|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 71.100.70 |
| CCS  |

|  |
| --- |
|   |

Y 42 |

团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

皮肤微生态调节型化妆品功效评价

Efficacy assessment for skin microecology/microbiome-modulating cosmetics

**在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。**

XXXX- XX-XX发布

XXXX- XX-XX实施

中国抗衰老促进会  发布

1. 前言

本标准依据《GB/T 1.1—2020 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》规定的要求编写。

本标准由中国抗衰老促进会提出并归口。

本标准起草单位：杭州钛美生物科技有限公司、广东丸美生物技术股份有限公司、广州汉方医学生物科技有限公司、伽蓝（集团）股份有限公司、华熙生物科技股份有限公司、TOKYO BEAUTY SUPPLY INC.、江苏创健医疗科技有限公司、完美（广东）日用品有限公司、广州樊文花化妆品有限公司、帝斯曼（中国）有限公司、广东粤微生物科技有限公司、哈尔滨敷尔佳科技股份有限公司、上海昆药生物科技有限公司、花安堂生物科技集团有限公司、安利（上海）科技发展有限公司、华大精准营养（深圳）科技有限公司、时垠（上海）生物科技有限公司、山东九鑫生物工程有限公司、艾地盟蔚蓝生物科技（山东）有限公司、宁波格鲁康生物科技有限公司、厦门盛妆化妆品有限公司、广州复奥薇生物科技有限公司、上海遗传学会、上海国际人类表型组研究院、成都律恩泽雅科技有限公司、陕西博溪通用检测科技有限公司、无限极（中国）有限公司、国珍健康科技（北京）有限公司、杭州优玛达生物科技有限公司、上海微谱检测科技集团股份有限公司、诺斯贝尔化妆品股份有限公司、前研化妆品科技（上海）有限公司、上海美宝生命科技有限公司、深圳海创生物科技有限公司、美慕（北京）科技有限公司、深圳市容大生物科技股份有限公司、南方医科大学皮肤病医院、山东思乐基医药科技有限公司、中国医学科学院皮肤病医院、拉芳家化股份有限公司、德薇（上海）化妆品有限公司、广东华润顺峰药业有限公司、仙婷（广州）科技研发有限公司、仙婷（广州）贸易有限公司、广州优科生物科技有限公司、广州金至检测技术有限公司、上海铮信生物科技股份有限公司、上海家化联合股份有限公司、上海百好博生物科技有限公司、汉宁化学（上海）有限公司、杭州希科检测技术有限公司、广州旭帆生物科技有限公司、浙江中茂企业服务有限公司、广东丝美芳华生物科技有限公司、天津嘉氏堂科技有限公司、北京至乐界生物科技有限公司、广州市宣艺生物科技有限公司、广州梵之容化妆品有限公司等。

本标准主要起草人：王久存、吴旭升、郭朝万、孙云起、涂桂洪、潘忠林、邹岳、吴建铭、郭学平、坂本诚一、曹一峰、李海航、纪白慧、李晓敏、苏敦、樊文花、唐金山、陈临婧、朱传昕、陈建、李舜贤、张立国、潘宇、刘艳君、秦紫嫣、陶侃、林广欣、姜秀玉、郑剑恒、张海峰、钟一祎、廖峰、张大存、陈国庆、段治、张景燕、王晓娟、朱源源、陈康、董玉宝、夏晶晶、路静、郭云峰、张宝江、李潇、何陵玲、邹鹏飞、张明洲、冯俊、刘向前、池水兴、魏敏、刘杰、王娟、杨平顺、杨斌、叶理、付强、刘毅、杨雪源、曹海磊、吴滨奇、王北明、张超、杨勇、符毅敏、黄福山、贝煜、熊中立、贾海东、袁清标、杜巧燕、王晓、李国锋、舒婷婷、余土成、张向阳、祁晓烨、杨媛媛、罗文杰、李安章等。

1. 引言

皮肤是人体最大的器官，具有抵御外来物理、化学及生物病原体的入侵，维持机体稳态等功能，同时皮肤也为共生微生物提供生存环境。皮肤微生物组（skin microbiome），也称为皮肤菌群，是指所有生活在皮肤上的细菌、真菌、病毒等微生物的集合，它们生存的微环境（皮肤、皮肤附属器和外界环境）共同组成的生态系统，称为“皮肤微生态”。微生物根据在皮肤上停留的时间可分为常驻菌群和暂住菌群。皮肤微生物、宿主及环境三者相互作用并达到动态平衡，构成皮肤微生态平衡。这一平衡不仅是微生物之间的制衡，也是微生物和宿主皮肤之间的和谐统一，展现出健康状态。皮肤微生物组对于发挥皮肤的多重屏障功能、维持宿主内环境稳态有重要作用。皮肤微生态失衡，与一系列皮肤疾病紧密相关，如特应性皮炎、痤疮、脂溢性皮炎、银屑病、慢性伤口感染、机会性感染等。

化妆品对于改善人体皮肤的健康有着不可或缺的作用，同样的，它们也影响着皮肤微生态的平衡。随着对人体共生微生物的深入研究，发现仅凭借抑菌和杀菌策略可能也会打破皮肤正常的微生态平衡，不利于皮肤健康。因此，“皮肤微生态平衡”的概念已经变成了个护行业追求的新趋势。越来越多益生菌和（或）益生元的化妆品应运而生。目前，研究化妆品或原料对于皮肤微生态的影响主要有以下一些体外或者体内的方法：体外抗菌测试、体外细胞和微生物共培养模型、体外猪皮和微生物共培养模型和临床试验。本文件就化妆品的皮肤微生态调节功效进行规范，从而指导化妆品的评价，也会对生产、研发过程起到一定的指导意义，确保消费者所使用的个护产品不会对皮肤微生态产生破坏，真正给消费者提供健康、安全和有效的化妆品。

皮肤微生态调节型化妆品功效评价

* 1. 范围

本文件规定了皮肤微生态调节型化妆品功效评价的基本原则、皮肤微生态评估方法、皮肤状态改善相关功效评价、测定步骤护肤品微生物检测方法与技术要求本文件适用于皮肤微生态调节型化妆品功效评价活动。

1 范围

本文件规定了微生态与皮肤问题的基础理论依据、微生态护肤及化妆品的定义、微生态相关原料的基本要求、微生态菌群调节检测方法、技术要求和贮存要求。

本文件适用于宣称具有皮肤微生态调节功效的化妆品。

* 1. 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 7919—1987 化妆品安全性评价程序和方法

ISO 29621：2017 化妆品 微生物学 微生物低风险产品的风险评估和鉴定指南（Cosmetics - Microbiology - Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products）

化妆品安全技术规范(2015年版)

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 皮肤微生物组 skin microbiota / skin microbiome

也称皮肤菌群

所有生活在皮肤上的细菌、真菌、病毒等微生物的集合。

注：英文Skin microbiota概念强调微生物本身，而microbiome的概念除指微生物种类外，还包括其遗传信息和功能的集合(1)。

* + 1. 皮肤微生态 skin microecology

由生活在皮肤上的细菌、真菌、病毒以及螨虫等小型节肢类生物与它们生存的微环境（皮肤、皮肤附属器和外界环境）共同组成的生态系统。

* + 1. 皮肤微生态平衡

皮肤微生态系统内微生物与宿主皮肤、外界环境达成的一种稳态，其特征表现是微生物种群的高度多样性及对外界环境扰动的韧性，宿主皮肤表现为健康状态。

* + 1. 皮肤微生态失衡 dysbiosis of skin microbiome

皮肤微生态平衡被打破，失稳态的状态。

注：皮肤微生态失衡可见皮肤微生物组的生物多样性下降、菌群结构变化、宿主皮肤功能和代谢活动的异常，与一系列皮肤问题和常见皮肤疾病紧密相关，如特应性皮炎、痤疮、脂溢性皮炎、银屑病、慢性伤口感染、机会性感染等。

* + 1. 微生态调节型化妆品

能维持或调节皮肤菌群状态从而最终达到促进皮肤健康的化妆品。

* + 1. 皮肤微生态护肤

通过使用微生态调节型化妆品，维持/调节皮肤表面的菌群达到生态平衡的状态。

* + 1. 益生菌 probiotics

一种活的微生物，当给予足够数量时，对宿主健康有益(2)。

* + 1. 益生元 prebiotics

能被益生菌选择性利用的底物(3)。

* + 1. 后生元 postbiotics

为宿主带来健康益处的灭活益生菌和/或其代谢产物等成分(4)。

* + 1. 合益素 synbiotic

对宿主有益的混合物，包含益生菌和菌选择性利用的底物(5)。

* 1. 基本原则
		1. 皮肤微生态评价——人群功效

皮肤微生态研究技术主要包括：扩增子测序（包括16srRNA 扩增子测序（细菌组）、ITS扩增子测序（真菌组）），以及宏基因组测序技术。

* + 1. 扩增子测序基本原理
			1. 16srRNA 扩增子测序（细菌组）(6)

16S rRNA基因普遍存在于细菌和古细菌中，具有多个拷贝数，全长1500 bp左右，其结构由9个可变区(variable region)和10个保守区(conserved region)交替组成(见图1)。保守区有利于扩增引物的设计，可变区体现了物种间的进化差异。其中，V4区（518F-806R，288bp）其特异性好，数据库信息全，大量的测序试验证明用v4区扩增出菌群结果可以很好的反应样本的菌群结构用于后续的数据建模分析，是细菌多样性分析注释的最佳选择。这些特性使16S rRNA基因成为原核生物鉴定分类、系统进化以及多样性分析等研究中常用的分子标志物。



1. 16S rRNA基因结构与引物示意图
	* + 1. ITS扩增子测序（真菌组）(7)

与皮肤的细菌微生态相比，真菌微生态的研究难度更大，其原因主要有３方面因素：

1. 真菌在皮肤中的含量远低于细菌，难以获得充分样本量；
2. 人类细胞DNA会污染样本，干扰特异性区段的扩增；
3. 真菌具有坚固的细胞壁，难以破坏细胞壁并提取出高质量遗传物质，其难度远高于细菌和人类细胞。
	* 1. 宏基因组测序基本原理(8)

宏基因组(Metagenome)是由Handelsman等1998年提出的新名词，其定义为“the genomes of the total microbiota found in nature”，即环境中全部微小生物遗传物质的总和。它包含了可培养的和未可培养的微生物的基因，目前主要指环境样品中的细菌和真菌的基因组总和。而宏基因组学(metagenomics)就是一种以环境样品中的微生物群体基因组为研究对象，以功能基因筛选和测序分析为研究手段，以微生物多样性、种群结构、进化关系、功能活性、相互协作关系及与环境之间的关系为研究目的的新的微生物研究方法。

* 1. 人体皮肤微生态评估方法
		1. 基本原则

人体皮肤微生态评估应当遵守伦理学原则要求，评估前应完成必要的产品安全性评价，确保在正常、可预见的情况下不得对受试者（或消费者）的人体健康产生危害，所有受试者（或消费者）应当签署知情同意书后方可开展试验，应采取必要的医学防护措施，最大程度地保护受试者的利益。

产品测试期间，如受试者出现过敏、肿胀、不适等不良反应/事件，应立即停止测试，并对受试者进行医治。对不良反应无论是否与产品使用有关，均应予以记录。

* + 1. 试剂或耗材
			1. 无菌纯净水。
			2. 无菌采样拭子/皮肤取菌胶布/取样刀片。
			3. 采样管。
			4. 保存液。
			5. DNA提取试剂盒。
		2. 试验环境条件。
			1. 温度：20℃～22℃。
			2. 相对湿度：40%RH～60%RH。
			3. 有避免空气流动影响实验结果的措施。
		3. 测试方法
			1. 受试者要求

确保最终完成有效例数不低于30人。

* + - 1. 受试者条件

入选准则：

1. 符合试验要求的健康志愿者和/或主要功效宣称的问题皮肤组；
2. 能够充分理解试验过程，自愿参加试验并签署书面知情同意书者。

排除准则：

1. 患有系统性疾病或近一个月内正在接受（抗肿瘤、抗生素、激素等）药物治疗的患者；
2. 患有皮肤疾病并正在接受皮肤科治疗的患者，或被判定为影响本项目功效评价的患者；
3. 近一个月内参加过其他临床试验研究者；
4. 试验负责人/研究医生判断为不适合参加本测试项目的人群。
	* 1. 测试期间的要求

测试期间要求：

1. 采样尽量由同一采样人员完成，已确保样本质量；
2. 采样人员应带口罩、手套、穿（专用工作服）；
3. 控制采样空间内人数，尽量控制在2人。
	* 1. 测试部位

应与宣称部位保持一致，如面部、躯干皮肤或头皮等。

* + 1. 采样流程

按照要求招募入组受试者，签署书面知情同意书。入组前根据入选和排除标准等询问受试者。

系列关于疾病史、健康状况等问题。

取样前12小时，受试者正常清洁后不能使用任何产品；测试当天，受试者不能使用任何化妆品。

合格的受试者在符合要求的房间静坐至少30min。

取样过程：

1. 取样频次：正常/问题组使用产品前后（具体时间间隔可根据实际情况调整）；
2. 试验人员按照要求做好取样前准备并设置恰当对照，皮肤取材的方法包括拭子擦取、胶带粘取和刀片刮取，必要时可组合使用；
3. 将无菌纯水浸湿的无菌采样拭子按在取样表面上，用力使其弯曲与取样表面成45度，平稳而缓慢地擦拭取样表面, 擦拭约30 s（或根据实际情况调整），间歇性翻转拭子，取样部位尽量覆盖全面；同时，在采样时准备空白拭子，在空气中静置片刻后放入采样管，以此作为采样的空白对照样品（因皮肤微生物属于低生物量样本，建议多做几个空白对照样本）；
4. 取样完成后，迅速将取样拭子放回采样管保存液中，折断拭子手持手柄部位，盖子盖紧密封，尽快置于-80℃保存。记录采样样品的相应信息（样本名，采样时间等）；
5. 按要求处理样品后进行裂解、扩增和测序。在抽提基因组时，空白对照样本和实验样本一同进行。PCR扩增时，采集耗材和抽提试剂的空白对照DNA也一起进行实验，同时也要设置只有PCR扩增试剂的空白对照。
6. DNA提取需要使用较强的物理方式裂解真菌，常用滚珠和酶混合裂解方法。
7. 取样过程中需佩戴口罩，每个样本取样时需更换无菌手套。
8. DNA提取：可参考使用试剂盒：PureLink Genomic DNA Kit (Invitrogen)，QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen, Valencia, CA)，NEBNext Microbiome DNA Enrichment Kit (NEB)。
	* 1. 数据统计与结果解读
			1. 评估指标

比较采样部位微生物群落的多样性、物种组成等指标；宏基因组数据可进一步挖掘基因和功能属性。测序结果数据评估指标见表1。

1. 测序结果相关评价指标

|  |  |
| --- | --- |
| **检测指标** | **具体评价指标** |
| 皮肤菌群多样性 | 香农指数 |
| 物种数量 |
| 皮肤常驻菌群（相对丰度） | 拟棒状杆菌痤疮丙酸杆菌颗粒表皮杆菌头状葡萄球菌表皮葡萄球菌多种马拉色菌 |
| 皮肤条件致病菌（相对丰度） | 金黄色葡萄球菌铜绿假单胞菌枯草芽孢杆菌 |

* + - 1. 结果判定

 干预前后；

1. 皮肤菌群多样性发生显著变化（p＜0.05）；
2. 皮肤常驻菌群相对丰度发生显著变化（p＜0.05）；
3. 皮肤条件致病菌相对丰度发生显著变化（p＜0.05）；

满足以上任一指标，同时伴有皮肤功效改变即可宣称微生态调节型化妆品。

* + 1. 试验报告

试验报告包含以下内容：

1. 被测化妆品所需全部资料；
2. 受试者信息；
3. 试验依据和方案；
4. 试验日期和时间；
5. 试验中的异常现象；
6. 试验结果：包括每个志愿者每次试验的结果，按规定的计算方法进行数据处理；
7. 试验结论：根据统计结果得出产品是否具有XXX功效；
8. 检验者、校核人和技术负责人分别的签字以及检验单位公章。
	1. 针对特定皮肤微生物的相关实验评价
		1. 体外抗菌（宣称）测试

MIC测试和抑菌圈测试可用于评价刺激物对于特定微生物菌株的影响。测定生物、抗菌药物或其他非生物材料物质的体外抑制细菌生长效力的试验即为抑菌试验。通过抑菌试验，可以测定一个药物的最低抑菌浓度（MIC），用以评价该药物的抑菌性能，这是抗菌药物的最基本的药效学数据。主要方法有进行定性测定的平板扩散法（如抑菌斑试验）和进行定量测定的稀释法（如最低抑菌浓度试验）(9, 10)。

* + 1. 3D皮肤模型和微生物共培养

3D皮肤模型可在体外研究皮肤和微生物的相互作用，目前常使用的模型包括EpiSkin(11)、EpiDermTM(12)、SkinEthicTM(13)、LabCyte EPI -MODEL24 SIT(14)及Labskin(15)。

* + 1. 体外猪皮和微生物共培养模型

猪皮模型被认为是最能代表人皮的模型，也非常适合培养微生物(16)。Roche等人开发了猪皮移植模型和猪皮创伤模型，来评估卡地姆碘对抗生物膜的效果，为更广泛的临床试验和后续治疗提供了重要的科学信息(17)。Phillips等人也使用体外猪皮生物膜模型研究了抗菌敷料和外用药的效果(18)。

* + 1. 针对皮肤微生态的相关体外实验评价

实验室结果评判标准：对照组和实验组差异显著（p＜0.05），则可做相应实验结果宣称。

对于皮肤有益菌和有害菌，目前科学界仍有争议，尚无明确定义，建议根据具体实验数据做相应宣称。相关内容可参考附录。

* 1. 皮肤状态改善相关功效评价

皮肤状态改善相关功效评价详见附录A。

* 1. 测定步骤护肤品微生物检测方法与技术要求（安全）

皮肤微生态调节型护肤品首先符合GB 7919—1987，有关微生物风险评估参见ISO 29621:2017。

1. （资料性）

表A 皮肤状态改善相关功效评价

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 类型 | 标准编号 | 功效实验标准名称 |
| 1 | 国家标准 | GB/T 18670-2017 | 化妆品分类 |
| 2 | 行业标准 | QB/T 4256-2011 | 化妆品保湿功效评价指南 |
| 3 | 法规 | 中华人民共和国国务院令第727号 | 化妆品监督管理条例 |
| 4 | 法规 | 国家药监局（2021年 第50号） | 化妆品功效宣称评价规范 |
| 5 | 国际标准 | ISO/TR 26369:2009 | 化妆品 防晒试验方法 防晒产品的光照保护评定方法的评论与评价 |
| 6 | 国际标准 | ISO 24444:2019 | 化妆品 防晒试验方法 体内防晒系数(SPF)的测定 |
| 7 | 国际标准 | ISO 24442:2022 | 化妆品 防晒试验方法 遮光剂长波紫外线防护的体内测定 |
| 8 | 国际标准 | ISO 11930:2019 | 化妆品 微生物学 化妆品的抗菌防护评定 |
| 9 | 团体标准 | T/TDCA 003—2021 | 化妆品紧致功效测试方法 |
| 10 | 团体标准 | T/TDCA 004—2021 | 化妆品祛痘功效测试方法 |
| 11 | 团体标准 | T/ZHCA 004—2021 | 化妆品抗皱功效测试方法 |
| 12 | 团体标准 | T/CNMIA 0012—2020 | 祛痘类功效性护肤品临床评价标准 |
| 13 | 团体标准 | T/GDCA 007—2020 | 洁面产品的保湿和控油功效测试方法 |
| 14 | 团体标准 | GDCDC 019—2021 | 化妆品抗皱功效测试方法 |
| 15 | 团体标准 | T/HPCIA 005-2021 | 化妆品 美白功效的测定 斑马鱼胚法 |
| 16 | 团体标准 | 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 |
| 17 | 团体标准 | 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 |
| 18 | 团体标准 | T/SHRH 021-2020 | 化妆品美白功效测试 体外重组 3D 黑色素模型测试方法 |
| 19 | 团体标准 | T/SHRH 018-2019 | 化妆品改善眼角纹功效 临床评价方法 |
| 20 | 团体标准 | T/ZHCA 003-2018 | 化妆品影响经皮水分流失测试方法 |
| 21 | 团体标准 | T/ZHCA 002-2018 | 化妆品控油功效测试方法 |
| 22 | 团体标准 | T/ZHCA 001-2018 | 化妆品美白祛斑功效测试方法 |
| 23 | 团体标准 | T/TDCA 003—2021 | 化妆品紧致功效测试方法 |
| 24 | 团体标准 | T/SHRH 034-2021 | 化妆品舒缓功效测试- 体外 TNF-α炎症因子含量测定脂多糖诱导巨噬细胞 RAW264.7 测试方法 |
| 25 | 团体标准 | T/SHRH 032-2020 | 化妆品紧致、抗皱功效测试-体外角质形成细胞活性氧（ROS）抑制测试方法 |
| 26 | 团体标准 | T/SHRH 031-2020 | 化妆品紧致、抗皱功效测试-体外成纤维 细胞Ⅰ型胶原蛋白含量测定 |
| 27 | 团体标准 | T/ZHCA 012-2021 | 化妆品美白功效测试斑马鱼胚胎黑色素抑制功效测试方法 |
| 28 | 团体标准 | T/ZHCA 006-2019 | 化妆品抗皱功效测试方法 |
| 29 | 团体标准 | T/ZHCA 005-2019 | 化妆品影响皮肤弹性测试方法 |
| 30 | 团体标准 | T/ZHCA 004-2018 | 化妆品影响皮肤表面酸碱度测试方法 |
| 31 | 团体标准 | T/GDCA 009—2022 | 化妆品修护功效人体评价方法 |

1.

参考文献

1. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. Nat Rev Microbiol. 2018;16(3):143-55.

2. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2014;11(8):506-14.

3. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017;14(8):491-502.

4. Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley EMM, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2021;18(9):649-67.

5. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2020;17(11):687-701.

6. Ju F, Zhang T. 16S rRNA gene high-throughput sequencing data mining of microbial diversity and interactions. Appl Microbiol Biotechnol. 2015;99(10):4119-29.

7. Seed PC. The human mycobiome. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014;5(5):a019810.

8. Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. Chem Biol. 1998;5(10):R245-R9.

9. Wang Q, Cui S, Zhou L, He K, Song L, Liang H, et al. Effect of cosmetic chemical preservatives on resident flora isolated from healthy facial skin. J Cosmet Dermatol. 2019;18(2):652-8.

10. Lalitha C, Rao P. Antimicrobial Efficacy of Preservatives used in Skin Care Products on Skin Micro Biota. International Journal of Science and Research. 2015;4(6):2319-7064.

11. Rademacher F, Simanski M, Gläser R, Harder J. Skin microbiota and human 3D skin models. Exp Dermatol. 2018;27(5):489-94.

12. Dahl EL, Curren R, Barnett BC, Khambatta Z, Reisinger K, Ouedraogo G, et al. The reconstructed skin micronucleus assay (RSMN) in EpiDerm™: detailed protocol and harmonized scoring atlas. Mutat Res. 2011;720(1-2):42-52.

13. Pellevoisin C, Videau C, Briotet D, Grégoire C, Tornier C, Alonso A, et al. SkinEthic™ RHE for in vitro evaluation of skin irritation of medical device extracts. Toxicol In Vitro. 2018;50:418-25.

14. Katoh M, Hamajima F, Ogasawara T, Hata K-I. Assessment of human epidermal model LabCyte EPI-MODEL for in vitro skin irritation testing according to European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)-validated protocol. J Toxicol Sci. 2009;34(3):327-34.

15. Bojar RA. Studying the Human Skin Microbiome Using 3D In Vitro Skin Models. Applied In Vitro Toxicology. 2015;1(2):165-71.

16. Dai T, Kharkwal GB, Tanaka M, Huang Y-Y, Bil de Arce VJ, Hamblin MR. Animal models of external traumatic wound infections. Virulence. 2011;2(4):296-315.

17. Roche ED, Woodmansey EJ, Yang Q, Gibson DJ, Zhang H, Schultz GS. Cadexomer iodine effectively reduces bacterial biofilm in porcine wounds ex vivo and in vivo. Int Wound J. 2019;16(3):674-83.

18. Phillips PL, Yang Q, Davis S, Sampson EM, Azeke JI, Hamad A, et al. Antimicrobial dressing efficacy against mature Pseudomonas aeruginosa biofilm on porcine skin explants. Int Wound J. 2015;12(4):469-83.