



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 299080377-002 号

依頼者 アサヒプリテック株式会社

検体 アクアプロ21Rによる生成水

試験項目 ウサギを用いた累積皮膚刺激性試験

平成 11 年 08 月 19 日 当センターに提出された
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

平成 11 年 10 月 15 日

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0063 東京都渋谷区元代々木町52番1号
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号

ウサギを用いた累積皮膚刺激性試験

依頼者

アサヒプリテック株式会社

検 体

アクアプロ21Rによる生成水

試験実施期間

平成11年8月23日～平成11年10月15日

試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
東京都多摩市永山6丁目11番10号

要 約

アクアプロ21Rによる生成水を検体として、MarzulliとMaibach(1975)の方法に準拠してウサギを用いた累積皮膚刺激性試験を行った。

検体及び原水(水道水)を試験液として、ウサギ7匹の無傷及び有傷皮膚に1日1回7時間、半閉鎖適用した。この操作を週に5回、3週間にわたって実施した(ただし、最後の週は4回)。

その結果、初回適用開始後7時間では、1例の原水適用部位(有傷皮膚)に非常に軽度の紅斑が見られたのみで、このほかの適用部位には刺激反応は認められなかった。このことから、本試験条件下では検体及び原水ともにウサギの皮膚に対する一次刺激性はほとんどないものと考えられた。その後適用を繰り返しても、いずれの試験液も散発的又は断続的に非常に軽度～はっきりした紅斑が観察されるにとどまり、刺激反応の程度に増強は見られず、試験液間に著差はなかった。以上のことから、本試験条件下において検体及び原水ともに、ウサギの皮膚に対する明らかな累積刺激性はないものと考えられた。

1 試験目的

検体について、MarzulliとMaibach(1975)¹⁾の方法に準拠し、ウサギにおける累積皮膚刺激性を調べる。

2 試験条件の設定

検体は医療施設などにおいて、施設、医療機器及び手指の消毒などに使用される。本試験ではヒトの実労働時間を考慮し、7時間適用とした。また、作業者が着用する手袋の内側に検体が入って手指が曝露されることや、ガーゼなどにしみ込ませて皮膚に適用する可能性を考え、これに近い条件である半閉鎖適用を選択した。また、検体と刺激性を比較する目的で、原水(水道水)を対照として使用した。

3 検 体

アクアプロ21Rによる生成水

備考：検体は、依頼者により設置されたアクアプロ21Rを用いて試験実施場所において調製した(設置日：平成11年8月20日)。

4 試験液の調製及び有効塩素濃度の測定

検体及び原水は毎日適用前に採取し、検体についてはよう素滴定法により、有効塩素濃度を測定した。

5 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、7匹を使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ用固型飼料[CR-3、日本クレア株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

6 試験方法

試験前に各試験動物の体幹背部被毛を剪毛した。体重測定後、試験動物1匹につき、直径約1.6 cmの円形の面積で4箇所を設定し、そのうち2箇所には18ゲージの注射針を用いて、真皮までは達しないように角化層に井げた状のすり傷を付け(有傷皮膚)、他の2箇所を無処置(無傷皮膚)とした。

インジェクションパッド[パッドの直径: 約1.6 cm, パッドの厚さ: 約0.3 cm, ニチバン株式会社]に0.5 mLの検体を含浸させ、無傷及び有傷皮膚の各1箇所ずつに貼付した。対照の原水についても同様に貼付した。また、パッドが皮膚と接触するように、更にナイロン製のネットで保持した。

適用時間は7時間とし、パッドが乾燥しないよう、適用開始後約4時間に各試験液0.3 mLを注射器を用いて追加注入した。適用時間終了後、適用部位を精製水で清拭した。これを3週間にわたって計14回実施した。すなわち、はじめの2週間は月から金曜日までの5日間、第3週は月から木曜日までの4日間適用を行った。なお、すり傷は各回の適用直前に付けた。また、ウサギが適用部位を舐めないよう、適用中は首かせ式固定器で固定した。適用開始後7時間(パッド除去直後)及び24時間並びに第2及び3週の月曜日の適用前に観察を行い、表-1に示したDraize法²⁾の基準に従って「紅斑及び痂皮の形成」並びに「浮腫の形成」の2項目について刺激反応の採点を実施した。初回適用開始後7時間の採点値を合計し、更に7匹の平均値を算出して一次刺激性インデックス(P. I. I.)とした。また、各試験動物について初回適用開始後7時間から最終適用開始後24時間までの採点値を合計して合計評点とし、更に7匹の平均を算出して平均合計評点を求めた。

なお、最終適用開始後24時間で刺激反応が認められた場合は、これが消失するまで当該部位について観察を続けた(回復期間)。

7 試験結果

1) 有効塩素濃度

結果を表-2に示した。

2) 皮膚刺激反応(表-3~7)

① 検体適用部位

無傷皮膚では、初回適用開始後7時間にいずれの適用部位にも刺激反応は見られなかった(P.I.I.=0)。その後1例(試験動物No.2)で2週目以降、他の1例(No.7)で3週目に散発的に非常に軽度~はっきりした紅斑(点数1~2)が見られたが、刺激反応の増強は認められなかった。残る5例では、試験期間を通して刺激反応は見られなかった。平均合計評点は0.9であった。

有傷皮膚では、初回適用開始後7時間にいずれの適用部位にも刺激反応は見られなかった(P.I.I.=0)。その後3例(No.1, 2及び7)で2週目以降、散発的又は断続して適用部位全体あるいはすり傷に局限して非常に軽度~はっきりした紅斑が認められ、また、1例(No.3)では最終適用開始後7時間にすり傷に局限して非常に軽度な紅斑が見られたが、刺激反応の増強は認められなかった。残る3例では、試験期間を通して刺激反応は見られなかった。平均合計評点は2.9であった。

② 原水適用部位

無傷皮膚では、初回適用開始後7時間にいずれの適用部位にも刺激反応は見られなかった(P.I.I.=0)。その後2例(No.2及び7)で2週目以降、他の2例(No.1及び4)では3週目から散発的又は断続して非常に軽度~はっきりした紅斑が見られたが、刺激反応の増強は認められなかった。残る3例では試験期間を通して刺激反応は見られなかった。平均合計評点は1.7であった。

有傷皮膚では、初回適用開始後7時間で1例(No.2)に非常に軽度な紅斑が見られた(P.I.I.=0.1)。その後1週目では、すべての試験動物で刺激反応は見られなかったが、2週目以降5例(No.1, 2, 5~7)で、散発的又は断続して、適用部位全体あるいはすり傷に局限して非常に軽度~はっきりした紅斑が見られたが、刺激反応の増強は認められなかった。残る2例では試験期間を通して刺激反応は見られなかった。平均合計評点は3.7であった。

8 考 察

ウサギ7匹の無傷及び有傷皮膚に、検体及び原水(水道水)を1日1回7時間、半閉鎖適用した。この操作を週に5回、3週間にわたって実施した(ただし、最後の週は4回)。

その結果、初回適用開始後7時間では、1例の原水適用部位(有傷皮膚)に非常に軽度な紅斑が見られたのみで、このほかの適用部位には刺激反応は認められなかった。このことから、本試験条件下では検体及び原水ともにウサギの皮膚に対する一次刺激性はほとんどないものと考えられた。その後適用を繰り返しても、いずれの試験液も散発的又は断続的に非常に軽度～はっきりした紅斑が観察されるにとどまり、刺激反応の程度に増強は見られず、試験液間に著差はなかった。以上のことから、本試験条件下において検体及び原水ともに、ウサギの皮膚に対する明らかな累積刺激性はないものと考えられた。

なお、無傷皮膚と有傷皮膚を比較すると、いずれの試験液においても有傷皮膚の方が刺激反応の出現率が高いことから、角質層が除去された皮膚に対して刺激を生じやすい傾向にあるものと考えられた。

9 参考文献

- 1) F.N.Marzulli and H.I.Maibach: Fd Cosmet. Toxicol., 13, 533-540(1975).
- 2) "Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics" (1959)
The Association of Food and Drug Officials of The United States.

表-1 皮膚反応の評価

紅斑及び痂皮の形成

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑からわずかな痂皮の形成(深部損傷まで)	4*
	[最高点4]

* 出血、潰瘍及び壊死は深部損傷として点数4に分類した。

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫(かろうじて識別できる)	1
軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫(約1 mmの膨隆)	3
高度浮腫(1 mm以上の膨隆と曝露範囲を超えた広がり)	4
	[最高点4]

表-2 検体の有効塩素濃度

適用回数 (回目)	有効塩素濃度 (mg/L)
1	37
2	37
3	29
4	36
5	32
6	27
7	24
8	35
9	32
10	43
11	46
12	32
13	35
14	29

表-3 試験動物の体重(試験開始時)

試験動物No.	体重 (kg)
1	3.12
2	2.90
3	3.55
4	3.49
5	3.23
6	3.20
7	3.20

表-4 検体適用部位(無傷皮膚)の採点結果*1

適用回数 (回目)	観察時間 (時間)*2	試験動物						
		1	2	3	4	5	6	7
1	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
6	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
7	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
8	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
9	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
11	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
12	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
13	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
14	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
合計評点*3		0	2	0	0	0	0	4
P. I. I. *4		0						
平均±標準偏差*5		0.9±1.6						

*1 数値は「紅斑・痂皮/浮腫」の順に示した。

*2 各回の適用開始後の観察時間を示した。

*3 初回適用開始後7時間から最終適用開始後24時間の採点値合計を示した。

*4 皮膚一次刺激性インデックス

*5 7匹の平均合計評点と標準偏差を示した。

表-5 検体適用部位(有傷皮膚)の採点結果*1

適用回数 (回目)	観察時間 (時間)*2	試験動物						
		1	2	3	4	5	6	7
1	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
6	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
7	7	1#/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
8	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
9	7	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
11	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
12	7	1#/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
13	7	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
14	7	0/0	0/0	1#/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
合計評点*3		4	7	1	0	0	0	8
P. I. I.*4		0						
平均±標準偏差*5		2.9±3.5						

*1 数値は「紅斑・痂皮/浮腫」の順に示した。

*2 各回の適用開始後の観察時間を示した。

*3 初回適用開始後7時間から最終適用開始後24時間の採点値合計を示した。

*4 皮膚一次刺激性インデックス

*5 7匹の平均合計評点と標準偏差を示した。

#: すり傷に局限して見られたことを示した。

表-6 原水適用部位(無傷皮膚)の採点結果*1

適用回数 (回目)	観察時間 (時間)*2	試験動物						
		1	2	3	4	5	6	7
1	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
6	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
7	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
8	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
9	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
11	7	1/0	1/0	0/0	1/0	0/0	0/0	2/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
12	7	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
13	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
14	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
合計評点*3		1	4	0	2	0	0	5
P. I. I. *4		0						
平均±標準偏差*5		1.7±2.1						

*1 数値は「紅斑・痂皮/浮腫」の順に示した。

*2 各回の適用開始後の観察時間を示した。

*3 初回適用開始後7時間から最終適用開始後24時間の採点値合計を示した。

*4 皮膚一次刺激性インデックス

*5 7匹の平均合計評点と標準偏差を示した。

表-7 原水適用部位(有傷皮膚)の採点結果*1

適用回数 (回目)	観察時間 (時間)*2	試験動物						
		1	2	3	4	5	6	7
1	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
6	7	1#/0	1/0	0/0	0/0	1/0	0/0	1/0
	24	1#/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
7	7	1#/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	1#/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
8	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
9	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	1/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
11	7	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
	24	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
12	7	0/0	1/0	0/0	0/0	1/0	0/0	2/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
13	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
14	7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
合計評点*3		4	11	0	0	2	1	8
P. I. I. *4		0.1						
平均±標準偏差*5		3.7±4.3						

*1 数値は「紅斑・痂皮/浮腫」の順に示した。

*2 各回の適用開始後の観察時間を示した。

*3 初回適用開始後7時間から最終適用開始後24時間の採点値合計を示した。

*4 皮膚一次刺激性インデックス

*5 7匹の平均合計評点と標準偏差を示した。

#：すり傷に限局して見られたことを示した。

以 上