附件5

免疫毒性试验方法（征求意见稿）

 Immunotoxicity test

1 范围

本方法规定了免疫毒性试验的基本原则、要求和方法。

本方法适用于化妆品原料的免疫毒性检测。

2 试验目的

该检测方法用于评价化妆品原料免疫毒性反应的潜在可能性。

3 定义

3.1 免疫毒性 immunotoxicity

受试物引起机体免疫抑制或增强、过敏反应或自身免疫反应。

3.2 体液免疫 humoral immunity

抗原进入机体后，刺激B细胞产生效应B细胞和记忆细胞，进而产生抗体，与相应的抗原产生免疫反应。

3.3 细胞免疫 cell-mediated immunity

又称[细胞介导免疫](https://baike.so.com/doc/4138585-4338245.html%22%20%5Ct%20%22https%3A//baike.so.com/doc/_blank)。狭义的细胞免疫仅指T细胞介导的免疫应答，即T细胞受到抗原刺激后，分化、增殖、转化为[致敏T细胞](https://baike.so.com/doc/250884-265563.html%22%20%5Ct%20%22https%3A//baike.so.com/doc/_blank)，对抗原的直接杀伤作用及致敏T细胞所释放的[细胞因子](https://baike.so.com/doc/3747104-3936644.html%22%20%5Ct%20%22https%3A//baike.so.com/doc/_blank)的协同杀伤作用。T细胞介导的免疫应答的特征是出现以[单核细胞](https://baike.so.com/doc/906452-958079.html%22%20%5Ct%20%22https%3A//baike.so.com/doc/_blank)浸润为主的炎症反应和/或特异性的细胞毒性。广义的细胞免疫还包括原始的吞噬作用以及NK细胞介导的细胞毒作用。

4 试验的基本原则

本方法中的免疫毒性试验，用于评价受试物是否改变或损伤免疫系统的机能状态。免疫毒性试验分层级开展，初始筛选免疫毒性试验是在重复剂量毒性试验免疫毒性相关检查基础上增加淋巴细胞亚群分布、免疫球蛋白含量测定等项目。初始筛选试验结果出现明显异常，则需开展附加免疫毒性试验。

附加免疫毒性试验时，不同组的动物给予不同剂量的受试物至少30 d，每天对动物进行观察，记录所出现的任何临床毒性表现。染毒结束后，处死动物，对相应的评价指标进行检测或分析；其中有些试验中需要用抗原将动物致敏。

5 初始筛选免疫毒性试验

5.1 初始筛选试验方法

采用初始筛选免疫毒性试验，对受试物潜在免疫毒性进行初步评估。初始筛选试验可整合至重复剂量毒性试验中。为发现免疫毒性指征，在重复剂量毒性试验中需评价以下指标：

（1）血液学检查：白细胞总数及分类计数等。

（2）血液生化检查：球蛋白、白蛋白/球蛋白比值。

（3）大体病理学：淋巴器官/组织。

（4）脏器重量：胸腺、脾脏、肾上腺的湿重（取出后应尽快称量，以免脏器失重），必要时可选代表性淋巴结进行称重。

（5）组织病理学检查：胸腺、脾脏、骨髓（股骨、胸骨或肋软骨部位的骨髓）、有代表性的淋巴结（黏膜附近或周围淋巴结）、所有肉眼可见的损伤。

此外，初始筛选试验还应在染毒结束时增加以下两个指标：

（1）免疫球蛋白分类（IgG、IgM、IgA和IgE）水平测定。

（2）淋巴细胞亚群测定：该试验属于免疫表型分析，目的是对淋巴细胞亚型进行鉴定和计数，通常采用流式细胞仪测试。对全血、外周血或从淋巴组织分离的免疫细胞如T淋巴细胞、B淋巴细胞等进行计数；检测免疫细胞表面标志物的改变，评估CD4+和CD8+ T淋巴细胞或其它亚群的数量及比值。

5.2结果的处理

可通过表格形式总结试验结果。对于计数资料，表格应显示试验开始时各组动物数、出现免疫毒性反应的动物数、免疫毒性损伤的类型和每种损伤的动物百分比；对于计量资料，一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，*P*≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

5.3 试验结果的评价

初始筛选试验结果，应基于淋巴细胞亚群分布、免疫球蛋白分类的结果，并考虑重复剂量毒性试验中的免疫毒性相关检查，如血液学、血清免疫球蛋白含量、免疫器官重量、组织病理学（胸腺、脾、淋巴结）等结果进行综合评价。上述检查项目出现异常时，即受试物各剂量组与溶剂对照组比较存在统计学上的显著差异（但应考虑动物正常的参考范围和变化），提示受试物存在潜在免疫毒性风险，应开展附加免疫毒性试验研究，以验证受试物潜在的免疫毒性，并明确免疫细胞和免疫功能受影响的程度。

6 附加免疫毒性试验

附加免疫毒性试验包括：体液免疫、特异性细胞免疫、巨噬细胞检测、NK细胞活性四个方面，每个方面至少应选择一种方法进行。

6.1 体液免疫试验

染毒后用抗原免疫动物，采用抗体形成细胞试验（也称溶血空斑试验）方法或酶联免疫吸附（ELISA）检测抗体滴度的方法评价受试物对体液免疫的影响。

6.1.1 抗体形成细胞试验（Antibody Plague Forming Cell，PFC）

6.1.1.1 受试物

固体受试物应溶解或悬浮于合适的溶剂中，临用前稀释至适当浓度；液体受试物可以直接加入试验系统和/或临用前稀释至适当浓度。受试物应在临用前新鲜配制，否则须确认贮存不影响其稳定性。

6.1.1.2 实验动物及饲养环境

6.1.1.2.1 动物种系的选择

选用健康啮齿类动物，推荐使用小鼠（近交系）或大鼠。如果已知受试物对其中一种性别的动物更敏感，则应使用这种性别的动物。雌性动物应未产、未孕。试验时每一性别的动物体重不应超过平均体重的±20%。

6.1.1.2.2 动物的性别和数量

每一个剂量组和对照组至少应该有20只动物（雌雄各半）。若计划在试验过程中处死动物，则应增加计划处死的动物数。

6.1.1.2.3 饲养环境

实验动物和实验动物室应符合国家相应规定。选用标准配合饲料，不限制饮水量。

6.1.1.3 剂量分组

至少要设三个剂量组、一个溶剂对照组和一个阳性对照组，溶剂免疫毒性未知时，还应设立一个不作任何染毒的空白对照组。高剂量应不使动物产生明显的应激、营养不良或死亡；但最好可使动物产生一些可测量的一般中毒表现。低剂量最好不使动物产生任何免疫毒性作用。阳性对照组可选用已知的免疫抑制剂（如环磷酰胺）作为阳性对照物。

6.1.1.4 染毒方式

染毒开始前至少要有3-5 d时间使实验动物适应实验室饲养环境。实验动物随机分组。受试物或溶剂经口和/或经皮和/或经吸入染毒，染毒途径应与90 d重复剂量毒性试验的染毒途径一致。每周染毒7 d ，至少30 d。

6.1.1.5临床观察

试验期间，每天对动物至少进行1次临床观察，记录中毒症状的出现时间、严重程度及其持续时间。观察应包括但并不仅限于以下方面：皮肤、被毛；眼、黏膜；呼吸系统；自主性和中枢神经系统；循环系统；肢体运动功能；行为特征；抗感染能力等。观察期限至少为30 d。

每周测量1次动物的摄食量。动物染毒前称体重，之后每周1次，处死前再次称体重。

任何濒死动物一被发现就应与其他动物分开并被安乐死。对试验过程中的任何濒死的或死亡的动物都应进行大体解剖。

6.1.1.6试验方法

于染毒的第26天经静脉注射T细胞依赖性抗原绵羊红细胞（SRBCs），通过计数动物脾脏中特异性抗体生成细胞的数量来反映抗体的产量，可用于检测染毒受试物30 d对脾脏内产生抗体的细胞的毒性作用。试验时，应考虑如下因素：

（1）注射T细胞依赖性抗原SRBCs，应对动物注射抗原后测定PFC的最佳时间作出评价。

（2）测定每批补体的活性。

（3）引用某种方法时应对方法进行整体引用，对方法所做的任何修改应予以说明并能证明其合法性和合理性。

（4）使用双盲法进行PFC计数。

（5）测定脾细胞的活性。

6.1.1.7 结果处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。结果用空斑数/106脾细胞或空斑数/全脾细胞来表示。

6.1.2 免疫球蛋白定量测定

6.1.2.1 受试物、实验动物、剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.1~6.1.1.5。

6.1.2.2 试验方法

在染毒结束前4 d，用适当的胸腺依赖性抗原免疫动物，2周后再次用抗原免疫动物，然后测定每只动物血清中IgG和IgM的滴度。测定抗体滴度的时间点应足够多，以便对染毒组和对照组动物的初级抗体反应和次级抗体反应进行比较。测定抗体时受试物的染毒时间至少为30 d。试验时，应考虑：测定血清中IgG和IgM滴度的方法应足够敏感以便测得每只动物的IgG和IgM滴度。ELISA法被认为是一种灵敏、可靠、重复性好的方法。该试验评价受试物是否影响抗体对抗原的反应性。

6.1.2.3 结果处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

6.2 特异性细胞免疫试验

采用下列三种方法中的任一种进行试验，评价染毒受试物30 d对特异性细胞免疫反应的影响。如选择淋巴细胞增殖试验或细胞毒性T淋巴细胞检测，可与NK细胞活性共用一组动物。

6.2.1淋巴细胞增殖试验

6.2.1.1 受试物、实验动物、剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.1~6.1.1.5。

6.2.1.2 试验方法

首选通过测量放射性标记物（一般为3H-胸腺嘧啶，简称3H-TdR）掺入DNA的量来说明淋巴细胞的增殖，也可采用BrdU-ELISA/FCM、MTT法等方法。该方法可以证明染毒受试物30 d对同种异品系淋巴细胞刺激引起的淋巴细胞增殖能力的影响。采用3H-TdR掺入试验时，应对如下因素进行考虑：

（1）应答细胞来自对照组和染毒组动物的脾细胞，在无菌条件下制备脾细胞。应答细胞的DNA合成没有采取阻断处理；

（2）刺激细胞来自未经染毒的同种异品系动物的脾细胞，在无菌条件下制备脾细胞。刺激细胞的DNA合成用丝裂霉素或X线处理进行阻断；

（3）测定应答细胞和刺激细胞的活力；

（4）应设3份或4份对照，用于证明收获细胞的效益、保证刺激细胞的非反应性、测定DNA合成的基础水平；

（5）对空白对照和溶剂对照同时进行测定；

（6）用每个培养皿中掺入应答细胞的放射性标记物的量来表示脾细胞的增殖程度，表示为每分钟居里数（curie per minute，CPM）。要计算净CPM（nCPM），即应答细胞被刺激细胞刺激后掺入的CPM均值减去未经刺激的脾细胞掺入CPM的均值。染毒组与对照组差异的百分比表示为：[1-（染毒组nCPM/对照组nCPM]；

（7）不同的淋巴细胞增殖试验存在许多不同，应说明所引用的试验方法及详细的试验步骤，说明主要试剂的来源，最好也说明这些试剂的纯度；

（8）为了证明方法的灵敏性，应设立阳性对照组，用已知的免疫抑制剂进行染毒。

6.2.1.3 结果处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

6.2.2迟发型过敏（Delayed -type Hypersensitivity，DTH）反应

6.2.2.1 受试物

见6.1.1.1。

6.2.2.2实验动物及饲养环境

选用健康啮齿类动物，推荐近交系小鼠，也可使用其他适宜的动物品系。如果已知受试物对其中一种性别的动物更敏感，则应使用这种性别的动物。雌性动物应未产、未孕。动物6周~8周龄时开始试验，试验时每一性别的动物体重不应超过平均体重的±20%。

动物的性别和数量、饲养环境同见6.1.1.2。

6.2.2.3 剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.3~6.1.1.5。

6.2.2.4 试验方法

在染毒结束前4 d，用胸腺依赖性抗原致敏动物，1-2周后用相同的抗原进行激发，激发后24 h~48 h，比较染毒组和对照组DTH反应的差异。该方法是一种检测受试物对实验动物诱导性DTH影响的体内方法。开展该试验时，应对如下因素进行考虑：

（1）DTH检测方法有数种，应选用灵敏度高、可重复性好、并适用于所选用实验动物品系的方法；不同的方法中下列参数也可能不同，如致敏及激发动物所用抗原的性质，免疫注射的次数及途径，免疫激发的时间，同位素的使用等。试验时选用的这些参数及其他相关的参数应可以使所选用的实验动物产生足够的DTH反应；

（2）测定DTH反应前，应对动物染毒至少30 d。

6.2.2.5 结果处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。以攻击前后反应的差值来表示DTH的程度。

6.2.3细胞毒性T淋巴细胞（Cytotoxic T-lymphocyte，CTL）检测

6.2.3.1 受试物、实验动物、剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.1~6.1.1.5。

6.2.3.2 试验方法

该方法用于证明染毒受试物30d对CTL生成的影响。常取动物脾淋巴细胞进行细胞毒性T淋巴细胞实验，检测采用放射法或流式细胞术。放射法使用同种异品系肿瘤抗原对CTL进行诱导（体内或体外诱导），然后，来自染毒组和对照组动物的脾细胞与51Cr标记的同种异品系肿瘤细胞共孵育，4h后，肿瘤细胞所释放的放射性标记物的量可以说明T淋巴细胞溶解肿瘤细胞的能力。试验时，应对如下因素进行考虑：

（1）应设立对照组来测定效应细胞不存在时靶细胞释放的放射性标记物的本底量和放射性标记物的总的释放量；

（2）应可以证明试验中所选用的动物可产生CTLs，所选用的试验方法应适合于诱导动物CTL的生成；

（3）CTL检测有数种不同的方法，引用某一种方法时应做到完全引用，对方法进行修改时应予以说明，合适的情况下应说明主要试剂的来源、活性和/或纯度。

6.2.3.3 结果处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

6.3 NK细胞的活性

6.3.1 受试物、实验动物、剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.1~6.1.1.5。

6.3.2 试验方法

建议采用Reynolds和Herberman的微量培养法来检测染毒30 d受试物对NK细胞活性的影响，也可采用LDH释放法等其他适合的方法。微量培养法是将染毒组和未染毒组动物的脾细胞与51Cr标记的YAC淋巴瘤细胞共培养。靶细胞与效应细胞共培养4h后，靶细胞中释放的放射性标记物的量可用于表示NK细胞杀伤肿瘤细胞的能力。LDH释放法是将染毒组和未染毒组动物的脾细胞与靶细胞（YAC细胞）共培养。靶细胞与效应细胞共培养4h后，靶细胞中释放的乳酸脱氢酶含量可用于表示NK细胞杀伤肿瘤细胞的能力。开展该试验时，应对如下因素进行考虑：

（1）应设立几个对照以说明在没有效应细胞存在时，靶细胞释放放射性标记物或乳酸脱氢酶的本底量以及放射性标记物或乳酸脱氢酶总的释放量；

（2）试验可使用除YAC细胞之外的靶细胞，任何情况下都应测定靶细胞的存活力；

（3）引用某一种方法时应做到完全引用，对方法进行修改时应予以说明，合适的情况下应说明主要试剂的来源、活性和/或纯度；如果对所选用的方法作了一些修改，则应说明修改的合理和合法性。

6.3.3 结果处理

NK细胞活性需进行数据转换，X＝Sin-1，式中P为NK细胞活性，用小数表示，然后再进行方差分析，需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

6.4 巨噬细胞检测

6.4.1 受试物、实验动物、剂量分组、染毒方式及临床观察

见6.1.1.1~6.1.1.5。

6.4.2 试验方法

评价染毒30 d受试物对巨噬细胞数及其吞噬功能的影响。应对如下方面进行检测：

（1）试验中应计数腹腔细胞的总数及分类计数；

（2）评价在有或没有促进因子（如，γ-干扰素或细菌脂多糖）存在的情况下腹腔细胞对外源性物质（如，鸡红细胞、荧光微球等）的吞噬作用。

（3）有数种不同的巨噬细胞检测方法，如鸡红细胞吞噬法、巨噬细胞溶酶体酶测定、巨噬细胞表面受体检测、流式细胞法等，因此，应对所选用的方法进行描述并说明方法引证的来源；如果对所选用的方法作了一些修改，则应说明修改的合理和合法性。

6.4.3 结果处理

以吞噬百分率或吞噬指数表示巨噬细胞的吞噬能力。吞噬百分率需进行数据转换，X＝Sin-1，式中P为吞噬百分率，用小数表示。在进行方差分析时，需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值，F值< F0.05，结论：各组均数间差异无显著性；F值≥F0.05，P≤0.05，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

6.5 结果评价

附加免疫毒性试验研究的结果应与初始筛选试验结果一起评估。在评价时应综合考虑生物学意义和统计学意义。评估包括：

（1）对异常指标进行综合分析：与溶剂对照组比较是否存在统计学上的显著差异，是否在背景数据范围内波动，受试物的剂量与异常指标的发生与否、发生率和严重性之间的关系，以及指标的相互关联性等，判断受试物是否引起了某一方面免疫功能异常。

（2）受试物组体液免疫试验、特异性细胞免疫试验、巨噬细胞检测、NK细胞活性四个方面任一方面出现异常，均可认为该受试物具有潜在的免疫毒性。

7 结果解释

免疫毒性试验能够提供受试物在反复接触机体后的毒性作用资料。其试验结果仅可在很有限的程度上外推到人，但它可为确定人群的允许接触水平提供有用的信息。

免疫毒性试验方法（征求意见稿）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免疫毒性试验方法（征求意见稿）的制定工作。现就工作有关情况说明如下：

一、起草原则

（一）依法依规原则

《免疫毒性试验方法（征求意见稿）》遵循依法依规原则，贯彻落实《化妆品监督管理条例》及配套法规文件中关于化妆品和新原料的法规要求，研究免疫毒性试验的具体要求，切实为化妆品和新原料的安全评价提供技术指导，也为技术审评以及监管提供依据。

（二）公开透明原则

《免疫毒性试验方法（征求意见稿）》起草过程中，坚持“公开透明、广泛参与”原则，充分参考国内外相关法规和技术标准，多次积极征求监管部门、专家、行业协会意见，同时根据意见反馈情况科学合理地进行修改完善。

（三）科学规范原则

本试验方法采用目前国内外常用的免疫毒性试验方法，保证方法科学、规范的同时，亦兼顾与国际标准的接轨性、先进性。

（四）操作便捷原则

免疫毒性试验研究采用基于风险、证据权重的策略，分层开展，采用大部分化妆品检测实验室已具备的试验条件与技术能力，使其更具有可操作性和便捷性。

1. 起草过程

本试验方法参照ICH S8《人用药物免疫毒性研究》、欧洲药品评价局（EMEA）《重复剂量毒性》等相关内容，并结合化妆品原料安全评价的特点进行制定，同时起草了化妆品《免疫毒性试验研究技术指导原则（征求意见稿）》及《免疫毒性试验方法（征求意见稿）》。

1. 与我国已有相关标准的关系

目前国内《化妆品安全技术规范》及OECD均未收载化妆品原料及产品的免疫毒性检测方法，现有ICH S8指导原则以及国家药品审评中心药理毒理学部组织撰写的《药物免疫毒性非临床研究技术指导原则（征求意见稿）》主要是针对药品的指导原则，试验方法方面仅有国家标准“GB/T 27817-2011 化学品 免疫毒性试验方法”，无针对化妆品原料的具体试验方法。因此，有必要对免疫毒性试验的相关技术问题开展系统性研究。

1. 国际相关标准情况

OECD未纳入标准的免疫毒性试验方法，本项目起草过程中，也参照了国际相关标准或指南。参照欧洲药品评价局（EMEA）《重复剂量毒性》的“附录B 免疫毒性指南”，在初始筛选试验中增加血液淋巴细胞亚群分布、免疫球蛋白（IgA、IgE、IgM）含量及其他免疫活性物质等指标的检测。此外，还参考了FDA于2023年发布的《药物非临床潜在免疫毒性的评估》、美国环境保护署（EPA）发布的免疫毒性（草案）以及日本厚生劳动省医药食品局的《免疫毒性试验指导原则》制定相关的免疫毒性试验方法。

1. 其他需说明的问题

（一）免疫毒性试验研究通常采用基于风险、证据权重的策略，分层开展；免疫毒性研究方法包括初始筛选试验及附加免疫毒性试验。初始筛选试验可与重复剂量毒性试验整合开展。

（二）若未开展重复剂量毒性试验，有必要进行化妆品原料的免疫毒性评价时，需单独开展初始筛选免疫毒性试验。

（三）初始筛选免疫毒性试验结果为阴性，并不意味着可以不开展附加免疫毒性试验，应基于上述原料与已知免疫毒性化合物的结构相似性、功能作用机制以及初始筛选试验结果等因素进行证据权重分析，如上述单一因素的研究结果充分提示原料存在潜在的免疫毒性风险，应进行附加免疫毒性试验研究。

（四）附加免疫毒性试验包括体液免疫、特异性细胞免疫、巨噬细胞检测、NK细胞活性四个方面，每个方面的试验至少应选择一种方法进行。

（五）对免疫毒性的试验数据进行分析时，必须对所有的数据进行评价，并综合考虑生物学意义和统计学意义，以便对免疫毒性风险进行合理、全面的评价。