附件 2

化妆品毒理学试验方法样品前处理通则

General Rule for Pretreatment of Cosmetic in Toxicological Experiments

1 范围

本规范规定了化妆品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和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。

4 前处理的基本原则

化妆品原料和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。化妆品原料和产品的样品前处理均需遵守现用现配原则。

5 前处理方法

根据毒理学试验的要求，需要对样品进行前处理的准备工作。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

化妆品前处理应不改变样品的毒理学性质。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。样品的前处理稀释倍数应保证最终供试品浓度不低于实际使用浓度。

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。细菌回复突变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，终浓度应符合具体试验项目的要求，一般而言，DMSO使用终浓度不应大于0.5%，丙酮和甘油使用终浓度不应大于1%。

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（2 mL-5 mL），无菌离心管（15 mL/50 mL），移液枪（0.1 µL-5 mL），量筒（10 mL），烧杯，旋涡混匀仪，水相/有机相滤器（0.22 µm/0.45 µm），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移液枪量取相应体积的样品原液，加入适宜溶剂中，并充分混匀。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移液枪直接量取样品原液。

（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或避光。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（10 mL），烧杯，无菌离心管（15 mL/50 mL），旋涡混匀仪，水相/有机相滤器（0.22 µm/0.45 µm），移液枪（0.1 µL-5 mL），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，并充分混匀。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成无散落粉末且无多余溶剂的状态，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，室温或冷藏暂放或避光。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

难以溶解于无机溶剂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。样品浸提液应对皮肤无毒副作用。（2）加入悬浮剂或赋形剂，使样品悬浮其中，形成分布均匀的悬浮混合物。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脂溶性或水溶性溶剂。

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（2 mL-5 mL），移液枪（0.1 µL-5 mL），量筒（10 mL），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，先用剪刀将样品裁剪成适宜的形状（如2.5×2.5 cm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或避光。

5.3.4 按配比使用的化妆品产品

染发剂等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（2 mL-5 mL），移液枪（0.1 µL-5 mL），量筒（10 mL），电子天平，旋涡混匀仪等。

（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或移液枪定量取相应质量的各组分样品，然后充分均匀。

（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或避光。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（2 mL-5 mL），移液枪（0.1 µL-5 mL）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10 cm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或避光。

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

化妆品原料和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1 mL/100 g，水溶液可至2 mL/100 g。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，化妆品原料和产品的酸碱度不能影响细胞或细菌的正常生长，若化妆品原料和产品为强酸强碱（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。