OECD/OCDE

2002/04/24

# 試験ガイドライン No.405

急性眼刺激性／腐食性

**ご利用に関する注意事項**

本文書および本文書に掲載している翻訳は OECD による公式文書**ではありません**。本文書における翻訳と原文の間に用語ないし表現等の齟齬がある場合、**原文のみが有効とみなされます**。内容について疑義が生じた場合、もしくは研究に公的な認証を必要とする場合は、原文に準拠してください。

本翻訳を使用したことに起因する如何なる損害について、当所は一切責任を負いません。

This document and translation are NOT official work by OECD. In the event of any discrepancy between the original work and the translation, **only the text of the original work should be considered valid**. Refer to the original document when there is any doubt about the translation, or legal or official verification is needed for your study. NIHS takes no responsibility even if you get any damage by using this translation.

Original work:

OECD (2002), Test No. 405: Acute Eye Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264070646-en.

**©OECD(2002)**

You are free to use this material subject to the terms and conditions available at

http://www.oecd.org/termsandconditions/

経済協力開発機構 （OECD）の化学物質の 試験に関するガイドライン Section 4 Health effects
邦訳: 国立医薬品食品衛生研究所(NIHS) 安全性予測評価部

2002 年 4 月 24 日採択

# 経済協力開発機構（OECD）の化学物質の試験に関するガイドライン

## 急性眼刺激性／腐食性

### はじめに

1. 経済協力開発機構（OECD）の化学物質の試験に関するガイドラインは、利用可能で最高の科学を反映するように定期的に点検される。本ガイドラインの点検においては、実験動物での不必要な試験を回避するために、またそれによって動物福祉の問題に対処するために、被験物質に関するすべての既存情報の評価による可能な改善について、特別の注意が払われた。ガイドライン 405（1981 年採択および 1987 年第一回改訂）のこの更新版は、物質の急性眼刺激性／腐食性について記載された *in vivo* 試験を行う前に、既存の関連データに関して証拠の重み分析を実施するという勧告を含む(1)。利用可能なデータが不十分である場合は、データは連続的試験の適用によって整備することが勧告される(2)(3)。試験戦略は有効性を評価され容認された *in vitro* 試験の実施を含み、本ガイドラインの補遺として提供される。加えて、必要に応じて、眼腐食性を予測するための *in vivo* 皮膚刺激／腐食試験の使用が本ガイドラインで勧告される。

2. 急性眼刺激性および腐食性の定義を、本ガイドラインの補遺に示す。

### ガイドラインの目的

3. 健全な科学および動物福祉の両方の利益のために、証拠の重み分析において物質の潜在的眼腐食性／刺激性に関するすべての利用可能なデータが評価されるまで、*in vivo* 試験は考慮されるべきでない。そのようなデータは、ヒトまたは実験動物における既存の研究からの証拠、構造的に関連する一つ以上の物質またはそのような物質の混合物の腐食性／刺激性の証拠、物質の強い酸性またはアルカリ性を示すデータ(4)(5)、および皮膚刺激性／腐食性について有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験からの結果(6)(7)を含む。これらの試験は証拠の重み分析の前に、またはその結果として実施してもよい。

4. 一部の物質については、そのような分析は物質の潜在的眼腐食性／刺激性の *in vivo* 試験の必要性を示すであろう。そのようなすべての場合において、*in vivo* 眼試験の使用を考慮する前に、物質の *in vivo* 皮膚作用の試験を試験ガイドライン 404(8)に従ってまず実施し、評価するのが望ましい。証拠の重み分析および連続的試験戦略は、別の試験から既に十分な証拠が存在する物質の眼腐食性／刺激性についての試験の必要性を減少させるであろう。潜在的眼腐食性または刺激性の決定が、皮膚腐食性および刺激性の *in vivo* 試験の実施後でさえ連続的試験戦略を用いて実施できない場合は、*in vivo* 眼腐食性／刺激性試験を実施してもよい。

5. 望ましい連続的試験戦略は、腐食性／刺激性に関する有効性を評価された *in vitro* または *ex vivo* 試験の実施を含め、本ガイドラインの補遺として含められる。当該戦略は OECD ワークショップ(9)にて開発され、その参加者により全会一致で勧告され、化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）(10)において推奨試験戦略として採用されている。そこでは *in vivo* 試験を行う前に、この試験戦略に従うよう勧告されている。新規物質については、本試験戦略は物質の腐食性／刺激性について科学的に健全なデータを生み出すために推奨される段階的試験手法である。皮膚および眼腐食性／刺激性についてデータが不

十分である既存物質については、欠けているデータギャップを埋めるために当該戦略を使用すべきである。異なる試験戦略または手順の使用、ならびに段階的試験手法を用いないという決定には根拠を示すべきである。

***in vivo* 試験の概要**

6. 試験すべき物質を単回用量で実験動物の片眼に適用する。未処理眼が対照となる。眼刺激性／腐食性の程度を、規定の間隔で結膜、角膜、および虹彩の病変を採点することにより評価する。眼における他の作用および全身性有害作用もまた、作用の完全な評価を提供するために記載する。試験期間は、作用の可逆性または不可逆性を評価するのに十分なものとすべきである。

7. 試験のいずれかの段階で重度の障害または苦痛の継続的徴候を示す動物は、人道的に屠殺し、物質は相応に評価する。瀕死または重度の苦痛を受けている動物を屠殺する決定を行うための判定基準は、別途ガイドライン文書の主題である(11)。

***in vivo* 試験の準備**

**種の選択**

8. アルビノウサギが望ましい実験動物であり、健康な若齢成熟ウサギを使用する。別の系統または種を使用するためには、理由を提示する。

**動物の準備**

9. 試験開始前 24 時間以内に、試験のために仮選抜された各実験動物の両眼を検査する。眼刺激、眼障害、または既存の角膜傷害を示す動物は使用しない。

**飼育および給餌条件**

10. 動物は個別に飼育する。動物飼育室の温度はウサギでは 20°C±3°C とする。相対湿度は目標値を 50%～60%とし、30%以上、70%を超えないこと（飼育室清掃時を除く）が望ましい。照明は人工照明で 12 時間明期、12 時間暗期とする。飼料は、通常の実験動物用飼料を用いてよい。飲水は自由に摂取させる。

**試験手順**

**被験物質の適用**

11. 下瞼を静かに眼球から離した後、各動物の片眼の結膜嚢に被験物質を付ける。被験物質の損失を防ぐため、次いで約 1 秒間、瞼を静かに閉じる。未処理のままの他眼が対照となる。

洗浄

12. 被験動物の眼は、固体（段落 16 参照）および即時の腐食性または刺激性作用の場合以外は、被験物質の滴下後少なくとも 24 時間は洗浄しない。24 時間で適切と考えられる場合は、洗浄してよい。

13. 科学的に正当化されない限り、洗浄の影響を調査するためのサテライト群の使用は推奨されない。サテライト群が必要な場合は、2 例のウサギを使用する。洗浄の条件、たとえば洗浄時間、洗浄液の組成および温度、使用時間、量および速度などは注意深く記録する。

用量

(1) 液体の試験

14. 液体の試験には、容量 0.1 mL を使用する。物質を眼へ直接滴下するために、ポンプスプレーは使用しない。液体スプレーは、内容物 0.1 mL をとり、眼に滴下する。

(2) 固体の試験

15. 固体、ペーストおよび粒子状物質を試験する場合、使用量は容量 0.1 mL か、重量 100 mg 以下である。被験材料は磨砕して微粉塵とする。固体材料の容量は、たとえば測定容器を叩くことにより静かに圧縮後に測定する。固体被験物質が処理後 1 時間の最初の観察時点で生理的機構によって眼から除去されていない場合、眼を生理食塩水または蒸留水で洗浄してよい。

(3) エアロゾルの試験

16. すべてのポンプスプレーおよびエアロゾルは、内容物を採取し眼に適用することが推奨される。気化するため採取できない加圧エアロゾル容器入りの物質だけは例外である。そのような場合は眼を開き、眼の直前 10 cm の距離から約 1 秒間の単純な噴射で被験物質を眼に適用する。この距離は、スプレーの圧およびその含量に応じて変化してもよい。スプレーの圧で眼を損傷しないように注意する。ある場合には、スプレーの力から眼への「機械的」損傷の潜在性を評価する必要が生じる。

17. エアロゾルからの容量は、試験を下記の通りシミュレートすることによって推定できる。物質を秤量用紙に対し、紙の直前に置いたウサギの眼のサイズの穴を通してスプレーする。紙の重量増加を用いて、眼にスプレーされる量を概算する。揮発性物質については、被験物質の除去前後に容器を秤量することによって用量を推定してもよい。

初回試験（動物 1 例を用いる *in vivo* 眼刺激性／腐食性試験）

18. 連続的試験戦略に記載される通り（ガイドライン補遺）、*in vivo* 試験は、まず動物 1 例を用いて実施することが強く推奨される。

19. 記載の手順を用いて、この試験結果が、物質が眼に対して腐食性または強い刺激性物質であることを示す場合には、眼刺激性についてさらに試験は実施しない。

局所麻酔剤

20. 局所麻酔剤は個別に使用してもよい。物質が痛みを生じる潜在性を有すると証拠の重み分析が示す場合または疼痛性反応が生ずると最初の試験で示された場合、被験物質の滴下前に局所麻酔剤を使用してもよい。局所麻酔剤の種類、濃度および用量は、その使用から被験物質に対する反応の差が結果として生じないことを確実にするよう、注意深く選択する。対照眼も同様に麻酔する。

確認試験（追加動物を用いる *in vivo* 眼刺激性試験）

21. 初回試験で腐食作用が観察されない場合は、最大 2 例の追加動物で刺激反応の有無を確認する。初回試験で重度の刺激作用が観察され、確認試験での強い（不可逆的な）作用の可能性を示す場合は、2 例の追加動物を同時に暴露するよりも一度に 1 例で確認試験を連続的な方法で実施することができる。第 2 の個体が腐食性または重度の刺激性作用を示す場合は、試験を継続しない。軽度の、または中等度の刺激反応を確認するために追加動物の必要が生じる場合がある。

観察期間

22. 観察期間の長さは、観察された作用の大きさおよび可逆性を完全に評価するのに十分なものとすべきである。しかし、動物が重度の苦痛または障害の継続的徴候を示す場合は、その時点で実験を終了する(9)。作用の可逆性を決定するためには、被験物質の投与後に動物を通常 21 日間観察する。可逆性が 21 日以前に見られた場合は、実験をその時点で終了する。

臨床観察および眼反応の類別

23. 眼に被験物質適用後、1、24、48、72 時間で採点する。動物は確定情報が一旦得られたら、必要以上に長く試験に留めない。継続的な重度の痛みまたは苦痛を示す動物は人道的に直ちに屠殺し、物質は相応に評価する。適用後に下記の眼病変を示す動物は人道的に屠殺する：角膜穿孔またはぶどう腫を含む重度の角膜潰瘍、前眼房出血、48 時間持続するグレード 4 の角膜混濁、72 時間持続する光反射消失（虹彩応答グレード 2）、結膜の潰瘍、結膜または瞬膜の壊死、または皮膚剥落。これは、そのような病変が一般的に不可逆性であるためである。

24. 眼病変を生じない動物は、適用後 3 日以前に終了しない。軽度から中等度の病変を有する動物は病変が消失するまで、または試験終了時点の 21 日まで観察する。病変の状態およびその可逆性または不可逆性を決定するために、観察は 7、14、および 21 日に実施する。

25. 眼反応（結膜、角膜、および虹彩）のグレードを各試験で記録する（表 I）。それ以外の眼の病変（たとえばパンヌス[訳注：新生血管の角膜表層への浸潤]または染色）や全身性有害作用もまた報告する。

26. 反応の検査は、双眼ルーペ、手動スリットランプ、生体顕微鏡または他の適切な器具の使用によって円滑化することができる。24 時間目の観察を記録後、フルオレセインを用いて眼をさらに検査してもよい。

27. 眼反応のグレードは必然的に主観的となる。眼反応の類別における調和を促進し、試験施設および関係者が観察を実施・解釈するのを助けるために、使用する採点システムについて観察を行う人員を適切に訓練する必要がある。

## データおよび報告

### 結果の評価

28. 眼刺激スコアは病変の性質および重症度、ならびにその可逆性または可逆性の欠如に関して評価する。被験物質の別の作用もまた評価されるため、個別のスコアは物質の刺激性についての絶対的な基準を表さない。その代わり個別スコアは参照値と見なし、完全な記載および全観察の評価によって支持される場合にのみ意味がある。

### 試験報告書

29. 試験報告書には、以下の情報を含まなければならない。

*in vivo* 試験の妥当性 : 連続的試験戦略からの結果を含む、既存の試験データの証拠の重み分析
- 先行試験から利用可能な関連データの記載
- 試験戦略の各段階で得られたデータ
- 手順の詳細、被験物質／参照物質を用いて得られた結果を含む、実施した *in vivo* 試験の記載
- 得られた結果を含む、実施した *in vivo* 皮膚刺激性／腐食性の記載
- *in vivo* 試験を実施するための証拠の重み分析

被験物質
- 特定データ（たとえば CAS 番号、起源、純度、既知不純物、ロット番号）
- 物理的性質および物理化学的特性（たとえば pH、揮発性、溶解性、安定性、水との反応性）
- 混合物の場合は、組成および成分の相対割合
- 局所麻酔剤を使用する場合は、特定、純度、種類、用量、および被験物質との潜在的相互作用

溶媒
- 特定、濃度（必要に応じて）、使用容量
- 選択の妥当性

供試動物
- 使用した動物種／系統、アルビノウサギ以外の動物を使用する妥当性
- 試験開始時の各個体の年齢
- 試験群および対照群の性別ごとの動物数（必要に応じて）

- 試験開始時および終了時の個体ごとの体重
- 供給元、飼育条件、飼料など

結果
- 各測定時点で刺激性を採点するのに用いた方法の記載（たとえば、手動スリットランプ、生体顕微鏡、フルオレセイン）
- 試験終了までの、各測定時点における各個体についての刺激性／腐食性応答データの表

- 観察された刺激または腐食の程度および性質の記載
- 観察された何らかの他の眼の病変の記載（たとえば、血管新生、パンヌス形成、癒着、染色）
- もしあれば、眼以外の局所および全身有害作用、および病理組織学的知見の記載

結果の考察

## 結果の解釈

30. 実験動物での眼刺激試験の結果のヒトへの外挿が有効な場合は、限られている。多くの場合、アルビノウサギは眼刺激物質または眼腐食性物質に対してヒトよりも感受性が高い。

31. 二次感染の結果として生じる刺激を除外するために、結果の解釈には注意する。

## 参考文献

(1) Barratt, M.D., Castell, J.V., Chamberlain, M., Combes, R.D., Dearden, J.C., Fentem, J.H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T.J.B., Livingston, D.J., Provan, W.M., Rutten, F.A.J.J.L., Verhaar, H.J.M., Zbinden, P. (1995). The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410 - 429.

(2) de Silva, O., Cottin, M., Dami, N., Roguet, R., Catroux, P., Toufic, A., Sicard, C., Dossou, K.G., Gerner, I., Schlede, E., Spielmann, H., Gupta, K.C., Hill, R.N. (1997). Evaluation of Eye Irritation Potential: Statistical Analysis and Tier Testing Strategies. Food Chem. Toxicol 35, 159 - 164.

(3) Worth A.P. and Fentem J.H. (1999). A general approach for evaluating stepwise testing strategies ATLA 27, 161-177.

(4) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(5) Neun, D.J. (1993). Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

(6) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(7) EU (2000). Official Journal of The European Communities L136/91 of 8 June 2000, Method B.40 Skin Corrosion.

(8) OECD (2000). Test Guideline 404. Acute Dermal Irritation/Corrosion.

(9) OECD (1996). OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22 - 24 January 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(10) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(11) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm).

**表：眼病変の類別**

**角膜**

混濁：濃さの程度（最も濃い部分から読み取る）*
潰瘍または混濁なし……0
散在性またはびまん性の混濁部分（正常な光沢の軽度な曇りを除く）、虹彩細部は明瞭……1
容易に識別可能な半透明部分、虹彩細部はやや不明瞭……2
真珠様光沢部位、虹彩細部は不明、瞳孔の大きさがかろうじて識別可……3
角膜混濁、混濁により虹彩の識別不可……4

最大値：4

*角膜混濁の範囲を記録する

**虹彩**

正常……0
明瞭に深化した皺、鬱血、腫張、中等度の角膜周辺充血；または充血；虹彩は光に反応（緩慢な反応は作用と考えられる）……1
出血、重度損傷、または対光反応消失……2

最大値：2

**結膜**

発赤（眼瞼および眼球結膜について、角膜および虹彩は除く）
正常……0
一部血管の充血（充血）……1
びまん性の濃赤色；個々の血管が容易に識別できない……2
びまん性の肉赤色……3

最大値：3

**結膜浮腫**

膨張（瞼または瞬膜について）
正常……0
正常を超える多少の膨張……1
明瞭な膨張、瞼の一部外転……2
膨張、瞼の約半分が閉じる……3
膨張、瞼が半分を超えて閉じる……4

最大値：4

補遺

定義

1. 眼刺激とは、眼の前表面への被験物質の適用後の投与21日以内に完全に可逆的な、眼の変化の生成である。

2. 眼腐食とは、眼の前表面への被験物質の適用後の投与21日以内に完全に可逆的でない、眼の組織損傷または重篤な視覚障害の生成である。

# 試験ガイドライン405への補遺

# 眼刺激性および腐食性のための連続的試験戦略

## 全般的考察

1. 健全な科学および動物福祉の両方の利益のために動物の不必要な使用を避けること、および動物に重度の反応を生じる可能性が高い試験を最小化することが重要である。*in vivo*試験を考慮する前に、物質の潜在的眼腐食性／刺激性に関するすべての情報を評価すべきである。実験動物で試験を実施する必要がなく、眼刺激または腐食潜在性に関して被験物質を分類するために十分な証拠が既に存在する可能性がある。したがって、証拠の重み分析および連続的試験戦略を用いて特に物質が重度の反応を生じる可能性が高い場合、*in vivo*試験の必要性を最小化する。

2. 物質の眼刺激性および腐食性に関する既存の情報を評価する場合、そのような潜在性を特徴づけるのを助け、*in vivo* 眼試験以外の追加試験を実施すべきかどうかを決定するため証拠の重み分析を使用することが推奨される。さらに試験が必要である場合は、関係する実験データを得るために連続的試験戦略を用いることが推奨される。試験歴のない物質については、物質の眼腐食／刺激潜在性の評価に必要なデータを得るために連続的試験戦略を利用すべきである。この補遺に記載される試験戦略は、OECD ワークショップ(1)にて開発された。それは 1998 年 11 月に第 28 回化学品委員会および化学品作業部会統合会議によって承認された通り、ヒトの健康および環境作用に関する化学品の分類および表示に関する世界調和システムで後に確認され拡充された(2)。

3. この試験戦略は試験ガイドライン 405 の一体化された一部ではないが、これは眼刺激／腐食特性の決定のための推奨される手法を示す。この手法は、*in vivo* 試験の眼刺激性／腐食性のための最良の手順および倫理的基準を示す。ガイドラインは *in vivo* 試験の実施のための手引きを提供し、そのような試験を開始する前に対処すべき因子を要約する。連続的試験戦略は、被験物質の眼刺激性／腐食性に関する既存データの評価のための証拠の重み手法、および追加試験が必要であるか、または試験が実施されていない物質についての関連データの生成のための段階的手法を提供する。当該戦略は、特定の状況下ではまず有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験、次いでガイドライン 404 皮膚刺激性／腐食性試験の実施を含む(3)(4)。

## 段階的試験戦略の記載

4. 連続的試験戦略（図）の一部として試験を行う前に、*in vivo*眼試験の必要性を決定するためにすべての利用可能な情報を評価する。重要な情報が単一パラメーターの評価から得られる可能性はあるが（たとえば、極端なpH）、既存の情報全体を評価すべきである。証拠の重み分析の決定を行うに当たっては、問題の物質またはその構造類縁物質の作用に関するすべての関連データを評価し、その決定の妥当性を示すべきである。主要な重点は物質についての既存のヒトおよび動物データに置かれ、次いで*in vitro*または*ex vivo*試験の結果に置かれる。腐食性物質の*in vivo*試験は、可能な限り回避する。試験戦略で考慮される因子は、下記を含む。

5. 既存のヒトおよび動物データの評価（段階1）。たとえば、臨床試験または職業に関する試験および症例報告といった既存のヒトデータまたは眼試験に由来する動物試験データをまず考察するが、なぜならそれらは眼に対する作用に直接関係する情報を提供するゆえである。眼への腐食性または重度の刺激性を有する既知の物質も皮膚に対して腐食性または重度の刺激性作用を示す物質も、動物に点眼してはならない。そのような物質は眼に対しても同様に腐食性または刺激性であると考えるべきである。以前に実施された眼試験における非腐食性および非刺激性の十分な証拠を有する物質もまた、*in vivo*眼試験で試験してはならない。

6. 構造活性相関（SAR）の分析（段階2）。利用可能であれば、構造的に関連する化学物質の試験結果を考慮すべきである。構造的に関連する物質またはそのような物質の混合物について、その眼腐食／刺激潜在性を示すために十分なヒトまたは動物データを利用可能である場合、被験物質が同様の反応を生じると推定することができる。それらの場合には、被験物質を試験しなくてもよい。構造的に関連する物質またはそのような物質の混合物の試験からの陰性データは、段階的試験手法下にある物質の非腐食性／非刺激性の十分な証拠を構成しないかもしれない。腐食および刺激潜在性を特定するために、皮膚および眼作用の両方について有効性を評価され容認されたSAR手法を使用する。

7. 物理化学的特性および化学反応性（段階3）。2.0以下または11.5以上の極端なpHを示す物質は、強い局所作用を有する可能性がある。極端なpHが物質は眼に対して腐食性または刺激性と特定する基礎であるならば、その酸／アルカリ予備量（あるいは、緩衝能）もまた考慮する必要があろう(5)(6)。緩衝能から、物質が眼に対して腐食性ではない可能性が示唆されるならば、これを確認するために、望ましくは有効性を評価され容認された*in vitro*または*ex vivo*試験による追加試験を行う（段落9を参照）。

8. 他の既存情報の考察（段階4）。皮膚経路からの全身毒性についてのすべての利用可能な情報を、この段階で評価する。被験物質の急性皮膚毒性もまた考察する。被験物質が皮膚経路によって高毒性であることが示されている場合は、眼で試験する必要はないかもしれない。急性皮膚毒性と眼刺激性／腐食性との間に必ずしも関係はないが、ある物質が皮膚経路において高毒性である場合、それは点眼された場合にもまた高毒性を示すと仮定できる。そのようなデータは、段階2と3の間にもまた考察されるかもしれない。

9. *in vitro*または*ex vivo*試験からの結果（段階5および6）。特に眼または皮膚腐食性／刺激性の評価のために有効性を評価され容認された*in vitro*または*ex vivo*試験(7)(8)において実証された腐食性または重度の刺激性を有する物質は、動物で試験する必要はない。そのような物質は、*in vivo*でも同様の重度の作用を生じると推定できる。有効性を評価され容認された*in vitro*／*ex vivo*試験が利用できない場合は、段階5および6を飛ばして段階7へ直接進む。

10. 物質の*in vivo*皮膚刺激性または腐食性の評価（段階7）。上記した試験のデータに基づいて、物質の潜在的眼刺激性／腐食性の証拠の重み分析を実施して結論を出すのに証拠が不十分な場合は、ガイドライン404(4)および付属の補遺(9)を用いて*in vivo*皮膚刺激性／腐食性をまず評価する。物質が腐食または重度の皮膚刺激を生ずることが示された場合、他の情報が別の結論を支持しない限り、物質は腐食性眼刺激物質であると考える。したがって、*in vivo*眼試験を実施する必要はない。物質が皮膚に対して腐食性でも重度に刺激性でもない場合には、*in vivo*眼試験を実施する。

11. ウサギでの*in vivo*試験（段階8および9）。*in vivo*眼試験は、動物1例を用いる初回試験から始める。この試験結果で当該物質が眼に対して重度に刺激性または腐食性であると示す場合は、さらに試験は実施しない。その試験で腐食作用または重度の刺激作用を示さない場合は、2例の追加動物を用いて確認試験を実施する。確認試験の結果に応じて、さらに試験の必要が生じる場合がある（試験ガイドライン405(10)を参照）。

## 参考文献


(1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22 - 24 January 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(3) Worth, A.P. and Fentem J.H. (1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. ATLA 27, 161-177.

(4) OECD (2002) Guideline 404. Acute Dermal Irritation/Corrosion.

(5) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(6) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(7) Neun, D.J. (1993) Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

(8) EU (2002) Official Journal of The European Communities L136/91 of 8 June 2000, Method B.40 Skin Corrosion

(9) OECD (2001) Supplement to Test Guideline 404: A Sequential Testing Strategy for Skin Irritation and Corrosion.

(10) OECD (2001) Guideline 405. Acute Eye Irritation/Corrosion

図

眼刺激性／腐食性のための試験および評価戦略

| | 活性 | 知見 | 結論 |
|---|---|---|---|
| 1 | 眼に対する作用を示す既存のヒトまたは動物データ | 眼に対する重度の損傷 | 最終的な評価項目：眼に対して腐食性と考えられる。試験は不要である。 |
| | | 眼刺激性 | 最終的な評価項目：眼に対して刺激性物質と考えられる。試験は不要である。 |
| | | 眼に対して非腐食性／非刺激性 | 最終的な評価項目：眼に対して腐食性でも刺激性でもないと考えられる。試験は不要である。 |
| | 皮膚に対する腐食性作用を示す既存のヒトまたは動物データ | 皮膚腐食性 | 眼に対する腐食性と推定する。試験は不要である。 |
| | 皮膚に対する重度の刺激性作用を示す既存のヒトまたは動物データ | 重度の皮膚刺激性 | 眼に対する刺激性と推定する。試験は不要である。 |
| | ↓ | | |
| | 利用可能な情報がないか、または利用可能な情報が決定的でない | | |
| | ↓ | | |
| 2 | 眼腐食性／刺激性についてSAR評価を実施 | 眼への重度の損傷を予測 | 眼に対する腐食性と推定する。試験は不要である。 |
| | | 眼への刺激を予測 | 眼に対する刺激性と推定する。試験は不要である。 |
| | 皮膚腐食性についてSAR評価を実施 | 皮膚腐食性を予測 | 眼に対する腐食性と推定する。試験は不要である。 |
| | ↓ | | |
| | 予測が行えないか、予測が決定的でないか、または陰性である | | |
| | ↓ | | |
| 3 | pHを測定（該当する場合は、緩衝能を考慮する） | pH2.0以下または11.5以上（該当する場合は、高い緩衝能を有する） | 眼に対する腐食性と推定する。試験は不要である。 |
| | ↓ | | |
| | 2＜pH＜11.5、pH≦2.0または≧11.5で、該当する場合は緩衝能が小さいか、またはない | | |
| | ↓ | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 4 | 皮膚経路からの全身毒性データを評価 | 眼で試験される濃度で高度に毒性 | 物質は毒性が高すぎて試験できない。試験は不要である。 |
| | ↓<br>そのような情報が利用可能でないか、または物質が高度に毒性でない<br>↓ | | |
| 5 | 有効性を評価され容認された眼腐食性についての*in vitro*または*ex vivo*試験を実施 | 腐食性反応 | 眼に対する腐食性と推定する。その後の試験は不要である。 |
| | ↓<br>物質が刺激性でないか、または国際的に有効性を評価された眼腐食性についての*in vitro*／*ex vivo*試験法がまだ利用可能でない<br>↓ | | |
| 6 | 有効性を評価され容認された眼刺激性についての*in vitro*または*ex vivo*試験を実施 | 刺激性反応 | 眼に対する*in vivo*刺激性と推定する。その後の試験は不要である。 |
| | ↓<br>物質が刺激性物質でないか、または国際的に有効性を評価された眼刺激性についての*in vitro*または*ex vivo*試験法がまだ利用可能でない<br>↓ | | |
| 7 | *in vivo*皮膚刺激／腐食潜在性を実験的に評価（OECDガイドライン404を参照） | 腐食性または重度の刺激性反応 | 眼に対する腐食性と推定する。その後の試験は不要である。 |
| | ↓<br>物質が、皮膚に対して腐食性でも重度に刺激性でもない<br>↓ | | |
| 8 | 1例を用いて、ウサギにおける初回*in vivo*眼試験を実施 | 眼への重度の損傷 | 眼に対して腐食性と考えられる。その後の試験は不要である。 |
| | ↓<br>重度の損傷がないか、または反応がない<br>↓ | | |
| 9 | 1または2例の追加動物を用いて、確認試験を実施 | 腐食性または刺激性 | 眼に対して腐食性または刺激性と考えられる。その後の試験は不要である。 |
| | | 腐食性または刺激性でない | 眼に対して腐食性でも刺激性でもないと考えられる。その後の試験は不要である。 |