

KOSHA GUIDE

T - 20 - 2020

화학물질의 급성 눈 부식성 및 자극성 시험
기술지침

2020. 12.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이 용 훈
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이 성 배

- 제·개정 경과
 - 2015년 11월 산업독성분야 제정위원회 심의(제정)
 - 2016년 10월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정)
 - 2017년 9월 산업독성분야 제정위원회 심의(개정)
 - 2019년 11월 산업독성분야 기준제정위원회 심의(개정)
 - 2020년 12월 산업독성분야 기준제정위원회 심의(개정)

- 관련규격 및 자료
 - OECD Guideline for the testing of chemicals(TG 405, Acute Eye irritation/Corrosion)

- 관련법규·규칙·고시 등
 - 산업안전보건법 제104조(유해인자의 분류기준)
 - 산업안전보건법 제105조(유해인자의 유해성·위험성 평가 및 관리)
 - 산업안전보건법 시행규칙 제141조(유해인자의 분류기준) 별표 18
 - 국립환경과학원 고시(화학물질의 시험방법에 관한 규정)

- 기술지침의 적용 및 문의
 - 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(www.kosha.or.kr)의 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
 - 동 지침 내에서 인용된 관련규칙 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2020년 12월

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

화학물질의 급성 눈 부식성 및 자극성 시험 기술지침

1. 목 적

이 지침은 「산업안전보건법」 제39조(유해인자의 관리 등), 제40조(화학물질의 유해성·위험성 조사), 국립환경과학원고시(화학물질의 시험방법에 관한 규정)에 따라 화학물질 취급 및 노출에 의한 독성 및 건강장해에 관한 정보를 제공하기 위한 화학물질의 급성 눈 부식성 및 자극성 시험에 관한 지침을 정함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 시험지침은 동물의 눈에 시험물질을 노출 시킨 후 발생하는 눈의 부식과 자극의 정도를 평가하는 시험법에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 지침에서 사용되는 용어의 정의는 다음과 같다.

(가) “눈 부식(Eye corrosion)”시험물질이 눈에 노출되었을 경우 일어나는 안구의 비가역적 조직장해로 인한 변화이다.

(나) “눈 자극(Eye irritation)”이란 시험물질이 눈에 노출되었을 경우 일어나는 안구의 가역적 변화이다.

(2) 그 밖의 용어의 뜻은 이 지침에서 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 동법시행령, 동법시행규칙에서 정하는 바에 의한다.

4. 시험 준비

4.1 시험 전 고려 사항

- (1) 기존의 시험 결과, 화학 구조적으로 눈 부식성/자극성과 관련이 있는 화학물질 또는 혼합물질에 대한 자료, 화학물질의 강산성 또는 강염기성, 검증된 생체 외 시험(in vitro, ex vivo test) 결과 등을 바탕으로 화학물질의 눈 부식성/자극성을 평가한 후, 눈 부식성/자극성에 대한 가능성이 있다고 판단되는 경우에 한하여 동물을 이용한 시험을 수행한다.
- (2) 생체 내 피부 부식성에 관한 자료가 없는 경우 이를 우선적으로 수행하고 그 결과를 눈 부식성/자극성 시험 수행에 참고한다.

4.2 실험동물의 준비

4.2.1 동물종의 선택

건강한 2.0~3.0 kg의 토끼(알비노 토끼)를 선택하고 다른 종을 사용하는 경우 타당한 이유를 제시한다.

4.2.2 동물 수

우선 1마리를 대상으로 실시하고 이상이 없는 경우 2 마리를 추가로 실시한다.

4.2.3 사육조건

- (1) 실험동물은 관찰을 용이하게 하기 위하여 개별적으로 사육한다.
- (2) 실험동물을 사육하는 공간의 온도는 경우 $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ 가 되도록 한다.
- (3) 상대습도는 50~60%를 유지하되, 최소 30%, 최대 70%를 넘지 않아야 한다.
- (4) 음용수는 무제한으로 공급하며, 사료는 일반 실험실용 사료를 공급한다.
- (5) 조명주기는 12시간 간격으로 조절한다.

5. 시험방법의 기술

5.1 원리

- (1) 실험동물에 진통제를 피하 주사로 투여하고 눈에 국소 마취제를 적절하게 투약한 후 시험물질을 동물의 한쪽 안구에 1회 투여한다. 이때 시험물질을 투여하지 않은 다른 쪽 눈을 대조군으로 사용한다.
- (2) 눈의 부식성/자극성의 정도는 결막, 각막, 홍채의 부식 정도를 별표에 제시된 점수로 평가한다. 그 외에도 눈에 나타나는 다른 영향 및 전신 영향을 기술한다. 관찰 기간은 시험물질의 영향에 대한 가역성 또는 비가역성을 평가하기에 충분한 기간으로 한다.

5.2 시험물질

5.2.1 투여방법

점안투여로 한다.

5.2.2 용량

- (1) 액체인 경우 0.1 ml, 고체, 반고체, 입자 상태인 경우 100 mg이 넘지 않도록 한다.
- (2) 분무상태의 물질인 경우는 눈에서 약 10 cm 거리에서 안구의 부식이 야기 되지 않도록 주의하면서 1 초간 분무한다. 분무기의 거리는 분무 상태에 따라 다를 수 있으나 분무 압에 의해 눈의 부식이 발생하지 않도록 해야 한다.
- (3) 에어로졸의 농도는 흡수지 앞에 토끼 눈 크기의 구멍이 뚫린 종이를 대고 분무한 후 흡수지의 무게 변화로 측정한다. 휘발성이 강한 물질인 경우 휘발이 방지되는 별도의 용기에 같은 방식으로 분무하고 용기의 무게 변화로 측정한다.

5.2.3 관찰기간

보통 21일 이내로 한다. 단, 21일 전에 회복성이 관찰되면 시험을 중단 할 수 있다.

5.3 실험의 절차

5.3.1 시험물질의 적용

시험물질을 한쪽 눈에 점안하고 나머지 한쪽과 비교한다.

5.3.2 진통제 및 국소마취제의 사용

시험과정에서 실험동물에 통증 및 극심한 고통을 주지 않거나 최소화하기 위해 시험책임자 또는 실험동물 수의사의 판단 및 처치에 따라 진통제와 마취제를 투약할 수 있으며 아래의 절차를 참고하여 투약할 수 있다.

- (1) 필요 시 시험물질 투여 60 분 전에 전신 진통제를 피하 주사한다.
- (2) 이후 시험물질 투여 5 분 전에 눈의 국소 마취제(예, 0.5% proparacaine hydrochloride 또는 0.5% tetracaine hydrochloride)를 1 방울 ~ 2 방울을 각각의 눈에 점안한다.
- (3) 통증을 심하게 초래할 것으로 예측되는 시험물질인 경우에는 시험을 수행하지 않아야 하지만 통증이 의심스럽거나 꼭 시험을 수행할 필요가 있는 경우에는 시험물질을 투여하기 전 5 분 간격으로 마취제를 투약한다.
- (4) 시험물질 투여 8 시간 후에 meloxicam 등 적절한 진통제를 적절한 시기에 투약하여 시험기간 동안 진통효과를 유지하도록 한다.

5.3.3 시험물질 투여

- (1) 시험물질은 한쪽 눈에만 투여하며 아래 눈꺼풀을 잡아당긴 후 결막낭에 떨어지도록 한다. 시험물질의 손실을 예방하기 위해 눈꺼풀을 약 1 초간 잡고 있도록 한다.
- (2) 다른 쪽 눈은 시험물질을 투여하지 않으며 대조군으로 사용한다.

5.3.4 시험물질의 세척

- (1) 시험물질은 최소 24 시간 동안 노출시키며 투여 후 24 시간 후에 씻어낼 수 있다.
- (2) 투여 후 바로 부식성 또는 자극성이 나타나는 경우는 생리식염수로 20 ~30 초 후 씻어내고, 고체물질인 경우는 투여 후 1 시간 후의 관찰시점에도 눈의 생리적 작용에 의해 제거되지 않고 남아 있으면 생리식염수나 증류수로 씻어낸다.
- (3) 세척 시간을 비롯하여 세척액의 조성, 온도, 세척기간, 부피, 적용속도 등을 상세히 기록한다.

5.3.5 초기시험

- (1) 실험동물은 1 마리를 사용한다. 두 번째 동물에 대한 확인시험을 실시하기 전에 눈 부식의 정도, 가역성 등을 결정하기 위해 주의 깊게 관찰한다.
- (2) 시험결과 부식성이나 심한 자극성이 관찰되지 않으며 자극성에 대한 더 이상의 시험은 진행하지 않는다.

5.3.6 확인시험

- (1) 초기시험에서 부식성이나 심한 자극성이 관찰되지 않으면, 자극성 또는 음성 반응을 확인하기 위해 추가로 2 마리까지 시험을 실시한다.
- (2) 초기시험에서 자극성이 나타나면 확인시험을 실시하며, 이때 각 동물에 대해 순차적으로 시행한다. 두 번째 동물에서 부식성이나 심각한 자극성이 나타나면 시험을 더 이상 진행하지 않는다.

5.3.7 관찰 기간

- (가) 시험물질 점안 후 1 시간, 24 시간, 48 시간, 72 시간에 별표 1에 제시된 내용을 근거로 결막, 각막, 홍채의 부식 정도를 구분하고 점수를 부여한다.
- (나) 부식의 정도나 상태를 파악하고, 가역성 또는 비가역성을 결정하기 위하여 최소한 1 시간, 24 시간, 48 시간, 72 시간, 7 일, 14 일, 그리고 21 일에 관찰한다.

- (다) 회복성을 확인하기 위해 점안 후 21 일까지 관찰하며, 21 일 전에 회복성이 확인되면 그 시점에 실험을 중단한다. 실험동물이 심각한 통증이나 극심한 고통을 느낄 경우에는 바로 중단한다.

5.3.8 임상증상 및 안구반응 평가

- (1) 시험물질 투여 1 시간 후에 눈 부식의 존재여부를 확인하기 위해 광범위하고 포괄적인 평가를 수행하며, 이후에는 매일 평가를 수행한다. 시험을 조기에 종료할 수 있을지 결정하기 위해, 처음 3 일간은 하루에도 수차례 평가를 수행한다. 평가의 회수는 일반증상의 발현 정도에 따라 적절히 결정한다.
- (2) 실험동물이 통증 및 극심한 고통(예, 발로 긁는 동작 또는 눈을 비비는 동작을 반복, 과도한 눈 깜박임, 과도한 눈물 흘림 등)을 나타내는지 확인하기 위해 시험기간동안 매일 관찰한다. 통상적으로 최소 하루 2 회, 최소 6 시간 간격으로 수행하며 필요 시 그 이상 실시한다.
- (3) 매 관찰 시 마다 검사결과를 구분하여 점수를 부여하고 기록하며, 눈에 나타난 기타 부식[예, 파누스, 착색, 전안방(前眼房)변화 등]도 기록한다.

6. 시험결과 및 보고

6.1 결과의 처리 및 해석

- (1) 눈 자극성에 대한 반응점수는 눈 부식의 성질과 정도, 가역성, 비가역성 등에 따라 이와 결부되어 평가되어야 한다. 점수 자체는 시험물질의 자극성에 대한 절대적인 표준이 아니고, 참고치임으로 다른 관찰 결과와 함께 평가되어야 한다. (별표 1)
- (2) 알비노 토끼의 눈은 사람보다 더 민감하기 때문에, 눈 자극성에 대한 동물실험 결과를 사람에게 적용할 경우 그 유효성이 제한적일 수 있다. 자료 해석에 있어서 2 차 감염에 의한 눈 자극성이 발생할 수 있으므로 주의하여야 한다.

6.2 시험 결과의 보고

시험보고서는 다음의 항목을 포함한다.

- (1) 시험기관의 명칭 및 소재지
- (2) 시험책임자 및 담당자 성명
- (3) 실험동물: 종, 계통, 체중, 주령, 및 사용수, 동물의 공급처, 사육 조건, 사료 등
- (4) 시험물질의 화학물질명 (IUPAC 또는 CAS번호), 물리적 특성, 안정성, 균질성, 적정성, 최종농도
- (5) 동물실험 수행에 대한 타당성 설명 자료
- (6) 시험물질투여 및 투여에 따른 독성반응자료
- (7) 각 실험동물의 이상증후를 발견한 시간 및 이상증후
 - (가) 실험기간동안 사망 일자
 - (나) 비정상적 임상소견이 발견된 일자
 - (다) 국소 마취제를 사용한 경우, 명칭, 순도, 형태, 시험물질과의 반응 가능성
 - (라) 전신 진통제 및 국소 마취제의 노출 농도, 투여시간
- (8) 결과 요약표 및 채점법의 간결한 기술
- (9) 안구병변의 임상적 설명
- (10) 결과에 대한 고찰 및 결론

<별표>

각막

- A. 혼탁 : 안구의 농후한 정도(가장 농후한 지점을 관찰함)
- 화농이나 혼탁이 없음 0
 - 혼탁이나 분산 혹은 밀집되어 있음(정상적인 투명성이 약간 둔화된것과는 다름) 1
 - 홍채의 말단이 명확히 관찰됨
 - 반투명한 부분이 쉽게 관찰됨, 홍채의 말단이 약간 불명확함 2
 - 진주색깔을 나타냄, 홍채의 말단이 관찰 안됨, 동공의 크기가 가까스로 관측됨 3
 - 각막이 불투명, 혼탁 때문에 홍채가 관찰 안됨 4
- B. 혼탁된 각막의 범위
- 1/4 이하(그러나 0은 아니다) 1
 - 1/4 이상 1/2 미만 2
 - 1/2 이상 3/4미만 3
 - 3/4 이상 1 까지 4

A×B×5 최대치 50

홍채

- A. 반응치
- 정상 0
 - 현저한 주름의 형성, 충혈, 종창, 각막 주위에 중등도의 충혈 이상과 같은 단독 혹은 혼합, 홍채는 빛에 대해 반응함(둔한 반응은 양성) 1
 - 빛에 대해 반응 없음, 출혈, 대부분 파괴(이상과 같은 증상의 일부 혹은 전부) 2

A×5 최대치 = 10

결막

- A. 발적(안검결막, 안구결막에 한함, 각막, 홍채 제외)
- 혈관은 정상 0
 - 몇몇 혈관은 명확히 충혈 1
 - 넓은 범위가 진홍색 색조(diffuse, crimson color), 각각의 혈관은 쉽게 관찰 안됨 2
 - 넓은 범위의 쇠고기색조의 붉은색(diffuse beefy red color) 3
- B. 결막 부종
- 부풀지 않음 0
 - 정상보다 약간 종창(순막 포함) 1
 - 안검의 부분적 외전을 동반한 현저한 종창 2
 - 눈이 반쯤 감길 정도의 안검의 종창 3
 - 눈이 반이상 잠길 정도의 안검의 종창 4

C. 배출물

- 배출물 없음 0
- 약간의 배출물(정상동물의 내부 눈꼬리에서 관찰되는 작은 양 제외) 1
- 속눈썹과 눈꺼풀을 적시는 배출물 2
- 눈 주위의 상당 부위와 속눈썹과 눈꺼풀을 적시는 배출물 3

점수(A+B+C)×2