

ICS 71.100.70
Y42
C2682

T/CNMIA

中国非公立医疗机构协会团体标准

T/CNMIA 0013—2020

舒敏类功效性护肤品安全/功效评价标准

Safety and Efficacy Assessment of Cosmetics for Sensitive Skin

2020 - 07 - 21 发布

2020 - 07 - 23 实施

中国非公立医疗机构协会

发布

目 次

1. 范围	1
2. 规范性引用文件	1
3. 术语和定义.....	1
4. 舒敏类功效性护肤品的活性成分	1
5. 舒敏类功效性护肤品安全性评价	1
6. 舒敏类功效性护肤品功效评价	1

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草

本标准由中国非公立医疗机构协会皮肤专业委员会提出

本标准起草单位：中国非公立医疗机构协会皮肤专业委员会

本标准主要起草人：郝德明、王珊、何黎、郑志忠、刘玮、李利、赖维、梁虹、郝飞、鞠强、朱慧兰、涂颖、朱学骏、郭燕妮、吉喆、马骁、王飞飞、杜翹楚、张瑛、马晓庆、徐意

基金：教育部创新团队 IRT17-R49；云南省重大科技专项 2018ZF005；云南省皮肤免疫性疾病临床医学中心 ZX2019-03-02

本标准首次发布。

舒敏类功效性护肤品安全/功效评价标准

1 范围

本标准规定了舒敏类功效性护肤品的术语和定义、安全性测试、功效性测试。
本标准适用于舒敏类功效性护肤品及其原料安全性及功效性临床前评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

T/SHRH 024-2019 化妆品眼刺激性试验 体外重组 3D 角膜模型半数有效时间测试方法（ET50）

SN T 4577-2016 化妆品皮肤刺激性检测 重建人体表皮模型体外测试方法

GB/ T 27828-2011 化学品 体外皮肤腐蚀 经皮电阻试验方法

T/SHRH 023-2019 化妆品屏障功效测试 体外重组 3D 表皮模型 测试方法
T/SHRH 022-2019 化妆品保湿功效评价 体外重组 3D 表皮模型 测试方法
化妆品安全技术规范 2015 版；

TZHC 003-2018 化妆品影响经表皮水分流失测试方法。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准

舒敏类功效性护肤品：Cosmeceuticals for sensitive skin

含有修复皮肤屏障、抗炎、保湿等成分，能够减轻皮肤敏感，提高皮肤耐受性，其功效性及安全性经实验和临床验证可用于敏感性皮肤的化妆品。

特性：①具有减轻皮肤敏感程度，提高皮肤耐受性的作用；②在保证安全性及功效性的前提下，强调配方的精简和原料的严格筛选；避免添加色素、香料、致敏防腐剂等易损伤皮肤或引起皮肤过敏的物质。

4 舒敏类功效性护肤品的活性成分

舒敏类功效性护肤品的活性成分需在《已使用化妆品原料名称目录》列表内，各企业可结合实际情况选择。

5 舒敏类功效性护肤品安全性评价

舒敏类功效性护肤品应先完成《化妆品安全技术规范》2015 版中必要的毒理学检验、卫生化学和微生物学检验。

本标准中的安全性评价主要指舒敏类功效性护肤品及其原料的临床前测试。

舒敏类功效性护肤品的安全性评价须有相关文件或验证报告支持。

舒敏类功效性护肤品的安全性验证报告是指实验室报告或第三方检测机构报告。

舒敏类功效性护肤品安全性评价方法包括但不限于以下方法，各企业可结合实际情况选择其中的检测方法或增加检测指标。

5.1 体外重建人表皮模型刺激试验

通过体外重建人表皮模型刺激试验，检测舒敏类功效性护肤品及其原料的刺激性及程度，并以此作为评估舒敏类功效性护肤品引起不良反应的依据之一。

按照 SN T 4577-2016 化妆品皮肤刺激性检测 重建人体表皮模型体外测试方法要求检验。

5.2 皮肤腐蚀性经皮电阻试验

通过体外重建人表皮模型刺激试验，检测舒敏类功效性护肤品及其原料的刺激性及程度，并以此作为评估舒敏类功效性护肤品引起不良反应的依据之一。

按照 SN T 4577-2016 化妆品皮肤刺激性检测 重建人体表皮模型体外测试方法要求检验。

5.3 豚鼠变态反应性接触性皮炎测试方法

通过豚鼠变态反应性接触性皮炎测试，确定重复接触舒敏类功效性护肤品及其原料对哺乳动物是否可引起变态反应及其程度，并以此作为评估舒敏类功效性护肤品引起不良反应的依据之一。

按照《化妆品安全技术规范 2015 版》 6 皮肤变态反应试验方法要求检验。

5.4 人体皮肤斑贴试验

通过人体皮肤斑贴试验，检测舒敏类功效性护肤品引起人体皮肤不良反应的潜在可能性。

按照《化妆品安全技术规范 2015 版》 2 人体皮肤斑贴试验方法要求检验。

5.5 体外重建角膜模型眼刺激试验

通过体外重建人表角膜模型眼刺激试验，检测功效性护肤品及其原料的刺激程度，并以此作为评估功效性护肤品引起人体眼刺激的潜在可能性的依据之一。

按照 T/SHRH 024-2019 化妆品眼刺激性试验 体外重组 3D 角膜模型半数有效时间测试方法（ET50）测试方法要求检验。

6 舒敏类功效性护肤品功效评价

舒敏类功效性护肤品的功效评价应在功效成分完成基本安全性评价的基础上进行，须有相关文件或验证报告支持。

舒敏类功效性护肤品的功效评价报告是指实验室报告或第三方检测机构报告。

本标准中舒敏类功效性护肤品的功效评价均为临床前测试。

舒敏类功效性护肤品的功效评价方法包括但不限于以下方法，各企业可结合实际情况选择其中的检测方法或增加检测指标。

6.1 体外细胞迁移试验

通过体外细胞迁移试验，模拟体外伤口愈合过程，测定舒敏类功效性护肤品及其活性成分提升体外细胞迁移运动活性和修复能力的程度，并以此作为评估对皮肤屏障修复能力的临床前试验依据之一。

- a) 利用 MTT 法筛选活性成分干预浓度：加 PBS 于 96 孔板的外围孔，避免边缘效应，在其余孔中加入细胞悬液，于培养箱培养细胞 24h。吸掉全部上清液，换为维持培养基培养细胞 24h。将受试物储备液稀释为添加浓度，每个浓度设 3 组平行孔，孵育 24h。每孔加入现配的 MTT 溶液，孵育 4h，除去上清液，加入 DMSO 原液，振荡 20min 使充分混匀，直至孔底部不再有深色沉淀物质，用酶标仪测定在 570 nm 波长处的吸光度。用空白对照孔作为参考对照。细胞活力 (%) = (受试物孔 OD 值 - 空白对照孔 OD 值) / (阴性对照孔 OD 值 - 空白对照孔 OD 值) × 100%；
- b) 细胞划痕实验：在每个 12 孔细胞培养板正中竖直放入细胞划痕插件，在每个插件的两个小室中分别加入细胞悬液，注意尽量使移液枪垂直培养板加液，避免细胞在孔中未混匀，插件周围用细胞悬液润湿，培养细胞 24h。然后用灭菌的镊子轻轻移除插件，用 PBS 溶液轻柔冲洗细胞一到两次（注意贴壁缓慢加入以免冲散单层贴壁细胞）并吸掉全部 PBS。最后准确加入适当浓度受试物（受试物用维持培养基配置），设置空白对照组（无血清的 DMEM 培养基）和阳性对照组，在显微镜下观察 0h、4h、8h、16h 及 24h 划痕处的细胞生长状态，并分别拍照记录，用 ImageJ 软件计算愈合面积；
- c) 愈合率计算：愈合率 (%) = (初始划痕面积 (0h) - 待测时间划痕面积) / 初始划痕面积 (0h) × 100%。

6.2 体外重建 3D 表皮屏障功效试验

通过体外重建 3D 表皮模型试验，检测舒敏类功效性护肤品（驻留型）及其活性成分是否具有皮肤屏障修复作用，并以此作为评估修复皮肤屏障功效的临床前试验依据之一。

按照 T/SHRH 023-2019 化妆品屏障功效测试 体外重组 3D 表皮模型 测试方法要求检验。

6.3 PS 诱导 RAW264.7 细胞模型抗炎评价

通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞模型抗炎功效试验，检测舒敏类功效性护肤品及其活性成分对体外细胞分泌炎性细胞因子影响程度，并以此作为评估抗炎功效的临床前试验依据之一。

- a) 细胞培养：以 DMEM 培养基和 10%胎牛血清配制完全培养基，将复苏细胞接种于 10cm 培养盘，加入 10ml 完全培养基，于 CO₂ 培养箱孵育，每 2 天更换培养液，观察细胞生长情况并及时传代；
- b) ELISA 检测方法测定 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 含量：取形态良好的细胞用完全培养基配制成细胞悬液，接种于 24 孔板，于 CO₂ 培养箱中孵育 24h 后，加入最佳使用浓度范围内经完全培养基稀释的不同浓度受试物，并另外平行设置空白对照组、阴性对照组（LPS 对照组）及阳性对照组（地塞米松等），每组设置 3 个复孔，于 CO₂ 培养箱中孵育 2h，除空白对照组外每组加入最终浓度为 1 μ g/ml 的 LPS，于 CO₂ 培养箱中孵育 24h 后，低温离心收集上清液，按 ELISA 试剂盒说明操作，分别测定 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 含量，通过数据处理软件分析实验结果。

6.4 体外重建人表皮抗炎功效性试验

通过体外重建人表皮抗炎功效性试验，检测舒敏类功效性护肤品及其活性成分对体外重建人表皮两种敏感模型分泌炎性细胞因子的影响，并以此作为评估抗炎功效的临床前试验依据之一。

- a) 标记 12 孔板，在 12 孔板的第一列加入 2ml 维持培养基，用镊子将表皮模型移至培养基中，每种待测样品做 2-3 个平行复孔，将转移有表皮模型的 12 孔板置于 CO₂ 培养箱培养一段时间。之后，加入维持培养基到 12 孔板的第二列；
- b) SLS 敏感皮肤模型造模：将带有表皮模型的培养板取出放入生物安全柜内，在表皮模型上加入 SLS，CO₂ 培养箱培养一段时间，用 DPBS 缓冲液彻底冲洗以去除表皮模型表面的刺激物。用棉签将每个表皮模型表面残留液体轻轻吸干，将表皮模型逐个移入加有维持培养基的孔板中；

- c) UV 敏感模型造模：将带有表皮模型的培养板取出放入紫外太阳光模拟器中，在表皮模型上进行一定辐照量，将表皮模型逐个移入加有维持培养基的孔板中；
- d) 将 150 μ l 化妆品成品待测样品，阳性对照和阴性对照，均匀涂抹在表皮模型表面。待测。待测样品、阳性对照和阴性对照均做 2-3 个平行；
- e) 将涂有待测样品、阳性对照和阴性对照的表皮模型，CO₂ 培养箱培养一段时间。用 DPBS 缓冲液彻底冲洗以去除表皮模型表面的样品、阳性和阴性对照；用棉签将每个表皮模型表面残留液体轻轻吸干；将孔板内后培养的维持培养液收集，用 ELISA 试剂盒进行 IL-1 α 、IL-8、PGE₂ 的含量的检测。操作步骤与试剂盒说明书一致。通过数据分析软件计算待测样品、阳性对照和阴性对照的 IL-1 α 、IL-8、PGE₂ 的含量。

6.5 小鼠耳肿胀抗炎测试

通过小鼠耳肿胀抗炎测试，检测舒敏类功效性护肤品及其活性成分减轻致炎剂引起小鼠耳朵肿胀的程度，并以此作为评估抗炎功效的临床前试验依据之一。

选用雄性小鼠或雌性 SD 大鼠，小鼠的体重为 22g 左右，大鼠的体重为 170g 左右，每组为 10 只动物；

- a) 致炎剂为二甲苯或巴豆油混合致炎液，小鼠二甲苯的浓度为 100%，巴豆油混合致炎液内含：1% 巴豆油，10%乙醇，20%吡啶，69%乙醚；大鼠巴豆油混合致炎液内含：4%巴豆油，10%乙醇，20%吡啶，66%乙醚；
- b) 实验对照药物溶解于致炎剂中，小鼠的药物浓度为 0.03~1mg/ml，大鼠的药物浓度是小鼠的 3~10 倍；
- c) 动物用乙醚麻醉，左右耳前后抹药，给药 20 min 后，在右耳的前后两面涂布致炎剂，致炎剂的体积为：二甲苯致炎剂小鼠为 0.01ml/只，大鼠为 0.02ml/只，巴豆油致炎剂小鼠为 0.01ml/只，大鼠为 0.02ml/只，左耳用相应溶媒处理，作为对照。给致炎剂 30min 后处死动物，马上剪下双耳片，称重；
- d) 4h 后，将动物麻醉处死，剪下双耳用 8mm（小鼠）或 9mm（大鼠）直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片称重；
- e) 每鼠右耳片重量减去左耳片重即为肿胀度，将对照组和给药组的肿胀程度进行统计学处理。

6.6 经皮水分流失检测（Transepidermal water loss, TEWL）

通过检测经皮水分流失，评估舒敏类功效性护肤品及其活性成分对人体受损皮肤屏障的修复能力，并以此作为皮肤屏障修复能力的临床前试验依据之一。

- a) 为统计数据有效，确保有效测试数据至少有 30 例；
- b) 符合下列所有条件的受试者将被入选：
 - 1) 年龄在 18 岁~65 岁之间（妊娠或哺乳期妇女，或六个月内预备怀孕妇女除外）；
 - 2) 受试部位没有接受过皮肤治疗、美容以及其他可能影响结果的测试；
 - 3) 近一个月内未曾使用激素类药物及免疫抑制剂者；
 - 4) 现在或最近三个月受试部位未参加其他临床试验者。
- c) 符合下列任一项者将被排除：
 - 1) 有严重系统性疾病，免疫缺陷或自身免疫性疾病者；
 - 2) 近一周使用组胺药或近一个月使用过免疫抑制剂者；
 - 3) 近两个月受试部位使用任何抗炎药物者；
 - 4) 胰岛素依赖糖尿病患者；
 - 5) 正在接受治疗的呼吸道疾病患者；
 - 6) 过敏体质、过敏性皮炎等人群，有皮肤病或疾病史者；

- 7) 正在接受皮肤科治疗的人群；
- 8) 受试区域有大面积胎记、抓痕、白斑、色素痣、疤痕疙瘩等影响试验的皮肤表征者。
- d) 将 $200 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ 十二烷基磺酸钠溶液（质量百分比 1%）注入斑试器小室内，浸润滤纸，用低致敏胶带贴于志愿者左、右前臂曲侧，左右各 3 个，相邻斑试器小室边缘间距不小于 3cm，用手掌轻压至均匀，持续 24h，除去斑试器，用水清洁前臂，并用无屑吸水干纸巾吸拭干净。在测试环境中静坐 1h，不能喝水和饮料。前臂暴露，保持放松。避免触碰受试区域，测定斑贴区域中心位置 TEWL 值，每区域测定一次，并取平均值作为初始值；
- e) 在志愿者左、右前臂曲侧随机分为样品涂抹侧和对照侧，每侧包含 3 个斑贴区域，并确保样品涂抹侧和对照侧统计学平衡；
- f) 在设定的测量时间点测定各区域中心位置的 TEWL 值，每区域测定一次，并取平均值作为初始值，每次测定前用清水清洁受试部位，并用无屑吸水干纸巾吸干，在测试环境中静坐 30min，不能喝水或饮料；
- g) 整个测试在环境温度 $20^{\circ}\text{C} \sim 22^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 $40\% \sim 60\%$ 环境下进行，并实施实时监控，同一志愿者测试由同一仪器同一测试人员完成；
- h) 测试期间如出现任何不良反应，应立即终止实验，对志愿者进行医治，并对不良反应进行记录；
- i) 分别计算样品涂抹侧和对照侧 TEWL 平均值的变化率，利用变化率统计分析不同测量时间点样品涂抹区和对照区域的差别：

$$\text{TEWL 值变化率 (\%)} = \frac{T_0(\text{TEWL 值}) - T(\text{TEWL 值})}{T_0(\text{TEWL 值})} \times 100\%$$

6.7 保湿性评价

通过保湿功效试验，检测舒敏类功效性护肤品及其活性成分对人体皮肤保湿能力的影响，并以此作为评估保湿功效的临床前试验依据之一。

按照 T/SHRH 022-2019 化妆品保湿功效评价 体外重组 3D 表皮模型 测试方法要求检验。

《舒敏类功效性护肤品安全/功效评价标准》

评价范围	评价标准	评价内容
术语和定义	功效成分	1. 安全性评价需要有相关文件和安全性验证报告支持
		2. 功效性（产品宣称功效）需要有相关文件和功效作用验证报告支持
		3. 功效物质应包含在《化妆品已使用化妆品原料名称目录 2014 年 11 号通告》中，对主要功效成分应进行定性定量分析
安全性评价	安全性评价	1. 应先按照《化妆品安全技术规范》2015 版中规定的毒理学检验方法进行必要的毒理学检验，在具备有资质的第三方检验报告后，方可开展临床观察试验
功效评价	功效评价	1. 须有相关文件或功效作用验证报告支持
		2. 应为实验室报告或临床试验报告
		3. 功效作用验证研究应在功效成分完成安全性评价的基础上进行

		4. 功效作用验证应分为临床前测试及临床观察
		5. 在通过临床前测试验证具备明确功效后，方可进行临床观察
		6. 临床观察试验应符合国际赫尔辛基宣言的基本原则，要求受试者签署知情同意书并采取必要的医学防护措施，最大程度保护受试者的利益，临床观察报告应由皮肤病专科医院、三级甲等医院皮肤科出具