

その他の試験（参考）

抗原性試験

薬事法認可（医療用具許可）取得した企業が厚生省医薬局医療機器開発課に強酸性電解水の安全性試験として提出したもの以下に報告する。

アマノ、ホシザキ電機、三浦電子の3社で試験している。

i. アマノ（資料53）

供試水	pH 2.28～2.50、有効塩素濃度 50 ppm の強酸性電解水
試験機関	（社）北里研究所
使用動物	モルモット Hartley 雌 26 匹
試験方法	0.05 ml を肩甲骨上皮内に注射。1 週間後、同部位に 0.1ml 含浸した 2.0×4.0 cm 紙を 48 時間貼付誘発。最終感作の 2 週間後、腹側部に 0.1 ml 含浸した 2.0×2.0 cm 紙を 24 時間貼付
評価方法	誘発操作 48 及び 72 時間後、紅斑、浮腫などの皮膚反応を観察
結果	感作及び誘発対照群の全例で感作性は認められなかった。

ii. ホシザキ電機（資料54）

供試水	pH 2.42、有効塩素濃度 51 ppm の強酸性電解水
試験機関	（社）北里研究所
使用動物	モルモット Hartley 系 雄 17 匹
試験方法	0.25 ml/動物を第 1、3、5 日に腹腔内接種、最終感作の 24 日後、0.5 ml/動物を陰茎背静脈接種。
評価方法	誘発後、アナフィラキシー症状の有無を観察
結果	0.25 ml/動物の感作、0.5 ml/動物 惹起の投与量では抗原性は示さない。

iii. 三浦電子（資料55）

供試水	pH 2.48～2.49、有効塩素濃度 30 ppm の強酸性電解水
試験機関	（社）北里研究所
使用動物	モルモット Hartley 系 雌 26 匹
試験方法	肩甲骨上を刈毛した後、1 日後に、試験液を皮内注射した。1 週間後、試験液を 0.1 ml を濾紙に塗布し、肩甲骨上に 48 時間閉塞貼布した。2 週間後、試験液を 0.1 ml を濾紙に塗布し、腹側部に 24 時間閉塞貼布し、誘発を試みた。
評価方法	誘発操作 48 及び 72 時間後、紅斑、浮腫などの皮膚反応を観察
結果	皮内注射、誘発では感作性が認められなかった。

さらに、食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針でいうところの安全性に関連し、薬事法認可（医療用具許可）取得した企業が厚生省医薬局医療機器開発課に強酸性電解水の安全性試験として提出したもの以下に報告する。

参考に、同薬事法認可（医療用具認可）装置の一覧表（資料56）を添付する。

## 細胞毒性試験

旭ガラスエンジニアリング、アマノ、ホシザキ電機、三浦電子の4社で試験している。

### i. 旭ガラスエンジニアリング (資料57)

供試水	pH 2.60、有効塩素濃度 43.5 ppm の強酸性電解水
試験機関	(財) 食品薬品安全センター
使用細胞	チャインズ <sup>®</sup> ハムスター肺由来 V79 細胞
用量	30%、25%、20%、10%
試験方法	コロニー形成阻害法
観察期間	6日
結果	培地に対して濃度 27%の強酸性電解水を加えると、コロニー形成が陰性対照の 50%に抑制されることが示唆された。

### ii. アマノ (資料58)

供試水	pH 2.60、有効塩素濃度 50 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用細胞	チャインズ <sup>®</sup> ハムスター肺由来 JCRB0603 (V79) 細胞
用量	30%、25%、20%、15%、10%
試験方法	コロニー形成阻害法
観察期間	6日
結果	低濃度では細胞の増殖を抑制しなかったが、約 19%濃度で細胞の増殖を 50%抑制した。

### iii. ホシザキ電機 (資料59)

供試水	pH 2.45、有効塩素濃度 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用細胞	マウス L929 細胞
用量	10~90%
試験方法	コロニー形成阻害法
観察期間	8日
結果	強酸性電解水の 90%を含む水で作成した培地で培養しても、対照群蒸留水と差は認められなかった。

### iv. 三浦電子 (資料60)

供試水	pH 2.45、有効塩素濃度 45 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用細胞	WI-38 ヒト胎児肺線維芽細胞及び Chang ヒト肝細胞マウス L929 細胞、陽性対照としてマイトマイシン C、陰性対照として蒸留水
用量	50、25、12.5、6.25、3.125%
試験方法	細胞の増殖度合及び形態変化を観察
観察期間	3日
結果	増殖度合に関しては、繊維芽細胞に対して僅かに増殖の促進が見られ

たが、陰性対照との間に有意差は見られなかった。形態変化に関しては、陰性対照との間に差は認められなかった。

ヒト由来細胞に3日間作用させても、用いた濃度の範囲では細胞毒性は認められなかった。

### 皮膚累積刺激試験

旭ガラスエンジニアリング、アマノ、ホシザキ電機、三浦電子の4社で試験している。

#### i. 旭ガラスエンジニアリング (資料61)

供試水	pH 2.56~2.68、有効塩素濃度 40.02~47.22 ppm の強酸性電解水
試験機関	(財) 食品薬品安全センター
使用動物	ウサギ (8羽) 12~13週齢 日本白色種雄
方法	背部を剃毛し擦過皮膚及び非擦過皮膚にする。
用量	2.5×2.5 cm 濾紙に 0.5 ml 含浸
作用時間	1回3分間、1日15回 (約30分間間隔) 5日間連続貼付
評価方法	紅斑、痂皮、浮腫等の有無を観察
結果	一般状態の変化なし。死亡例なし。体重の減少なし。適用後の適用局所に異常所見は認められなかった。器官・組織に変化なし。適用皮膚のうち、擦過傷皮膚では、直下には表皮が認められ、擦過傷は修復していた。無刺激物と判定した。

#### ii. アマノ (資料62)

供試水	pH 2.57、有効塩素濃度 40 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用動物	ウサギ (ニュージーランドホホワイト 雄) 6羽
方法	背部を剃毛し擦過皮膚及び非擦過皮膚にする。
用量	2.0×2.0 cm 濾紙に 0.2 ml 含浸
作用時間	4時間/日 5日間連続貼付
評価方法	紅斑、痂皮、浮腫等の有無を観察
結果	全例において紅斑や浮腫が認められなかったことから、皮膚刺激はないものと考えられる。

#### iii. ホシザキ電機 (資料63)

供試水	pH 2.45、有効塩素濃度 50 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用動物	ウサギ
方法	背部を剃毛し擦過皮膚又は非擦過皮膚にする。
用量	2.0×2.0 cm ガーゼに 1.5 ml
作用時間	4時間/日 5日間連続塗布
評価方法	表皮の紅斑、炎症等の変化の有無を観察する。

結果 全例において紅斑や浮腫が認められなかったことから、皮膚刺激はないものと考えられる。

iv. 三浦電子 (資料64)

供試水 pH 2.43~2.48、有効塩素濃度 45~50 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (社) 北里研究所  
使用動物 日本在来種白色ウサギ (雌 2.5 kg) を、一群 6 羽  
方法 背部を剃毛し擦過皮膚又は非擦過皮膚にする。  
用量 3.0×3.0 cm ガーゼに 1.5 ml  
作用時間 4 時間/日 5 日間連続塗布  
評価方法 表皮の紅斑、炎症等の変化の有無を観察する。  
結果 擦過、非擦過に拘らず全く紅斑や浮腫などの変化は認められなかった。皮膚刺激はみられない。

溶血性試験

旭ガラスエンジニアリング、アマノ、ホシザキ電機、三浦電子の 4 社で試験している。

i. 旭ガラスエンジニアリング (資料65)

供試水 pH 2.61、有効塩素濃度 46 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (財) 食品薬品安全センター  
使用動物 日本白色種ウサギの脱繊維血  
評価方法 強酸性電解水と脱繊維血を混和し、37±3℃で 5,30,60 分間インキュベーションし、波長 576nm にて吸光度を測定し、溶血率を算出した。  
結果 5,30,60分間、いずれも溶血率40%以上であり、明らかな溶血性を示したが、溶血の程度は水道水あるいは日局注射水と比較して著しい差は認められなかった。溶血性を示すが、水道水と比較して著しい差はないと考えられる。

ii. アマノ (資料66)

供試水 pH 2.60、有効塩素濃度 50 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (社) 北里研究所

a) FDI 法

使用材料 ウサギ新鮮血液 (日本在来種 雄)  
試験方法 0.85%NaCl-強酸性電解水 5 ml にウサギ血液 0.2 ml を添加し比色計で溶血度を測定する。蒸留水にウサギ血液を添加したものを陽性対照、生理食塩水にウサギ血液を添加したものを陰性対照とした。測定は原法の 60 分及び 5 分で行った。

評価方法

$$\text{溶血率} = \frac{(\text{O. D. 試料}) - (\text{O. D. 陰性対照})}{(\text{O. D. 陽性対照}) - (\text{O. D. 陰性対照})} \times 100$$

結果 高い溶血率を示す  
(5分以内に38.1%、60分では51.0%)

b) 赤血球抵抗試験 (Parpart 法)

使用材料 ウサギ新鮮血液

用量 11段階 NaClを強酸性電解水(対照は蒸留水)で下記の濃度に溶解  
0.85、0.75、0.65、0.60、0.55、0.50、0.45、0.40、0.30、0.20、  
0.10%

試験方法 上記にウサギ新鮮血液0.1 mlを添加する。

評価方法 比色計を用い溶血度を測定

結果 強酸性電解水は、蒸留水よりも高い溶血能を示した。

中間赤血球抵抗(MCF)は蒸留水使用食塩水では0.48%、強酸性電解水の場合は生理的に最も安定となる0.85%食塩を添加しても88%の溶血があり、中間赤血球抵抗値(50%溶血)測定は不可能であった。

iii. ホシザキ電機(資料67)

供試水 pH 2.47、有効塩素濃度 48 ppm の強酸性電解水

試験機関 (社)北里研究所

a) FDI 法

使用材料 ウサギ新鮮血液

試験方法 0.85%NaCl-強酸性電解水にウサギ血液を添加し、比色計で溶血度を測定する。蒸留水にウサギ血液を添加したものを陽性対照、生理食塩水にウサギ血液を添加したものを陰性対照とした。予備試験で血液添加5分以内に0.85%NaCl-強酸性電解水が溶血を起こしたため、原法の60分および5分で行う。

評価方法

$$\text{溶血率} = \frac{(\text{O. D. 試料}) - (\text{O. D. 陰性対照})}{(\text{O. D. 陽性対照}) - (\text{O. D. 陰性対照})} \times 100$$

結果 高い溶血率を示す(5分45%、60分77%)

b) 赤血球抵抗試験 浸透圧抵抗試験 (Parpart 法)

使用材料 ウサギ血液

用量 13段階 NaClを強酸性電解水(対照は蒸留水)で下記の濃度に溶解  
0.85、0.80、0.75、0.70、0.65、0.60、0.55、0.50、0.45、0.40、0.35、0.30、0.20%

試験方法 上記系列のNaCl液に一定量のウサギ新鮮血液を添加する。

評価方法 蒸留水を加えた試験管を100%溶血、0.85%食塩水の上清を0%溶血として比色計で測定する。

結果 強酸性電解水は、蒸留水よりも溶血能が高い。

中間赤血球抵抗は蒸留水使用食塩水で0.48%、強酸性電解水使用食塩水では等張液でも65%であり、50%溶血は測定不可能である。

iv. 三浦電子 (資料68)

供試水	pH 2.48、有効塩素濃度 40 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用動物	日本在来種雄 ウサギ (SPF) 赤血球
評価方法	溶血時間及び溶血度
結果	溶血時間は蒸留水と差がなく、1分以内にほぼ溶血した。溶血能は蒸留水と比較して高い結果が得られた。

目粘膜一次刺激試験

旭ガラスエンジニアリング、アマノ、ホシザキ電機、三浦電子の 4 社で試験している。

i. 旭ガラスエンジニアリング (資料69)

供試水	pH 2.58、有効塩素濃度 46.86 ppm の強酸性電解水
試験機関	(財) 食品薬品安全センター
使用動物	ウサギ (3羽) ・ 12週齢 ・ 日本白色種雄
方法	ウサギ右眼の下眼瞼結膜嚢内に 0.1 ml 強酸性電解水を点眼し眼瞼を約 30 秒間閉鎖した。1、24、48、72 時間後に観察
評価方法	Draize の眼病変の評価基準
結果	全例とも、角膜、虹彩及び結膜の異常所見は認められなかった。刺激点は0であった。無刺激物と判定した。

ii. アマノ(資料70)

供試水	pH 2.57、有効塩素濃度 40 ppm の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用動物	ウサギ (ニュージーランドホホワイト 雄) 9羽
方法	強酸性電解水を点眼 2 秒後に洗眼群 強酸性電解水を点眼 4 秒後に洗眼群 強酸性電解水点眼後に非洗眼群の 3 群を 7 日目まで肉眼的観察
評価方法	Draize 法による評価
結果	いずれの群も何ら変化は認められなかった。

iii. ホシザキ電機(資料71)

供試水	pH 2.45、有効塩素濃度 50 mg/kg の強酸性電解水
試験機関	(社) 北里研究所
使用動物	ウサギ 3 群 (3羽/群)
方法	強酸性電解水点眼 2 秒後に洗眼群 強酸性電解水点眼 4 秒後に洗眼群 強酸性電解水点眼後に非洗眼群を 7 日目まで肉眼的観察
評価方法	Draize 法による評価
結果	いずれの群にも変化は見られない。

iv. 三浦電子(資料72)

供試水 pH 2.53、残留塩素 40 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (社) 北里研究所  
使用動物 日本在来種白色ウサギ 3 群 (3 羽/群)  
方法 強酸性電解水点眼 2 秒後に洗眼群  
強酸性電解水点眼 4 秒後に洗眼群  
強酸性電解水点眼後に非洗眼群を 7 日目まで肉眼的観察  
評価方法 Draize 法による評価  
結果 いずれの群にも変化は見られない。

口腔粘膜刺激試験

ホシザキ電機、三浦電子の 2 社で試験している。

i. ホシザキ電機(資料73)

供試水 pH 2.47、有効塩素濃度 48 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (社) 北里研究所  
使用動物 ハムスター ゴールデン系 雌 10 匹  
用量 1 ml/分の流量で 10 分、20 分および 30 分間流入  
方法 ハムスターの頬袋に強酸性電解水を連続流入  
評価方法 病理組織学的評価等  
結果 20 分間以内の流入では障害は現れない。

30 分間流入では病理組織学的に観察した場合に、口腔粘膜の変性は認められたが軽度であった。

ii. 三浦電子(資料74)

供試水 pH 2.45、有効塩素濃度 45 ppm の強酸性電解水  
試験機関 (社) 北里研究所  
使用動物 7 週齢の雌シリアンハムスター  
用量 1 ml/分の流量で 30 分間流入  
方法 一群の動物数を試験群 10 匹、陽性対照群 10 匹、陰性対照群 5 匹として、ハムスターの頬袋に強酸性電解水を連続流入  
評価方法 病理組織学的評価等  
結果 軽度の棘細胞肥厚に随伴する表皮及び角化層の肥厚を認め、粘膜下織に軽度の浮腫、細胞浸潤が見られた。

しかし、刺激性は極めて軽微と考えられた。

食道粘膜刺激試験

ホシザキ電機、三浦電子の 2 社で試験している。

i. ホシザキ電機 (資料75)

供試水 pH 2.47、有効塩素濃度 48 ppm の強酸性電解水

試験機関 (社) 北里研究所

使用動物 6 週齢の雄ウイスター系ラット (SPF) 20 匹

用量・方法 綿棒に試験液を含ませ、ラットの食道に挿入し 20 秒間放置した。この操作を 30 分間隔で 3 回行った後、屠殺、食道を摘出して観察。

評価方法 病理組織学的評価等

結果 変性は認められるが軽度 (粘膜上皮と角質層と上皮細胞層に肥厚を、粘膜下組織に細胞浸潤を認める)。

## ii. 三浦電子 (資料76)

供試水 pH 2.56、有効塩素濃度 45 ppm の強酸性電解水

試験機関 (社) 北里研究所

使用動物 6 週齢の雄ウイスター系ラット (SPF) 25 匹

用量・方法 綿棒に試験液を含ませ、ラットの食道に挿入し 20 秒間放置した。この操作を 30 分間隔で 3 回行った後、屠殺、食道を摘出して観察。

評価方法 病理組織学的評価等

結果 肉眼的及び病理組織学的にも変化は認められなかった。

## 胃粘膜刺激試験

ホシザキ電機、三浦電子の 2 社で試験している。

### i. ホシザキ電機 (資料77)

供試水 pH 2.47、有効塩素濃度 48 ppm の強酸性電解水

試験機関 (社) 北里研究所

使用動物 ラット ウイスター系 雄 20 匹

用量 30ml/kg

方法 胃に経口投与、30 分間隔で 3 回

評価方法 病理組織学的評価等

結果 粘膜上皮には変性を認めるが、粘膜下組織では反応は軽微又は無変化である。

### ii. 三浦電子 (資料 78)

供試水 pH 2.53、有効塩素濃度 40 ppm の強酸性電解水

試験機関 (社) 北里研究所

使用動物 5 週齢の雄ウイスター系ラット (SPF)

用量 30 ml/kg

方法 胃に経口投与、30 分間隔で 3 回

評価方法 病理組織学的評価

結果 軽度の上皮剥離、粘膜の萎縮、固有層あるいは粘膜下組織に細胞浸潤と浮腫を認めた。従って胃粘膜への刺激作用は認められるが、陽性対照の 0.2 N 塩酸と比較してその作用は軽微なものであった。



## 反復浸漬経皮毒性試験

ホシザキ電機で試験している。

### i. ホシザキ電機 (資料79)

供試水 pH 2.42~2.51、有効塩素濃度45~52 ppmの強酸性電解水

試験機関 (社) 北里研究所

使用動物 ラット SD系 雄雌 7週齢 1群 10匹

投与経路 経皮

投与用量 30秒浸漬/回又は60秒浸漬/回 (対照は水浸漬30秒) いずれも30回/日、週5日で12週連続

観察期間 90日

観察項目 体重、摂取量、血液検査、血液生化学的検査。病理組織学的検査、尿検査等

結果 浸漬による皮膚への影響はみられなかった。雌にみられた血液検査及び血液生化学的検査における容量相関は試験中の全身浸漬による体温調節によるものと考えられる。