



최 종 보 고 서

TBR-0007-14

은이온 살균기

Rabbit에 대한 은이온 살균기의 피부자극시험

한국화학융합시험연구원장



시 험 개 요

시 험 제 목 : Rabbit에 대한 은이온 살균기의 피부자극시험
[Study title]

시 험 번 호 : TBR-0007-14
[Study number]

시 험 의뢰 자[Sponsor]

명 칭 : 주식회사 씨엔엘
소 재 지 : 강원도 원주시 흥업면 연세대길 1(장애인창업보육센터304호)
대 표 자 : 김 경 수
담 당 자 : 송 철 기 부서 및 직책 : 전무이사
연 락 처 : Tel. 033-764-2116 Fax. 033-764-2117

시 험 기 관[Test facility]

명 칭 : 한국화학융합시험연구원 헬스케어연구소
소 재 지 : 전라남도 화순군 화순읍 산단길 12-63
운 영 책 임 자 : 박 종 일
연 락 처 : Tel. 061-370-7769 Fax. 061-370-7779

시 험 방 법[Test method]

식품의약품안전처 고시 제2014-136호 (2014-07-30) “의약품등의 독성시험기준”, [별표8]
국소 독성시험, ② 피부자극시험

시 험 책 임 자

[Study director]

이 진 영 [Lee Jin-young., B.S.]

Date

※ 본 결과는 신청인으로부터 제공받은 시험물질에 대한 보고서입니다.

시험참여자

[Study Staffs]

다음의 시험자는 시험 중 중요한 시험단계 및 기록을 한국화학융합시험연구원 헬스케어연구소의 표준작업지침서에 따라 수행하였다.

시험 담당자 : 정명호/B.S.

시험물질 조제담당자 : 이진영/B.S.

동물관리 책임자 : 김용우/B.S.

검역 책임자 : 이진영/B.S.

보고서 작성자 : 이진영/B.S.

목 차

[Contents]

보고서표지

시험개요	I
시험참여자 [Study Staffs]	II
목차 [Contents]	III
1. 요약 (Summary)	1
2. 서론 (Introduction)	2
2.1. 시험일정	2
3. 재료 및 방법 (Materials & methods)	3
3.1. 시험물질 및 대조물질 (세척물질)	3
3.2. 시험물질 조제	3
3.3. 시험물질 분석	3
3.4. 시험계	3
3.5. 사육환경	4
3.6. 시험방법	5
3.7. 관찰항목	5
4. 결과 (Results)	7
4.1. 사망률 및 일반증상	7
4.2. 체중	7
4.3. 처치부위 관찰	7
5. 고찰 및 결론 (Discussion & conclusion)	8
6. 참고문헌 (References)	9
7. Tables (Group summary)	10
Table 1. Mortality rate and clinical signs	10
Table 2. Body weight	10
Table 3. Evaluation of skin irritation	11
8. Figures	12
Figure 1. Skin photograph at 24 hours after application of test substance	12
Figure 2. Skin photograph at 72 hours after application of test substance	12
Figure 3. Test substance	13

1. 요약 (Summary)

Rabbit에 대한 은이온 살균기에서 생성된 은이온수의 피부자극을 평가하기 위하여 시험물질을 rabbit의 피부에 24 시간 동안 도포한 후 72 시간 동안의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 피부자극을 평가한 결과, 다음과 같다.

- 시험기간 중 시험물질의 처치로 인한 사망동물은 관찰되지 않았다.
- 모든 실험동물에서 특이할 만한 이상증상은 관찰되지 않았다.
- 체중측정 결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었다.
- 시험물질 처치 후 24 및 72 시간째 처치부위의 피부자극을 관찰한 결과, 피부자극이 전혀 관찰되지 않았다.
- Draize의 산출방법에 따른 판정결과, 1 차 피부자극지수(P.I.I.)는 '0.0' 으로 산출되었다.

이상의 결과로부터 rabbit에 대한 피부자극시험에서 은이온 살균기에서 생성된 은이온수는 '비자극성 (None irritant)' 물질로 사료된다.

2. 서론 (Introduction)

본 시험은 rabbit에서 은이온 살균기의 피부자극을 평가하기 위해 실시하였다.

본 시험은 동물보호법[시행 2014-08-14][법률 제12051호(2013-08-13, 일부개정)] 및 실험동물에 관한 법률[시행 2013-07-30][법률 제11987호(2013-07-30, 일부개정)]에 근거한 한국화학융합시험연구원 헬스케어연구소의 동물윤리위원회에 의해 승인되었다.

2.1 시험일정

시험개시일	: 2014-09-30
실험개시일	: 2014-10-06
실험동물도입일	: 2014-10-06
검역 및 순화기간	: 2014-10-06 - 2014-10-13
제모일	: 2014-10-13
투여일	: 2014-10-14
일반증상 관찰기간	: 2014-10-14 - 2014-10-17
실험종료일	: 2014-10-17
최종보고서(초안)제출일	: 2014-11-03
시험종료일	: 2014-11-04

3. 재료 및 방법 (Materials & methods)

3.1 시험물질 및 대조물질 (세척물질)

3.1.1 시험물질 (Figure 3.)

물질명	: 은이온 살균기
공급원	: 주식회사 씨엔엘
제조일	: 2014-09-01
설치일	: 2014-10-06
설치장치	: 은이온수 제조장치 1 세트
시험기간 중 보관조건	: 실온 $[(1 - 30)^{\circ}\text{C}]$, 제조 후 당일 사용
유효기간	: 은판 소멸 시 까지 (의뢰인 제공)
외관 및 성상	: 은이온수 제조 시 투명한 액상
잔여시험물질처리	: 은이온수 폐기 및 제조장치 1 세트 반환
취급/폐기시 주의사항	: 제조장치를 물에 직접 접촉하지 말 것

3.1.2 대조물질 (세척물질)

물질명	: 멸균증류수(주사용수)
제조원	: 대한약품공업(주)

3.2 시험물질 조제

시험의뢰자가 설치(장치) 및 설정(기준 값)한 은이온 살균기에서 생성된 시험물질을 별도의 조제 없이 사용하였다.

3.3 시험물질 분석

시험의뢰자와 협의하여 시험물질 및 시험물질 조제물의 농도, 안정성 및 균질성에 대한 분석은 별도로 시행하지 않았다.

3.4 시험계

계통 및 종	: Yac:NZW(KBL), Rabbit, SPF
공급원	: 천안연암대학(충청남도 천안시 서북구 성환읍 연암로 313)
도입 시 성별, 동물 수	: 수컷, 6 마리
도입 시 동물 월령 및 체중범위	: 약 3 개월령, 1803.4 - 1980.4 g
투여 시 성별, 동물 수	: 수컷, 6 마리
투여 시 동물 월령 및 체중범위	: 약 3 개월령, 2095.0 - 2312.8 g

3.4.1 시험계의 선택사유

본 시험에 사용되는 NZW rabbit은 피부자극시험에 일반적으로 많이 사용되는 동물로서 비교할 많은 시험기초자료가 축적되어 있어 선택하였다.

3.4.2 검역 및 순화

실험동물 도입 시 모든 개체의 건강상태에 대한 외관검사를 실시하였으며, 8 일 동안의 검역 및 순화기간을 거쳐 체중변화 및 일반 건강상태를 관찰한 후 건강한 개체를 시험에 사용하였다.

3.4.3 개체식별

순화기간 중에는 좌측 귓바퀴 내부에, 군 분리 후에는 우측 귓바퀴 내부에 유성펜으로 동물번호를 표시하였으며 cage에 개체식별카드를 부착하여 식별하였다.

3.5 사육환경

3.5.1 동물실 번호

Rabbit 사육실 5

3.5.2 환경조건 및 사육조건

온도	: (20 ± 3)°C
상대습도	: (50 ± 20)% R.H.
환기횟수	: (10 - 20)회/h
조명주기	: 광조건 12 시간 (08:00 - 20:00) 암조건 12 시간 (20:00 - 08:00)
조도	: (150 - 300)Lux
Cage 종류	: Stainless steel cage
Cage 크기	: (470W × 405D × 600H)mm
Cage당 수용마리 수	: 1 마리

동물실의 온·습도는 자동 온습도 측정기에 의하여 매 30 분마다 측정 되었으며, 조도 등의 환경조건은 표준작업지침서에 따라 측정하였다. 동물실의 환경 측정 결과, 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 없었다.

3.5.3 사료 및 음수

사료는 방사선 멸균된 실험동물용 rabbit 사료[퓨리나, 대한민국]를, 음수는 R/O수를 자유섭취 시켰다.

3.5.4 사료 및 음수 검사

사료는 제조업체의 정기적 검사에 따른 분석성적서를 사료공급자로부터 받아 확인하였으며, 음수는 한국화학융합시험연구원 헬스케어연구소의 표준작업지침서에 따른 정기적 검사를 통해 확인한 결과 시험에 영향을 미치는 요인은 발견되지 않았다.

3.6 시험방법

3.6.1 군 구성

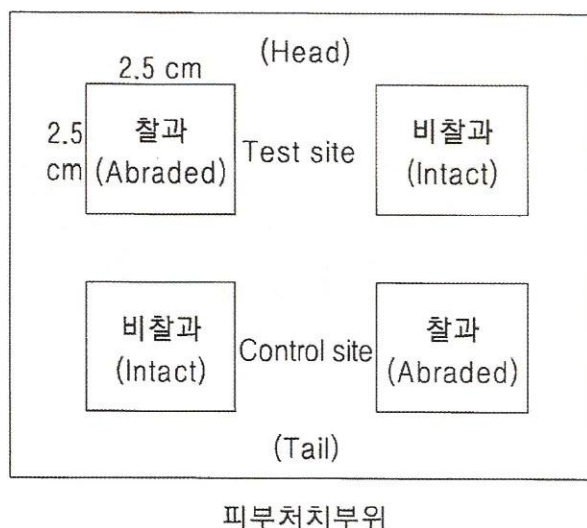
군	성	동물번호	마리수	처치용량	처치부위(마리당)	투여경로
T1	수컷	1101 - 1106	6	대조물질 : 0.5 mL 시험물질 : 0.5 mL	대조부위 : 2 시험부위 : 2	피부

3.6.2 처치 전 처리

처치 약 24 시간 전에 등 부위를 제모한 후, 처치 직전에 각각 (2.5×2.5) cm² 넓이의 처치 구획 2 개소와 대조구획 2 개소로 구분 및 표시하였다. 실험동물 당 처치구획과 대조구획을 각각 찰과부위와 비찰과부위로 구분하였으며, 찰과부위는 표피만 손상되고 진피는 손상되지 않는 정도의 찰과상을 입혔다.

3.6.3 시험물질 처치

시험물질을 gauze [(2.5×2.5) cm²]에 균일하게 도포하였다. 상부의 찰과부위 1 개소와 비찰과부위 1 개소에 각각 시험물질을 처리한 gauze를 부착하였으며, 하부의 대조구획에는 0.5 mL의 멸균증류수를 gauze에 적용한 후 부착하였다. 처치부위를 비자극성 테이프(Tegaderm, 3M)와 탄력붕대(Coban, 3M)를 이용하여 잘 고정시켰다. 첩포는 24 시간 후 제거하고 피부에 남아있는 물질은 세척물질을 이용해 부드럽게 세정해주었다.



3.7 관찰항목

3.7.1 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 1 일 1 회 관찰을 실시하였으며, 72 시간 관찰종료 후 안락사를 실시하였다.

3.7.2 체중

실험동물 도입 시, 시험물질 처치직전과 관찰종료시점인 72 시간째에 개체별 체중을 측정하였다.

3.7.3 피부반응의 관찰

시험물질 처치 후 24 및 72 시간에 [표. A]에 따라 홍반, 가피 및 부종형성 정도를 관찰하였다.

3.7.4 사진촬영

시험물질 처치 후, 24 및 72 시간에 대표성을 가진 1 개체에 대하여 시험번호, 시험물질명을 기록한 라벨을 부착하고 사진촬영을 실시하였다.

3.7.5 피부반응의 평가 및 판정

피부반응의 평가는 [표. A]에 따라 실시하였으며, 1 차 피부자극지수(P.I.I.)를 산출하였다. 피부자극성은 [표. B]에 따라 판정하였다.

$$\text{P.I.I. (Primary irritation index)} = \frac{\text{Sum of 24 and 72 h readings}}{(\text{No. of test sites} = 12) \times (\text{scoring intervals} = 2)}$$

[표. A] 피부반응의 평가

(1) 홍반과 가피의 형성	
홍반이 전혀 없음	0
아주 가벼운 홍반(육안으로 겨우 식별할 정도)	1
분명한 홍반	2
약간 심한 홍반	3
심한 홍반(홍당무 색의 발적)과 가벼운 정도의 가피	4
최고점=	4
(2) 부종형성	
부종이 전혀 없음	0
아주 가벼운 부종(육안으로 겨우 식별할 정도)	1
가벼운 부종(뚜렷하게 부어 올라서 변연부가 분명히 구별될 경우)	2
보통의 부종(약 1 mm 정도 부어 올랐을 경우)	3
심한 부종(1 mm 이상 부어오르고 노출부위 밖에까지 확장된 상태)	4
최고점=	4

[표. B] 피부자극 평점표

1 차 피부자극지수 (P. I. I.)	구 분
0.0 - 0.5	None irritant (비자극성)
0.6 - 2.0	Mild irritant (약한 자극성)
2.1 - 5.0	Moderate irritant (중등도 자극성)
5.1 - 8.0	Severe irritant (강한 자극성)

4. 결과 (Results)

4.1 사망률 및 일반증상 (Table 1)

실험기간 동안, 시험물질 처치와 관련된 사망 또는 이상증상의 동물은 관찰되지 않았다.

4.2 체중 (Table 2)

체중측정 결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었다.

4.3 처치부위 관찰 (Table 3, Figure 1 - 2)

시험물질 처치 후 24 및 72 시간째에 처치부위를 관찰한 결과, 피부자극이 전혀 관찰되지 않았다.

5. 고찰 및 결론 (Discussion & conclusion)

Rabbit에 대한 은이온 살균기에서 생성된 은이온수의 피부자극을 평가하기 위하여 시험물질을 24 시간 동안 rabbit의 피부에 도포한 후 72 시간 동안의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 피부 자극을 평가하였다.

실험기간 중 일반증상에서 시험물질 처치에 의한 사망동물 및 이상소견은 관찰되지 않았다. 체중측정 결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었다.

시험물질 처치 후 24 및 72 시간째 처치부위의 피부자극을 관찰한 결과, 피부자극이 전혀 관찰되지 않았다. 따라서 Draize의 산출방법에 따른 판정결과, 1 차 피부자극지수(P.I.I.)는 '0.0' 으로 산출되었다.

이상의 결과로부터 rabbit에 대한 피부자극시험에서 은이온 살균기에서 생성된 은이온수는 '비 자극성 (None irritant)' 물질로 사료된다.

6. 참고문헌 (References)

- 식품의약품안전처 고시 제2014-136호 (2014-07-30) “의약품등의 독성시험기준”, [별표8] 국소 독성시험, ② 피부자극시험
- 식품의약품안전처 고시 제2014-67호 (2014-02-12) “비임상시험관리기준”
- 식품의약품안전처 (2012) “의약품등의 독성시험 기준 해설서”
- OECD Principle of Good Laboratory Practice, ENV/MC/CHEM (98)17 (as revised in 1997)
- Draize J.H. (1959) : Dermal toxicity. Assoc. Food and Drug officials, U.S. Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics. Texas state Dept. of Health Austin, pp 46-59, Texas.
- Draize J.H., Woodard G. and Calvery H.O. (1944) : Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther., 82:377-390.

7. Tables (Group summary)

Table 1. Mortality rate and clinical signs

Animal number	Days after application				Mortality
	0	1	2	3	
1101	N	N	N	N	0/6 ^a
1102	N	N	N	N	
1103	N	N	N	N	
1104	N	N	N	N	
1105	N	N	N	N	
1106	N	N	N	N	

N : Normal

^a : Number of dead animals/Number of total animals

Table 2. Body weight

Animal number	Hours after application		Unit (g)
	0 h	72 h	Weight gains
1101	2095.0	2139.9	44.9
1102	2153.3	2233.4	80.1
1103	2162.3	2225.7	63.4
1104	2312.8	2385.9	73.1
1105	2299.6	2408.5	108.9
1106	2275.4	2308.9	33.5
Mean	2216.4	2283.7	67.3
S.D.	90.9	103.2	26.8

S.D. : Standard deviation

Table 3. Evaluation of skin irritation

Sites		Control Sites							
Change		Erythema & Eschar				Edema			
Animal number	Phases ¹	Intact		Abraded		Intact		Abraded	
		24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h
1101		0	0	0	0	0	0	0	0
1102		0	0	0	0	0	0	0	0
1103		0	0	0	0	0	0	0	0
1104		0	0	0	0	0	0	0	0
1105		0	0	0	0	0	0	0	0
1106		0	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	0	0	0	0	0	0
Sum ² (S)		0							
P.I.I. (S/24*)		0.0							

Sites		Test Sites							
Change		Erythema & Eschar				Edema			
Animal number	Phases ¹	Intact		Abraded		Intact		Abraded	
		24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h
1101		0	0	0	0	0	0	0	0
1102		0	0	0	0	0	0	0	0
1103		0	0	0	0	0	0	0	0
1104		0	0	0	0	0	0	0	0
1105		0	0	0	0	0	0	0	0
1106		0	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	0	0	0	0	0	0
Sum ² (S)		0							
P.I.I. (S/24*)		0.0							

¹ : Time after topical application² : Sum of 24 and 72 h readings

* : (No. of test sites = 12) × (scoring intervals = 2)

8. Figures

Figure 1. Skin photograph at 24 hours after application of test substance

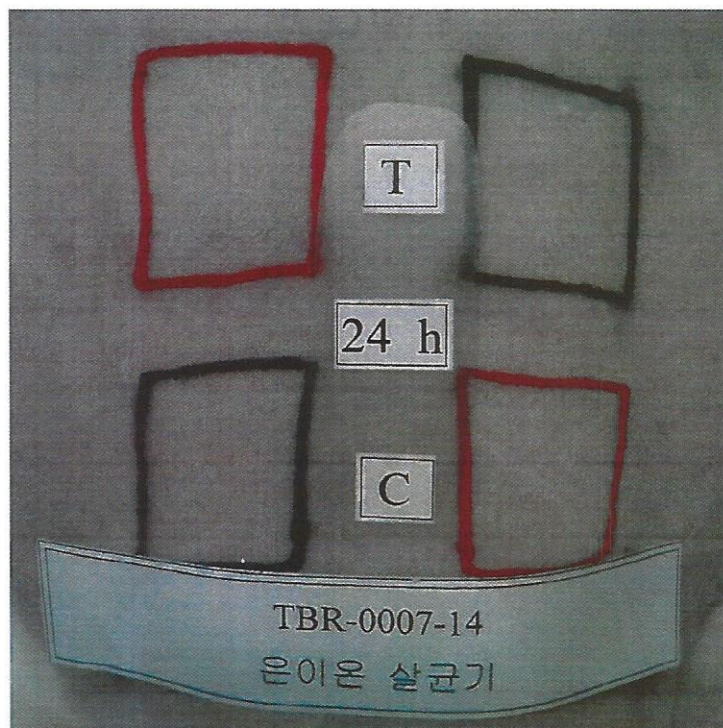


Figure 2. Skin photograph at 72 hours after application of test substance

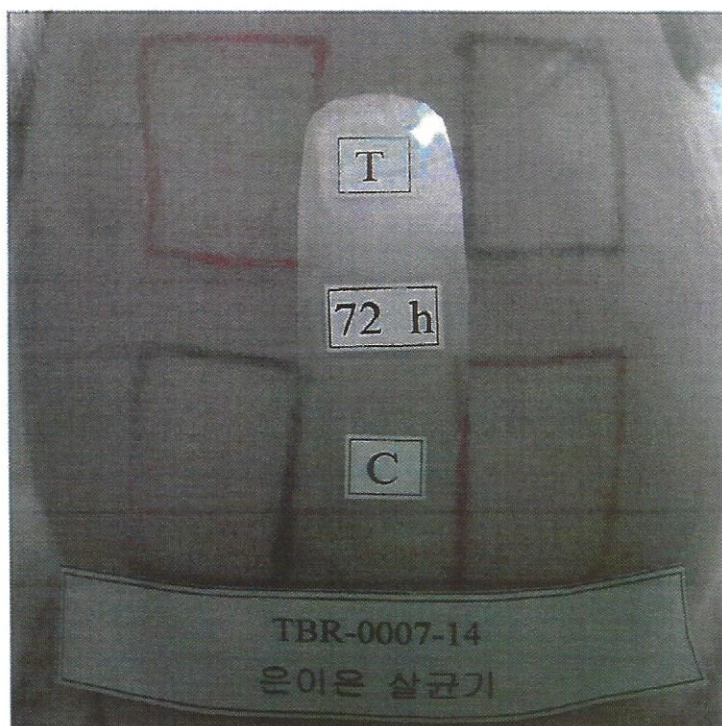


Figure 3. Test substance

