妆品产品

若产品备注有特殊使用方法，如需要加热、溶解等操作，如美肤蜡、冻干粉、浴盐等，应在前处理时，按照样品的实际使用方法，尽可能保持受试物在实际使用中的形态。此类化妆品产品的配制应注意现用现配的原则。

5.4 其他

化妆品原料及其产品为其他特殊性状时，应综合考虑受试物理化特性和人群接触特征，选择不影响受试物毒理学特性的前处理方式。

6 注意事项

经皮染毒时，溶剂应另外注意不影响受试物穿透皮肤，保证受试物与皮肤有良好接触，常用的介质有蒸馏水、羊毛脂、凡士林。

经口染毒时，受试物均应溶解于适宜的溶剂中，在选择溶剂时应不高于经口染毒液体的最大容量，啮齿类动物所给液体容量一般为1mL/100g，水溶液可至2mL/100g。通过调整受试物溶液浓度使各剂量组经口染毒的容量一致。

吸入染毒时，受试物须在空气中保持一定浓度，必要时可加入适当的赋形剂。赋形剂本身应无毒性，不与受试物反应且不影响受试物的吸收。

在体外试验中，需要注意无菌条件，若受试物含有微生物，则需要进行灭菌处理，首选过滤除菌，次选高压灭菌。如进行细菌回复突变试验，若受试物已知和经证实含有组氨酸并可能影响试验结果，必要时先进行预处理（如经XAD-Ⅱ树脂柱过滤）。

化妆品原料及其产品的酸碱度不能影响细胞或细菌的正常生长，若化妆品原料及其产品为强酸强碱（pH ≤ 2或pH ≥ 11.5），可不再做皮肤刺激性/腐蚀性试验和急性眼刺激性/腐蚀性试验。

化妆品原料及其产品毒理学试验样品前处理技术要求

起草说明

为加强化妆品的监督管理，进一步提高化妆品使用安全性，中国食品药品检定研究院组织开展了化妆品原料及其产品前处理通则方法的研究制定工作。现就工作有关情况说明如下：

一、起草原则

本标准力求包含各种化妆品原料及其产品性状的毒理学试验前处理方法，但考虑到化妆品产品总是不断更新迭代，以及国内各化妆品检验检测实验室的实际试验条件，本标准在保证方法可行性的同时，兼顾了体内外毒理学实验的科学性和便捷性。

二、起草过程

以《化妆品安全技术规范》（2015年版）中各项毒理学试验为考虑基础，结合我国化妆品监管政策要求、检测实验室的技术水平以及化妆品原料及其产品的特点，起草了《化妆品原料及其产品毒理学试验样品前处理技术要求》，内容包括方法适用范围、试验目的、术语定义、试验的基本原则、试验方法。

2022年11月10日，本项目组与上海市医疗器械化妆品审评核查中心、中国食品药品检定研究院共同召开了化妆品原料及其产品前处理通则的专家研讨会，对化妆品原料及化妆品产品两部分的前处理方法进行详细分析讨论。

2023年5月11日，经中检院组织的专家会议，再次修改文本内容，增加了样品取样和储存方法，并修改规范性名词的用法，明确化妆品产品的分类方法，删除浸提液提取的方式，形成本稿。

2023年11月8日，经中检院组织的专家会议，第三次修改本文内容，调整了文本顺序，增加难溶样品的处理方法，使文本更具参考意义。

根据该标准草案，本实验室通过多年化妆品检测经验，并经过广泛查阅相关资料以及征求其他检测部门的意见及建议，最终拟定本规范。

三、与我国已有相关标准的关系

化妆品原料及其产品前处理是开展各项毒理学试验必需的准备工作，正确的前处理方法不仅能够使毒理学试验的操作更加便利，而且能促进受试物毒性研究结果的科学性。随着生活质量提高，化妆品原料越来越多样化，化妆品产品的种类也更加纷繁多样。面对越来越多的产品剂型，现行的《化妆品技术规范2015年版》中，却没有专门的章节描述化妆品原料及其产品的前处理方法。国际上也没有化妆品原料及其产品前处理方法的相关规定。统一规范的前处理方法有利于毒理学试验的顺利开展，一定程度上保证毒理学试验的科学性和可比性。因此，起草编制《化妆品原料及其产品毒理学试验样品前处理技术要求》势在必行。

本规范起草依据及参考标准如下：

1. 《化妆品安全技术规范》（2015年版）
2. 《消毒技术规范》卫生部2002年版
3. 《急性毒性试验》GB15193.3-2003
4. 《食品安全国家标准 受试物试验前处理方法》GB15193.21-2014
5. 《食品安全国家标准 细菌回复突变试验》GB15193.4-2014
6. 《医疗器械生物学评价 第12部分 样品制备与参照材料》GB16886.12-2017

四、与原有方法对比情况

无。

五、国际相关情况

无。

六、其他说明的问题

上海市疾病预防控制中心针对化妆品原料及其产品的前处理方法进行研究，并根据试验和文献资料，编制起草了《化妆品原料及其产品毒理学试验样品前处理技术要求》。

1. 关于体例

本通则的体例主要参照现行《化妆品安全技术规范》（2015年版）中各项体内外毒理学试验方法的体例，便于化妆品检验领域相关检验人员的阅读和实际操作。

1. 关于方法的适用性

不断研发出新的化妆品原料及其产品是化妆品行业的特点之一，因此产生的化妆品原料及其产品新剂型的问题是前处理工作不可避免的挑战。本规范考虑通用性和兼容性，尽量还原化妆品原料及其产品的本质，归纳出通用法则。