

# T/GDCA

## 广东省化妆品学会团体标准

T/GDCA 010—2022

### 去屑产品去屑功效测试方法

Test method on efficacy of antidandruff products

2022 - 06 - 30 发布

2022 - 07 - 01 实施



## 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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省化妆品学会提出。

本文件由广东省化妆品学会归口。

本文件起草单位：广东省科学院微生物研究所（广东省微生物分析检测中心）、广州质量监督检测研究院、澳宝化妆品（惠州）有限公司、广州市微生物研究所有限公司、广州德谷个人护理用品有限公司、博贤实业（广东）有限公司、南方医科大学皮肤病医院、广州一一生物技术有限公司、曼秀雷敦（中国）药业有限公司、广州妮趣化妆品有限公司、广东丝美芳华生物科技有限公司、无限极（中国）有限公司、上海怡宽实业有限公司、深圳市萱嘉生物科技有限公司、广州百孚润化工有限公司、广东嘉丹婷日用品有限公司、泉后（广州）生物科技研究院有限公司、广东华轻质量检测服务中心有限公司、国珍健康科技（北京）有限公司、北京金宏帆商贸有限责任公司、广东立创检测技术服务有限公司、恒冠湄颜健康产业（广州）有限公司、广东药科大学、广东工业大学、广东迪美新材料科技有限公司、珠海市大美湾科技有限公司、珠海市大美湾化妆品创新研究院。

本文件主要起草人：孙廷丽、谢小保、李慧怡、杨杏、邱智华、马铃、徐碧茜、曾万祥、杨斌、范玉菡、金学迎、汤仲标、张向阳、黄金莲、肖蕾、何春华、廖雅、黎华美、张毅、韩志东、伍津毅、万洁、于立明、林丽凤、洪超、刘环宇、杜志云、邓小锋、杨露、黄健聪、李彩玲、夏树敏、叶理、叶贵、邹鹏飞、张蓝月。



# 去屑产品去屑功效测试方法

## 1 范围

本文件规定了具有去屑功能的相关产品的去屑功效的测试方法。  
本文件适用于具有去屑功效的发用产品。  
外用型去屑产品可以参考本文件进行测试。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法  
GB 19489 实验室 生物安全通用要求  
YY 0569 II级生物安全柜  
《消毒技术规范》

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**去屑产品** antidandruff products

具有去屑功效的发用产品。

注：可以参照本定义，将具有去屑功效、在皮肤表面使用的药用或其它非发用产品定义为外用型去屑产品。

### 3.2

**去屑效果** antidandruff efficacy

产品有助于减缓头屑的产生或有助于减少附着于头皮、头发的头屑的效能。

### 3.3

**黏着性头皮鳞屑分值** adherent scalp flaking score, ASFS 分值

通过评价头皮鳞屑大小、多少等综合指标对头屑严重程度进行的分级。

### 3.4

**抑菌** bacteriostasis

去屑产品抑制或妨碍微生物生长繁殖及其活性的过程。

### 3.5

**载体** carrier

试验微生物的支持物。

### 3.6

**菌落形成单位** colony forming unit (CFU)

由单个或聚集成团的多个微生物菌体在固体培养基上生长繁殖所形成的集落，用以表达活菌的数量。

## 4 基本原则

使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验，本文件并未指出所有可能的安全问题，使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。微生物实验室应满足GB 19489的要求，并确保实验室生物安全。人体功效评价检验应符合国际赫尔辛基宣言的基本原则，最大限度地保障受试者的健康与权益。

## 5 原理

### 5.1 人体功效评价试验

由于头部皮肤角质形成细胞分裂加快,间伴有微生物生长活跃,从而导致头皮表皮层的加速脱落形成头屑,其主要表现为肉眼可见的角质层细胞剥落,一般会伴随水分或油脂含量失衡、瘙痒等现象。因此,本方法在规定使用条件下,采用目视或头屑分析设备评估产品使用前后头屑相关参数结果有无统计学差异,或对照组与试验组测试结果有无统计学差异为评价标准,对去屑产品进行功效的总体评价。

### 5.2 载体浸泡抑菌试验

马拉色菌的异常活动也被认为是头屑形成的主要原因之一。因此,许多去屑产品通过添加功能性物质来控制头部马拉色菌的生长来改善头屑。对于具有此类去屑原理的产品,可以将样品对马拉色菌的抑制情况作为样品去屑性能的一个评价指标。试验以糠秕马拉色菌作为指示菌种,以布片为试验载体。将去屑产品覆盖至载体上,作用规定时间后,回收载体上的菌落数,计算其抑菌值,通过比较对照样与试验样对马拉色菌的抑制结果,评价试样的去屑效果。

### 5.3 微生物体外模拟试验

本方法通过模拟头部清洗及头部皮肤状况,对样品进行体外模拟试验。试验以糠秕马拉色菌作为指示菌种,以猪皮为试验载体。使用去屑产品及对照样品反复清洗,模拟头部使用情况。清洗后接种一定浓度的试验菌种模拟头部皮肤状态,培养一定时间后,回收载体上的菌落数,通过比较对照样与试验样对马拉色菌的抑制结果,评价试样的去屑效果。

### 5.4 方法选择

方法的使用者可以根据需要,选择本文件中描述的一种或多种试验方法进行试验,并按照相应方法予以报告。原则上,对产品进行去屑效果评价时,以抑制马拉色菌为去屑机理的产品,可以采取上述任何一种方法;以其它为去屑机理的产品,宜使用人体功效评价试验方法。

## 6 人体功效评价试验

### 6.1 受试者的选择

按入选标准和排除标准选择合格的受试者,并按随机表分为试验组和对照组,确保最终完成有效例数不少于30人/组。

#### 6.1.1 入选标准

受试者入选标准如下:

- 18~65岁健康男性或女性受试者;
- 有头皮屑困扰或脱屑严重人群,头皮分区中有 ASFS 评估,分值 $\geq 2$ 分者。评估方法及标准见 6.5.3);
- 自愿参加测试并签署知情同意书,能配合完成测试者。

#### 6.1.2 排除标准

受试者排除标准如下:

- 妊娠或哺乳期妇女,或近期有备孕计划者;
- 测试前30天内有染发、烫发或漂白头发行为者;
- 患长期睡眠、情绪控制障碍等心理或精神类疾病者;
- 现在或最近3个月受试部位参加过同类测试、外用或口服含抗真菌成分或糖皮质激素药物者;
- 既往有化妆品、发用品、去头屑产品过敏史者;
- 严重疾病、慢性消耗性疾病、免疫缺陷或免疫性疾病患者;
- 由银屑病等疾病引起的头屑患者;

——临床评估认为不适合参加试验者。

## 6.2 试验样品

### 6.2.1 洗脱样

仅不含去屑功效成分、其余配方均与试验样一致、同类型的样品，与试验样同时提供。

### 6.2.2 对照样

同洗脱样。

### 6.2.3 试验样

待测样品。

## 6.3 仪器设备

### 6.3.1 成像设备

可以拍摄头皮头屑情况的数码相机或分析成像设备。

### 6.3.2 头屑分析用仪器

可以分析头屑或头皮角质层细胞的剥落情况的分析仪器。

## 6.4 试验流程

试验流程如下：

- a) 使用本流程检验之前应先对产品完成必要的毒理学检验或安全性评价，并出具书面证明；
- b) 按照要求招募合格受试者；
- c) 受试者按照约定时间，进行第一次试验访问，接受研究者问询，了解试验情况，签署书面知情同意书；
- d) 按试验要求，向符合入选标准的受试者发放洗脱样并按要求使用该样品两周；
- e) 两周后，受试者进行首次回访，研究者按照评估指标对受试者进行评估并记录结果，评估合格的受试者进行下一步试验。不合格者，终止试验；
- f) 评估完成后，由工作人员按照随机表发放试验产品和对照产品，并根据使用说明对受试者进行使用指导，受试者按要求使用样品，并按照约定时间回访；
- g) 回访周期按样品使用说明要求执行，并在报告中说明，最长不超过 8 周，测试周期允差 $\pm 2$  天。每次回访时按标准进行研究者评估；
- h) 实验开始及结束后对样品使用量进行确认；
- i) 根据需要采用自身前后对照或对照样与试验样对照进行试验；
- j) 所有受试者回访前 48h 内不洗头。测试环境首先满足仪器要求，受试者测试时，一般要求环境温度为 $(21\pm 2)$ ℃，相对湿度 $(50\pm 10)$ %；
- k) 同一个受试者的测试需由同一个测试人员使用同一仪器按同一程序完成。如受试者使用过程中出现不良反应，应及时报告并终止试验；
- l) 如试验需要终止时，由研究者向受试者逐一阐明情况并终止试验。

## 6.5 评估指标参数

### 6.5.1 评估指标

研究者评估指标为头屑改善情况。

### 6.5.2 头皮分区

将受试者的头部以中点划分为前后左右四个区域，每部分作为一个试验区域，每个区域分别记录，以其算数平均值作为其评估结果。

### 6.5.3 头屑改善情况

### 6.5.3.1 通用要求

实验室可以根据自身能力及设备配置情况,选择以下方法评价头屑改善情况。其中目视评估法为所有实验室必须进行测试的方法,有条件的实验室可加做仪器法。

### 6.5.3.2 目视评估法

研究者依据“ASFS分值”(adherent scalp flaking score,黏着性头皮鳞屑分值)标准(见表1)对受试者的头屑严重程度进行评分,记录分值。宜同时拍摄测试区域的头屑图片。测试时,要求受试者在随访前48h内不洗头,到达试验室后,受试者需要在测试环境中静坐30min,期间不得抓挠触碰头部。

表1 ASFS 评分标准

等级评分	描述
0	无可见脱屑
1	偶见细小轻微脱屑
2	头皮及头发上有较多脱屑
3	头皮及头上少量的片状脱屑或大量细小脱屑
4	大量片状脱屑

### 6.5.3.3 仪器法

使用头屑分析仪、皮肤纹理分析测试仪及其它类似功能的仪器推荐的头屑采集方法采集头屑样品,并运用仪器本身的分析指标如头屑数量、皮屑剥脱面积、皮屑剥脱指数等报告参数,对结果进行报告。

## 6.6 结果分析

应用统计分析软件进行数据的统计分析。计量资料表示为:均值±标准差,并进行正态分布检验,符合正态分布要求,自身前后的比较采用配对t检验,否则采用两个相关样本秩和检验;等级资料使用前后的比较,采用两个相关样本秩和检验;试验样和对照样之间比较采用配对样本t检验或秩和检验;上述统计分析均为双尾检验,显著性水平为 $\alpha=0.05$ 。

## 6.7 结果评价

以头屑改善情况为评价依据,试验样使用前后有统计学差异(有改善)或对照组与试验组有显著差异(试验组较对照组改善效果好)为具有去屑效果。

## 7 载体浸泡抑菌试验

### 7.1 试验菌种

糠秕马拉色菌 ATCC44344。

注:可以根据需要增加使用特定人群头皮分离到的马拉色菌,但需要在报告中说明。

### 7.2 试剂和材料

#### 7.2.1 试剂和培养基

##### 7.2.1.1 通用要求

此处使用的试剂和材料应是适用于生物学试验用的。实验室可以按照实际情况选用,允许使用验证合格的其它配方,推荐使用商品化试剂及耗材,并按照生产商提供的说明书使用。

##### 7.2.1.2 水

所用的水应为符合GB/T 6682规定的三级水。

##### 7.2.1.3 Leeming 和 Notman 培养基

蛋白胨	10.0g
牛胆盐	4.0g
葡萄糖	5.0g
酵母浸膏	1.0g
单硬脂酸甘油酯	0.5g
吐温60	0.5mL
全脂牛奶	10.0g
橄榄油	20.0mL
琼脂	12.0g
去离子水	至1000mL
放线菌酮	0.5g
氯霉素	0.05g
pH	6.2±0.2 (25℃)

放线菌酮及氯霉素可以按照比例配成储备液，过滤除菌备用。其它成分充分溶解后，调节pH至6.0~6.4，置于121℃，灭菌15min~30min。使用前加入放线菌酮及氯霉素储备液。

#### 7.2.1.4 0.03mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS)

磷酸氢二钠	2.83g
磷酸二氢钾	1.36g
无离子水	1000ml

充分溶解后，调节pH至7.2~7.4，置于121℃，灭菌15min~30min。

#### 7.2.2 载体

载体为10mm×10mm脱脂白平纹布片，脱脂方法依照《消毒技术规范》进行，使用前压力蒸汽灭菌备用。

#### 7.2.3 对照样品

PBS缓冲液。

### 7.3 仪器设备

#### 7.3.1 干热灭菌箱

控温范围50℃~200℃，温度精度2℃。

#### 7.3.2 生物安全柜

应为符合YY 0569规定的II级生物安全柜。

#### 7.3.3 生化培养箱

控温范围20℃~50℃，温度精度1℃。

#### 7.3.4 水浴锅

控温范围：25℃~55℃，温度精度1℃。

#### 7.3.5 可调移液器

量程：10μL~100μL，100μL~1000μL，1mL~5mL等各种规格。

#### 7.3.6 电子天平

精度0.01g，量程0~200g。

#### 7.3.7 冰箱

控温范围2℃~8℃，-(20±2)℃。

### 7.3.8 计时器

精度1S。

### 7.3.9 均质器

### 7.3.10 涡旋器

### 7.3.11 培养皿、试管等其他微生物学小型用具及设备

## 7.4 试验方法

### 7.4.1 试验菌种的制备

储备菌种接种Leeming和Notman培养基斜面上，(28±2)℃，培养5~7天后取新鲜培养物使用。如菌种生长活性不够，则进行二次传代，再次活化。使用PBS缓冲液洗下新鲜培养物，并用PBS稀释至约 $5 \times 10^6$ CFU/mL~ $5 \times 10^7$ CFU/mL制成菌悬液备用。工作菌株宜使用3~6代菌种。

### 7.4.2 载体制备

用微量移液器滴染10 μL菌悬液于灭菌载体上，(36±1)℃烘干或室温晾干备用。

### 7.4.3 载体浸泡抑菌

按5g/片的量称取样品于无菌平皿内，置(20±1)℃水浴5min，用无菌镊子取染菌载体，使载体完全浸没于样品中，立即计时。待染菌载体与样品相互作用至规定时间，分别取染菌载体加入5.0mL或其它合适体积的PBS于试管或均质袋中，充分振打，将试验菌洗下，混匀。按照菌液浓度，使用PBS进行10倍稀释，选取合适的稀释度，分别吸取1.0mL样液，放入灭菌平皿中，共接种2个平皿，倒入Leeming和Notman培养基，待凝固后翻转平板，置(28±2)℃，培养7天后计数。

以PBS缓冲液替代样品作为对照组，同时按上述步骤进行操作。

取同批次PBS缓冲液、培养基同时进行微生物检验，作阴性对照。

试验重复5次，计算每组抑菌率的平均值。

### 7.4.4 质量控制

试验需满足如下要求才能合格：

——对照组回收菌量为 $1 \times 10^4$ CFU/片~ $9 \times 10^4$ CFU/片；

——阴性对照组无菌生长；

——对照组与试验组方差一致。

## 7.5 结果计算

### 7.5.1 每片载体的回收菌落数

每片载体的回收菌落数按照式(1)计算结果：

$$C = \frac{N1+N2}{2} \times F \times V \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C——每片载体的回收菌落数，单位为CFU/片；

N——每皿上点数到的菌落数量，单位为CFU；

F——稀释倍数；

V——初始回收液体积，单位为mL。

### 7.5.2 单组抑菌率

按照式(2)计算结果：

$$Y = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

Y——抑菌率(%)；

$C_0$ ——对照组作用后载体的回收菌落平均数，单位为CFU/片；

$C_1$ ——试验组作用后载体的回收菌落平均数，单位为CFU/片；

## 7.6 结果分析与评价

结果分析与评价如下：

- 分别计算每次重复试验时对照组及试验组载体上的菌落总数，并转化为对数值；
- 计算五次重复试验的均值及标准差；
- 对试验组及对照组样品回收菌落数对数值进行配对 t 检验；以试验组菌落数小于对照组（对数差值  $>0.25$ ），且对照组与试验组结果有显著差异为具有去屑效果；
- 计算每一次试验的抑菌率，并分别报告抑菌率值。

## 8 微生物体外模拟试验

### 8.1 菌种、试剂、培养基及仪器设备

所用菌种、试剂、培养基及微生物分析仪器均与第7章中相关条款一致。

### 8.2 载体

载体采用无菌处理的猪皮。可以使用市售的成品无菌猪皮，也可以自行制备满足替代皮肤模型使用的猪皮。每批次猪皮应经过技术验证后方可使用。

合格的猪皮应符合以下条件：

- 外观平整、无机械损伤、赘物、疤痕等；
- 皮质、毛孔一致，同一批次猪皮应尽量选用同一或相近部位的皮肤；
- 猪皮无菌，pH 约为 7.0；
- 猪皮对测试微生物的回收情况应达到试验设计要求。

### 8.3 试验方法

#### 8.3.1 菌悬液的制备

按照7.4.1制备菌悬液，使菌悬液浓度为  $5 \times 10^5$  CFU/mL  $\sim$   $5 \times 10^6$  CFU/mL，备用。

#### 8.3.2 猪皮的清洗

8.3.2.1 试验组用  $0.03\text{g}/\text{cm}^2$  试验样品均匀轻柔擦拭猪皮表面 1min，将猪皮置于 4L/min、 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$  流动水下冲洗，时间为 1min，冲洗结束后使用无菌纸巾或纱布拍干。

8.3.2.2 如需要，再次按 8.3.2.1 模拟洗头过程，总洗涤次数不超过 8 次。

8.3.2.3 对照组使用 PBS 进行相同程序的洗涤。

#### 8.3.3 人工污染载体

猪皮清洗完成后，将其在无菌条件下载成  $4\text{cm} \times 4\text{cm}$ /块备用。用微量移液器滴染  $100 \mu\text{L}$  菌悬液于猪皮表面上，涂布均匀，注意不要溢出。无菌条件下自然晾干或低温烘干备用。其中制备样品 3 块，对照组 6 块。

#### 8.3.4 接种后菌落回收

接种后，立即取 3 块对照样品，分别置于无菌袋中，加入 20mL 的 PBS 缓冲液，均质器拍打 1min，得到回收液。将上述回收液进行 10 倍系列梯度稀释后，分别吸取合适梯度的样液 1.0mL，放入灭菌平皿中，共接种 2 个平皿，使用 Leeming 和 Notman 培养基， $(28 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，培养 7 天后计数。每块载体回收菌落计算见式（1）。报告 3 块样品上的平均菌落数。

注：也可以使用其它合适的回收方式进行菌落回收。比如手搓或者手动振摇、拍打等。

#### 8.3.5 样品组与对照组的培养及回收

将污染后的其它载体放置于无菌培养皿中，置  $(28 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $>90\%$ ，培养 48h 后取出猪皮进行菌落回收。方法同 8.3.4。

试验重复5次。

### 8.3.6 质量控制

试验结果需满足下列要求，不满足者需重新试验。

- 对照组 0 时回收菌量应达到  $1 \times 10^4$ CFU/块~ $9 \times 10^4$ CFU/块；
- 试验组及对照组总体方差一致。

### 8.4 结果计算与评价

结果计算与评价如下：

- a) 分别计算五次重复试验的对照组及试验 3 块平行载体上的菌落总数的均值，并转化为对数值，菌落总数计算见式(1)；
- b) 计算五次重复试验的均值及标准差；
- c) 对试验组及对照组样品回收菌落数对数值进行配对 t 检验；以试验组菌落数小于对照组（对数差值 $>0.25$ ），且对照组与试验组结果有显著差异为具有去屑效果；
- d) 使用式（2）计算每一次试验的抑菌率，并分别报告。

## 9 结果报告

### 9.1 人体功效评价试验结果报告

报告应至少包括以下内容：

- 试验是按本文件进行的，并注明具体采用的试验方法及条款；
- 样品信息；
- 试验报告：
  - 受试者概述；
  - 每位受试者每次随访时头部皮肤测试参数；
  - 对数据的统计分析情况；
  - 试验结论；
- 其它任何对本文件的偏离。

人体功效测试评价报告模板可参考附录A。

### 9.2 微生物试验结果报告

报告应至少包括以下内容：

- 试验是按本文件进行的，并注明具体采用的试验方法及条款；
- 样品信息；
- 试验报告：
  - 试验菌种信息；
  - 载体信息；
  - 试验组及对照组的菌落回收值；
  - 抑菌率值；
  - 其它统计数值；
- 其它任何对本文件的偏离。

微生物试验报告模板可参考附录B。



表 A.1 去屑产品去屑功效人体功效测试试验结果

受 试 物	受试者 编号	姓名 (首字 母)	性 别	年 龄	使用前		使用后					
							天		天		天	
					AFSF 评分	其他 指标	AFSF 评分	其他 指标	AFSF 评分	其他 指标	AFSF 评分	其他 指标
试 验 产 品	01											
	02											
	03											
	04											
	05											
	06											
	07											
	08											
	09											
	10											
	.....											
	平均值 $\bar{X}$											
	标准差 SD											
对 照 产 品	01											
	02											
	03											
	04											
	05											
	06											
	07											
	08											
	09											
	10											
	.....											
	平均值 $\bar{X}$											
	标准差 SD											

三、结果分析

四、试验结论

(本页以下空白)

授权签字人签字

机构签章

全国团体标准信息平台

附录 B  
(资料性)  
微生物试验报告模板

检测报告

检验受理编号:

第 页 / 共 页

样品中文名称	_____	样品数量及规格	_____
进口产品外文名称	(进口产品书写此项) _____	生产日期或批号	_____
颜色和物态	_____	保质期或限期使用日期	_____
受理日期	_____	检验完成日期	_____
检验项目	_____		
检验依据	_____		
送检单位	_____		
地址	_____		
生产企业	_____		
地址	_____		
境内责任人	(进口产品书写此项) _____		
地址	_____		

一、 材料与方法

1. 试验菌种:
2. 试验载体:
3. 试验过程:

## 二、 检测结果:

微生物试验结果见表 B. 1。

表 B. 1 去屑产品去屑功效 测试试验结果

试样	测试菌种	作用时间	实验重复	对照组		试验组		抑菌率 (%)	对数抑菌率值
				菌落总数 (cfu/片)	对数值	菌落总数 (cfu/片)	对数值		
			1						
			2						
			3						
			4						
			5						
			平均值 $\bar{X}$						
			标准差 SD						

## 三、 结论:

(1) 经检验, 5 组对照组菌落对数值与试验组存活菌落对数值方差齐/不齐, 其对数差值为\_\_\_\_\_, 试验有效/无效;

(2) 对5组对照组菌落对数值与试验组存活菌落对数值采用t检验分析, 其P=\_\_\_\_\_, 可以认为产品具有/不具有去屑效果。

(本页以下空白)

授权签字人签字

机构签章