

团 体 标 准

T/CVMA XXXXX—XXXX

犬猫皮肤病外用产品使用评价技术规范

Specification for evaluation and inspection of pet dermatological
topical products

(征求意见稿)

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国兽医协会 发布

中国兽医协会
CVMA

目 次

前言..... II

引言.....III

1 范围.....1

2 规范性使用文件.....1

3 术语和定义.....1

4 眼部刺激评价.....2

5 经口毒理评价.....4

6 皮肤适应性评价.....5

7 皮肤毛发状态与水油比例评价.....7

8 皮肤病原菌与寄生虫恢复评价.....9

参考文献.....12

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规则起草。

本文件不涉及专利。

本文件由肽泽（武汉）生物科技有限公司提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：肽泽（武汉）生物科技有限公司、华中农业大学。

本文件主要起草人：胡长敏、柳项、杨跃飞、钟珣、肖雅夫、王海地。

引 言

宠物产品高速增长的市场状况下，在宠物皮肤病外用产品，如香波、护毛素、皮肤膏和喷雾等方面，尚无国家、行业规范的原料、产品评价与检验规范和完整体系标准。宠物皮肤病外用产品的行业标准仍然处于原始状态，导致宠物洗护产品市场出现不良竞争，甚至严重违规（滥用抗生素，违禁添加激素等），已经严重影响到宠物产品的良性、健康发展。因此，宠物洗护产品在研发、生产源头亟待制定相关规范或标准。

中国兽医协会
CVMA

犬猫皮肤病外用产品使用评价技术规范

1. 范围

本标准规定了宠物犬、猫皮毛护理产品的眼部刺激评价、经口毒理评价、皮肤适应性评价、皮肤毛发状态与水油比例评价、皮肤病病原菌与寄生虫恢复评价等技术规范。

本标准适用于宠物犬、猫皮毛护理产品的评价与检验。

2. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GBT 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第2部分：动物保护要求
GBZ/T 240.2-2001 化学品毒理学评价第2部分：急性经口毒性试验
GBZ/T 240.3-2011 化学品毒理学评价第3部分：急性经皮毒性试验
GBZ/T 240.5-2011 化学品毒理学评价第5部分：急性眼刺激性/腐蚀性试验
GB/T 18448.1-2001 实验动物 体外寄生虫检测方法
化妆品安全技术规范（2015版）第六章 毒理学试验方法
化妆品安全技术规范（2015版）第六章 人体安全性检验方法
QC-7211B 动物实验室管理制度

3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 固定剂量法 (Fixed-dose procedure)

该方法最初于 1984 年由英国毒理学会提出，不以死亡作为观察终点，而是以明显的毒性体征作为终点进行评价。

3.2 水油平衡 (Water oil balance)

皮肤的水油平衡是指肌肤处在不油不干的理想状态，汗腺和皮脂腺的分泌量都很适中，对外界的刺激也不是很敏感。除此之外的状态都是水油不平衡的表现，缺水就是干性皮肤，过油就是油性皮肤，又干又油就是混合性皮肤。

3.3 眼睛刺激性 (Eye irritation)

眼球表面接触受试物后所产生的可逆性炎性变化。

3.4 眼睛腐蚀性 (Eye corrosion)

眼球表面接触受试物后引起的不可逆性组织损伤。

4. 眼部刺激评价

4.1 操作

具体操作需符合 GBZ/T240.5-2011 化学品毒理学评价第 5 部分：急性眼刺激性/腐蚀性试验和 GB 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第 2 部分：动物保护要求的规定，包括试验动物的饲养、临床检查的步骤、实验结果的记录等方面的操作技术。

4.1.1 受试物

液体受试物一般不需稀释，可直接使用原液，染毒量为 0.1ml。若受试物为固体或颗粒状，应将其研磨成细粉状，并用水充分湿润，染毒量应为体积 0.1ml 或重量不大于 100mg（染毒量应进行记录）。受试物为强酸或强碱（pH 值 ≤ 2 或 ≥ 11.5 ），或已证实对皮肤有腐蚀性或强刺激性时，可以不再进行眼部刺激试验。气溶胶产品需喷至容器中，收集其液体再使用。

4.1.2 试验动物及饲养管理

首选健康成年白色家兔，至少使用 3 只。试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3d 时间。在试验开始前的 24h 内要对试验动物的两只眼睛进行检查（包括使用荧光素钠检查）。有眼睛刺激症状、角膜缺陷和结膜损伤的动物不能用于试验。

实验动物及实验动物房应符合国家相应规定，选用常规饲料，饮水不限制。具体管理需符合 QC-7211B 动物实验室管理制度的规定。动物管理由专人负责，指定的相关人员协助做好动物实验室的管理工作。动物实验室应配备必要的设施，笼具编号、物品摆放整齐、归类放置。保持房间和笼具的卫生整洁，做好地面、设备、空气及其它物品的清洁和消毒。做好实验动物的饲喂、巡查、并及时记录观察结果。动物实验人员在试验过程中不得擅自离开工作岗位，不得违反操作规程。

4.1.3 试验步骤

轻轻拉开家兔一侧眼睛的下眼睑，将受试物 0.1 ml（100mg）滴入（或涂入）结膜囊中，使上、下眼睑被动闭合 1s，以防止受试物丢失。另一侧眼睛不处理作自身对照。滴入受试物后 24h 内不冲洗眼睛。若认为必要，在 24h 时可进行冲洗。

若上述试验结果显示受试物有刺激性，需另选用 3 只家兔进行冲洗效果试验，即给家兔眼滴入受试物后 30s 用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗至少 30s。

4.1.4 临床检查

在滴入受试物后 1、24、48、72h 以及第 4d 和第 7d 对动物眼睛进行检查。如果 72 h 未出现刺激反应，即可终止试验。如果发现累及角膜或有其它眼刺激作用，7d 内不恢复者，为确定该损害的可逆性或不可逆性需延长观察时间，一般不超过 21d。除了对角膜、虹膜、结膜进行观察外，其它损害效应均应当记录并报告，按表 1 进行评分。可使用放大镜、手持裂隙灯、生物显微镜或其它适用的仪器设备进行眼刺激反应检查。在 24h 观察和记录结束之后，对所有动物的眼睛应用荧光素钠作进一步检查。

对用后冲洗的产品（如香波）只做 30s 冲洗试验，即滴入受试物后，眼闭合 1s，至第 30s 时用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗 30s，然后按表 2 进行检查和评分。

对染发剂类产品，只做 4s 冲洗试验，即滴入受试物后，眼闭合 1s，至第 4s 时用足量、流速较快但又不会引起动物眼损伤的水流冲洗 30s，然后按表 2 进行检查和评分。

4.2 结果判定

以给受试物后动物在 24、48、72h 观察时点的刺激反应的最高积分和恢复时间评价，依照表 1 所规定内容进行积分评价；依照表 2 所规定内容进行刺激反应分级，判定受试物对眼部的刺激强度。当角膜、虹膜、结膜积分均为 0 时，可判定受试物无刺激性。

表 1 眼损害的评分标准

眼损害	积分
角膜：混浊（以最致密部位为准）	
无溃疡形成或混浊	0
散在或弥漫性混浊，虹膜清晰可见	1
半透明区易分辨，虹膜模糊不清	2
出现灰白色半透明区，虹膜细节不清，瞳孔大小勉强可见	3
角膜混浊，虹膜无法辨认	4
虹膜：	
正常	0
皱褶加深，充血肿胀，角膜周围有中度充血，瞳孔对光仍有反应	1
出血、肉眼可见破坏，对光无反应（或出现其中之一反应）	2
结膜：充血（指睑结膜、球结膜部位）	
血管正常	0
血管充血呈鲜红色	1
血管充血呈深红色，血管不易分清	2
弥漫性充血，呈紫红色	3
水肿：	
无	0
轻微水肿（包括瞬膜）	1
明显水肿，伴有部分眼睑外翻	2
水肿至眼睑近半闭合	3
水肿至眼睑大半闭合	4

表 2 眼刺激反应分级

可逆眼损伤	2A 级（轻刺激性） 2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊 ≥ 1 ；虹膜 ≥ 1 ；结膜充血 ≥ 2 ；结膜水肿 ≥ 2 和上述刺激反应积分在 ≤ 7 天完全恢复	
	2B 级（刺激性） 2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊 ≥ 1 ；虹膜 ≥ 1 ；结膜充血 ≥ 2 ；结膜水肿 ≥ 2 和上述刺激反应积分在 < 21 天完全恢复	
不可逆眼损伤	任 1 只动物的角膜、虹膜和/或结膜刺激反应积分在 21 天的观察期间没有完全恢复； 2/3 动物的刺激反应积分均值：角膜浑浊 ≥ 3 和/或虹膜 > 1.5	
可逆眼损伤	微刺激性	角膜、虹膜积分=0；结膜充血/结膜水肿积分 ≤ 2 ，且积分在 < 7 天内降至 0
	轻刺激性	角膜、虹膜、结膜积分在 ≤ 7 降至 0
	刺激性	动物角膜、虹膜、结膜积分在 8~21 天内降至 0
不可逆眼损伤	腐蚀性	① 动物角膜、虹膜/结膜积分在第 21 天时 > 0 ② 2/3 动物的眼刺激反应积分：角膜浑浊 ≥ 3 和/或虹膜=2

4.3 实验废弃物的处理

实验结束，即时清理现场和实验用具，固体废弃物 121℃、30min 高压消毒处理；液体废弃物收集于含消毒剂的专门容器中，121℃、30min 高压消毒处理。对于有毒、有害、污染的物品和废弃物品等制定严格的病原清除计划，或委托有资质的第三方医疗废弃物处理公司处理。

5. 经口毒理评价

5.1 操作

具体操作需符合 GBZ/T240.2-2011 化学品毒理学评价第 2 部分：急性经口毒性试验和 GB/T 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第 2 部分：动物保护要求的规定，包括试验动物的饲喂、预实验的筛选、表观形态的观察、病理学组织切片镜检等方面的操作技术。

5.1.1 试剂耗材

不同规格无菌注射器、灌胃针、解剖剪、动物称、EP 管、移液器、烧杯、相机、显微镜、生理盐水、外科手套、口罩、手术服、一次性无菌纱布等。

5.1.2 试验动物及饲养管理

首选健康成年小鼠，至少使用 40 只。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，全价营养颗粒饲料喂食，自由采食，自由饮水，室温 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度 40-70%，每天光照 12 小时。具体管理需符合 QC-7211B 动物实验室管理制度的规定。进入无菌室换无菌衣、帽、鞋，戴好口罩，严格执行实验室操作规程。严禁用口直接吸取药品和菌液，按无菌操作进行，如发生菌液、病原体溅出容器外时，应立即用有效消毒剂进行彻底消毒，处理完成后方可离开现场。实验必须品需带入动物房时，必须经工作人员检查同意，在工作人员的指导配合下，根据物品的性质经过相应的消毒后方可进入，与实验无关的物品不得带入动物房。动物实验管理严格遵守科技部《关于“九五”期间实验动物发展的若干意见》中动物实验的 3R 原则，即替代(replacement)、减少(reduction)、优化(refinement)。

5.1.3 试验步骤

预实验选择 500mg/kg 作为初始剂量，无异常反应则用 2000mg/kg 进行，此剂量仍无异常反应则结束预实验。如初始剂量出现严重的毒性反应，即降低一个档次的剂量进行预试，如此时动物存活，就在此两个固定剂量之间选择一个中间剂量试验。每个剂量给一只动物，每个剂量试验之间间隔 24 h。

固定剂量法：实验选择 5、50、500、2000mg/kg 四个固定剂量进行试验，采用一次给药的方式进行。每个剂量雌雄各半。根据预试的结果，在上述四种剂量中选择一个可能产生明显毒性但又不引起死亡的剂量进行试验，如预试结果表明，5mg/kg 引起死亡，则继续降低一个剂量档次进行试验。

根据计算结果精确称量所需受试物剂量，将其溶于纯净水中，配制成所需浓度的液体，装入注射器，然后对各组试验动物进行灌胃。左手拇指和食指捏住小鼠头部两耳后皮肤，无名指或小指将尾部紧压在上，使小鼠腹部向上，尽量使其体位垂直，注意使小鼠的上消化道固定成一条直线。右手持连着灌胃针的注射器，将灌胃针由小鼠口腔侧插入，避开牙齿，沿咽后壁缓缓滑入食管。若遇阻力，可轻轻上下滑动探索，一旦感觉阻力消失，即深入至胃部，随后将受试物溶液注入。如遇小鼠挣扎，应停止进针或将针拔出，千万不能强行插入，以免穿破食管，甚至误入气管，导致小鼠立即窒息死亡。进针深度控制在 2.5-4.0cm 范围。小鼠一次灌胃体积定为 0.5ml/只。空白对照组灌胃等量饮用水。给药前禁食不禁水 12h，给受试物后再禁食 3-4 小时，之后常规饲养，连续观察 14 天。

5.1.4 临床检查

给受试物后至少应观察 2 周，根据毒性反应的具体特点可适当延长。对每只动物均应仔细观察并详细记录各种毒性反应出现和消失的时间。给受试物当天至少应观察记录两次，以后可每天一次。观察记

录的内容包括皮肤、粘膜、毛色、眼睛、呼吸、循环、自主活动及中枢神经系统行为表现等。动物死亡时间的记录要准确。给予受试物前、后各 1 周、动物死亡及试验结束时应称取动物的体重。所有动物包括死亡或处死的动物均应进行尸检，尸检异常的器官应作组织病理学检查，重点观察主要脏器（心、肝、脾、肺、肾）是否有病理变化。

5.2 结果判定

以给受试物前、后各 1 周观察时点的临床生理反应和毒理表现评价，固定剂量试验法所获得的结果，依照表 3 所规定内容进行经口毒理评价。该法不以死亡作为观察终点，而是以明显的毒性体征作为终点。当受试物剂量为 2000mg/kg 时，动物仍 100%存活，则该受试物无严重急性中毒的危险性。

表 3 固定剂量法评价标准

剂量 (mg/kg)	试验结果		
	存活数<100%	100%存活，毒性表现明显	100%存活，无明显中毒表现
5	高毒（LD ₅₀ : ≤25mg/kg）	有毒（LD ₅₀ : 25-200mg/kg）	用 50 试验
50	有毒或高毒，用 5 进行试验	有害（LD ₅₀ : 200-2000mg/kg）	用 500 试验
500	有毒或有害，用 50 进行试验	LD ₅₀ : >2000mg/kg	用 2000 试验
2000	用 500 试验	该化合物无严重急性中毒的危险性（LD ₅₀ : >5000mg/kg）	

5.3 实验废弃物的处理

工作完毕，两手用清水肥皂洗净，必要时可用新洁尔灭、过氧乙酸泡手，然后用水冲洗，工作服应经常清洗，必要时高压消毒。实验结束，即时清理现场和实验用具，固体废弃物 121℃、30min 高压消毒处理；液体废弃物收集于含消毒剂的专门容器中，121℃、30min 高压消毒处理。对于有毒、有害、污染的物品和废弃物品等制定严格的病原清除计划，或委托有资质的第三方医疗废弃物处理公司处理。

6. 皮肤适应性评价

6.1 操作

具体操作需符合 GBZ/T240.3-2011 化学品毒理学评价第 3 部分：急性经皮毒性试验和 GBT 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第 2 部分：动物保护要求的规定，包括试验动物的饲喂、临床检查的步骤、病理学组织切片镜检、生理状态的观察等方面的操作技术。

6.1.1 试剂耗材

动物称、相机、显微镜、生理盐水、直尺、消炎药、止血药、止痛药、麻醉药、外科手术器具套装、外科手套、口罩、手术服、不同规格无菌注射器、一次性无菌纱布、固定液等。

6.1.2 试验动物及饲养管理

首选健康成年动物。试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3d，确保动物身心健康。

实验动物及实验动物房应符合国家相应规定，全价营养颗粒饲料喂食，自由采食，自由饮水，室温 24±2℃，相对湿度 40-70%。具体管理需符合 QC-7211B 动物实验室管理制度的规定。进入无菌外科手术室换无菌手术衣、帽、鞋，戴好口罩、手套，严格执行手术室操作规程。实验动物带入手术室时，必

须经工作人员指导配合，避免应激反应，与实验无关的物品不得带入手术室。手术室内物品摆放整齐，试剂定期检查并明晰标签，仪器定期检查、保养、检修。实验室应有准备间和无菌室，无菌室应有良好的通风条件，如安装空调设备及过滤设备，无菌室内空气测试应基本达到无菌。动物实验管理严格遵守科技部《关于“九五”期间实验动物发展的若干意见》中动物实验的 3R 原则，即替代(replacement)、减少(reduction)、优化(refinement)。负责人严格执行本制度，出现问题立即报告，造成病原扩散等责任事故者，应视情节直至追究法律责任。

6.1.3 试验步骤

检测采血：实验当天进行空腹称重，评价 BCS，检测记录生理特征；采集血液，制备抗凝血和血清于-20℃保存，用以检测抗氧化性能。

皮肤打孔手术：实验器械提前高压灭菌，制备麻醉药物，给受试动物剔除部分毛发，标记打孔区域，实验前禁食禁水。术前给药（阿托品 0.05mg/kg 皮下注射），局部麻醉（舒泰 10-15mg/kg 肌肉注射），在创伤边缘放置直尺，拍照记录创伤面积备用。

临床造模结束，给受试物后应至少观察 2 周，每天观察皮肤创口愈合大体情况，进行空腹称重，评价 BCS，检测记录生理特征。每周采集皮肤创伤样本，放入固定液制备组织切片，记录样本病理变化。

6.1.4 临床检查

生理指标：观察各组实验动物外观变化，包括皮毛、呼吸、眼耳口鼻有无异常分泌物等，观察其精神状态、反射活动、饮水量、大小便以及死亡情况；重点观察有无炎症反应及出现和消失的时间，对患有炎症的动物及时进行消炎杀菌。

病理学观察：实验过程中，每隔 7d 取部分皮肤组织做病理组织切片检查，并对病理切片进行评分统计，检测抗氧化性能。

6.2 结果判定

以给受试物前动物的身体状况评分，依照表 4 所规定内容进行 BCS 评价。体况评分(Body Condition Scoring)是一种用分值来评价宠物营养程度的方法，常用的体况评分系统有 5 分制和 9 分制，检查要点主要包括：（1）骨骼，包括肋骨、腰椎、骨盆（髌骨）；（2）皮下脂肪厚度和肌肉厚实程度（重点检查肩背部）；（3）腹围大小、腹壁皱褶、腰部轮廓。系统评分及格线才是最理想的身材。

表 4 BCS 评价标准

5 分制		9 分制	
非常瘦	1/5	1/9	极度消瘦
体重偏低	2/5	2/9	非常瘦
		3/9	消瘦
		4/9	体重偏低
理想	3/5	5/9	理想
体重过重	4/5	6/9	体重偏重
		7/9	体重过重
		8/9	肥胖
肥胖	5/5	9/9	极度肥胖

以给受试物前、后各 1 周、2 周观察时点的受试动物皮肤创伤边缘的修复状况评价，参考表 5 标准进行评价。（采用 10 分制）评分注意：（1）伤口愈合是阶段性的，主要包括炎症与渗出、肉芽组织的增生、瘢痕形成与重塑 3 个阶段，在具体评价伤口愈合大体情况时，也要认识到伤口愈合的阶段性。（2）

创面完全愈合的标志是肉眼观察到创面完全上皮化，故创伤愈合的时间应该是创面完全上皮化所需要的时间。（3）在创伤愈合过程中若有其他情况应详细备注。

表 5 皮肤修复评分标准

分值	项目（注：采用 10 分制）
0~1	① 肉芽组织生长很差或未生长（占创面容积 0~10%）； ② 有红肿、出血、化脓或溃疡等情况，炎症反应明显； ③ 有大量深色粘稠脓液渗出； ④ 创缘不整齐、组织缺损较大，伤口不愈合或感染严重。
2~3	① 肉芽组织生长差（占创面容积 10%~30%）无明显形状； ② 创面质地硬而干燥； ③ 表面覆盖结痂，按压结痂有稀薄淡白渗出物、出血情况； ④ 有较多粘稠或稀薄、灰白脓液渗出； ⑤ 创缘整齐度差，周围组织硬而肿胀明显，创面收缩不明显，愈合情况差。
4~6	① 肉芽组织生长一般（占创面容积 30%~60%）无固定形状； ② 创面质地较硬、较干燥； ③ 表面结痂还未完全脱落； ④ 创面稍红肿，有少量渗出物及出血情况； ⑤ 有少量稀薄、淡黄色脓液； ⑥ 创缘不整齐，周围组织较硬、稍肿胀，创面缩小程度一般，愈合情况一般。
7~8	① 肉芽组织生长良好（占创面容积 60%~90%）呈团块状； ② 创面质地较柔软有湿润感； ③ 创面有不明显红肿、渗出情况，无脓液、溃疡情况； ④ 创缘较整齐，周围组织柔软、肿胀不明显，创面缩小程度明显，愈合情况良好。
9~10	① 肉芽组织生长很好（占创面容积 90%以上）颗粒状； ② 创面呈鲜红色，质地柔软湿润； ③ 创面无红肿、渗出、脓液、溃疡； ④ 创缘整齐，周围组织质地柔软、无肿胀，创口收缩程度明显，愈合很好。

6.3 实验废弃物的处理

实验结束，即时清理现场和实验用具，对染菌带毒物品，进行消毒灭菌处理，固体废弃物 121℃、30min 高压消毒处理；液体废弃物收集于含消毒剂的专门容器中，121℃、30min 高压消毒处理。对于有毒、有害、污染的物品和废弃物品等制定严格的病原清除计划，或委托有资质的第三方医疗废弃物处理公司处理。

7. 皮肤毛发状态与水油比例评价

7.1 操作

具体操作需符合化妆品安全技术规范（2015 版）第六章 人体安全性检验方法和 GBT 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第 2 部分：动物保护要求，包括光学显微镜的使用、毛发检测仪的使用、皮肤水分检测仪的使用等方面的操作技术。

7.1.1 试剂耗材

光学显微镜、毛发检测仪、皮肤水油测试笔、相机、生理盐水、EP 管、移液枪等。

7.1.2 试验动物及饲养管理

首选健康成年动物。试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3d，确保动物身心健康。

实验动物及实验动物房应符合国家规定，全价营养颗粒饲料喂食，自由采食，自由饮水，室温 24±2℃，相对湿度 40-70%。具体管理需符合 QC-7211B 动物实验室管理制度的规定。严格进行实验耗材、试剂、药品、工具、仪器设备的采购记录，主要包括产品名称、产地、批号、数量、保质期、许可证编号、质量检验信息、进货日期、生产企业或者供货者名称及其联系方式等。实验室内物品摆放整齐，试剂定期检查并明晰标签，仪器定期检查、保养、检修。

7.1.3 试验步骤

试验当天，安抚固定试验动物，按照预设区域进行标记，将受试物 0.1ml 均匀涂抹，使动物皮毛充分吸收，以防止受试物丢失。

检测：在未涂抹前、涂抹受试物 15s、24h、3d、5d、7d 后分别对动物受试区域进行检测。

记录：在涂抹 7d 内时刻关注试验动物皮肤状态，并利用毛发检测仪和皮肤水分测试笔记录各节点的数据。使用毛发检测仪前，在指导人员的带领下进行实验，仪器定期检查、保养、检修。使用皮肤水分检测仪前，要详细阅读仪器的使用说明书，确保操作无误。

7.2 结果判定

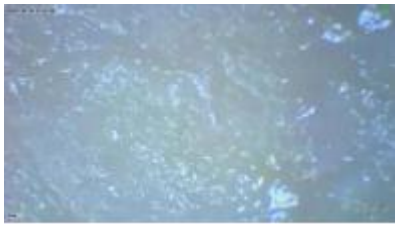
以给受试物前、后各 15s 观察时点的皮肤水油平衡状况评价，参考表 6 标准进行评价。水油测试笔检测范围：（1）皮肤的干性、中性、油性；（2）皮肤的水份值、油份值；（3）皮肤的敏感性红绿灯等。

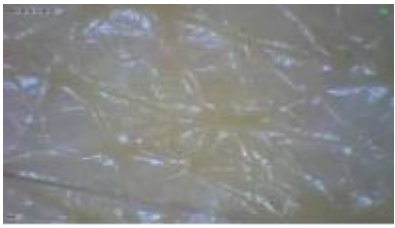
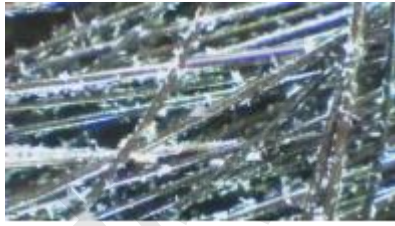
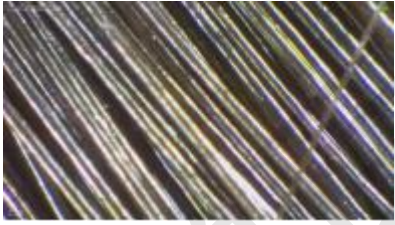
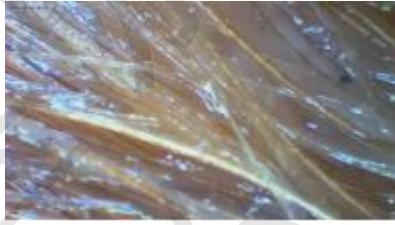
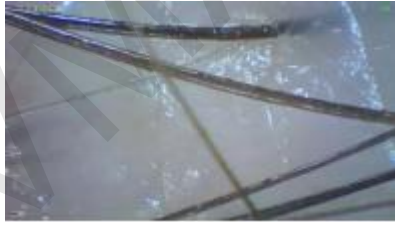
表 6 数字式皮肤水分检测仪数据标准

测量数据	皮肤性质	表情符号
10%-22%	干燥	红灯
23%-33%	偏干性	黄灯
34%-45%	混合型	黄灯
46%-55%	营养良好	绿灯
55%-63%	湿润	绿灯

以给受试物前、后 15s、24h、3d、5d、7d 观察时点的皮肤毛发的营养状况评价，参考表 7 标准进行评价。毛发检测仪检测范围：（1）皮肤的敏感性、皱纹、红斑等；（2）毛发的干性、油性、头皮屑过多、白发等；（3）脂溢性毛囊炎、毛囊萎缩、毛鳞片受损脱落等。

表 7 皮肤毛发状态评价标准

皮肤示意图			
湿润			皱纹

干燥			红斑
毛发示意图			
白发			皮屑
黑发			黄发
毛囊示意图			
皮屑			正常
炎症			脱毛

7.3 实验废弃物的处理

实验结束，即时清理现场和实验用具，固体废弃物 121℃、30min 高压消毒处理；液体废弃物收集于含消毒剂的专门容器中，121℃、30min 高压消毒处理。对于有毒、有害、污染的物品和废弃物等制定严格的病原清除计划，或委托有资质的第三方医疗废弃物处理公司处理。

8. 皮肤病原菌与寄生虫恢复评价

8.1 操作

具体操作需符合 GB/T 18448.1-2001 实验动物体外寄生虫检测方法和 GBT 16886.2-2000 医疗器械生物学评价第 2 部分：动物保护要求，包括临床案例的收集、临床诊断的步骤、取样与制片镜检、生理状态的观察等方面的操作技术。

8.1.1 试剂耗材

光学显微镜、载玻片、盖玻片、无菌胶布（约 2cm 宽）、镊子、一次性无菌刀片。

8.1.2 临床案例的收集

了解患犬患猫的基本情况比如犬猫年龄、性别、品种、是否绝育、活动环境、日常饮食等；询问动物的既往病史，比如何时开始发病、发病的主要症状以及发病部位、治疗用药情况、居所是否有其他宠物等。通过问诊了解详细的发病情况可以为初诊提供很好的判断依据，此外问诊了解动物的日常生活情况还助于为动物治疗预后提供更好的建议。

纳入标准：（1）通过病历记录的检查结果，能在显微镜视野下观察到菌落与中性粒细胞，确诊的病例；（2）排除有明显外科损伤，如咬创、砍创、外科创、烧伤等导致感染而继发的病例；（3）排除有明显原发病，仅靠治疗皮肤病无法痊愈的病例，如过敏性皮炎、激素分析水平异常等病因继发的病例。

8.1.3 试验步骤

临床诊断记录动物的临床症状（患病部位所处位置、患病部位的损伤状况比如皮屑红疹等、患病部位的掉毛情况等），有条件可以使用伍德氏灯照射患病部位发根发干，观察是否有真菌小孢子，根据临床诊断结果进行初判断并提出相应的实验室诊断建议。

皮肤刮片：用一次性无菌刀片在患病皮肤与健康皮肤交界处呈反复刮擦直至轻微渗血后，将刮下的组织碎屑用无菌胶布粘取后固定在载玻片上保存。此法适用于皮肤病变处无明显脱落组织，需要人工获取病料的有临床症状动物。

皮肤粘片：直接用无菌胶布粘取皮肤碎屑、皮屑、渗出液体等病料，之后固定在载玻片上。此法适用于患处组织碎片较多，不需人工获取病料的患病动物。

毛囊采样：直接将毛发连根拔起，保留毛根部分，用胶布粘取后固定在无菌载玻片上。长毛品种可将过长毛发部分剪去，仅保留毛根及以上 1-2 mm 毛发部位。此法适用于有毛患病动物。

8.1.4 临床检查

给受试物后至少应观察 2 周，对患病动物精神状态、病灶清洁度、发病部位与严重程度、主要临床表现等情况做观察记录。各受试动物在初次采样后，继续使用受试物一到两次后再次采样，采样部位同初次采样方法、部位一致，样品做细菌及真菌病原的培养鉴定、体表寄生虫的检查确定。

8.2 结果判定

以给受试物前、后 1 周、2 周、3 周观察时点的患处皮肤毛发的恢复程度评价，参考表 8 标准进行评价（采用 10 分制），结合光学显微镜对取样标本进行检查与鉴定，综合肉眼观察结果，判定受试物对皮肤病原菌、体外寄生虫的治疗效果。

表 8 皮肤毛发恢复程度标准

分值	项目（注：采用 10 分制）
0~1	① 全身性多处发病，清洁度差； ② 脱毛症状严重，占体表面积 40%-60%； ③ 患处皮肤红肿、化脓或溃疡等情况，病灶炎症反应明显； ④ 皮肤细菌及真菌病原培养阳性； ⑤ 临床或显微镜检查可见体表寄生虫。

2~3	① 全身性清洁度差； ② 脱毛较严重，占体表面积 20%-40%； ③ 患处有较多粘稠或稀薄脓液渗出，按压有出血情况； ④ 皮肤细菌或真菌病原培养阳性； ⑤ 临床或显微镜检查可见体表寄生虫或排泄物。
4~6	① 全身性清洁度一般； ② 脱毛程度占体表面积 20%以下； ③ 患处红肿、无渗液，炎症反应消失； ④ 皮肤细菌及真菌病原培养阴性； ⑤ 临床或显微镜检查未见体表寄生虫或排泄物。
7~8	① 全身性清洁度较高，无异味； ② 患处毛囊新生发根； ③ 患处无红肿、无渗液； ④ 皮肤病原细菌及真菌培养阴性； ⑤ 临床或显微镜检查未见体表寄生虫或排泄物。
9~10	① 全身性清洁度高，毛发蓬松无异味； ② 患处新生毛发，覆盖脱毛区域； ③ 患处皮肤恢复良好，精神、食欲恢复正常。 ④ 皮肤病原细菌及真菌培养阴性； ⑤ 临床或显微镜检查未见体表寄生虫或排泄物。

8.3 实验废弃物的处理

实验结束，即时清理现场和实验用具，固体废弃物 121℃、30min 高压消毒处理；液体废弃物收集于含消毒剂的专门容器中，121℃、30min 高压消毒处理。对于有毒、有害、污染的物品和废弃物等制定严格的病原清除计划，或委托有资质的第三方医疗废弃物处理公司处理。

参考文献

- [1] 项丽玲, 苗艳艳, 温亚娟, 等. 基于皮肤衰老临床病症特点的动物模型分析. 中药新药与临床药理, 2018, 29(2): 236~239.
- [2] 苗明三, 项丽玲, 曹利华. 皮肤衰老动物模型制备规范(草案). 中华中医药杂志, 2018, 33(2): 606~609.
- [3] 蒋平, 杨阳, 朱斌, 等. 养胃颗粒灌胃给药对小鼠的急性毒性实验. 时珍国医国药, 2014, 25(4): 841~843.
- [4] 张哲, 李新圃, 杨峰, 等. 两种多糖对家兔眼刺激性试验. 中兽医医药杂志, 2016, (1): 35~37.
- [5] 杨明艳, 罗雪梅, 罗家顺, 等. 动物创伤模型在外科手术教学学实验教学中的应用研究. 中国医药指南, 2013, 11(28): 271~273.
- [6] 陶凌云, 周洁, 胡建华, 等. 国内外大鼠和小鼠微生物、寄生虫检测标准的比较. 实验动物与比较医学, 2020, 40(2): 166~172.
-