

原 著

1人用精製ツベルクリン“PPD ディスポーザブル (1人用)”について

成 沢 省 三・沢 田 哲 治・川 崎 二 郎
太 田 淳・飯 塚 智 利・前 野 一
渋 谷 清・藤 多 良 亮・折 居 昌 志

日本BCG研究所

受付 昭和49年12月11日

PPD FOR SINGLE DOSE, “PPD DISPOSABLE (ONE DOSE)”

Syozo NARUSAWA*, Tetuji SAWADA, Jiro KAWASAKI,
Sunao OTA, Noritoshi IIZUKA, Hajime MAENO,
Kiyoshi SHIBUYA, Ryosuke FUJITA and Masashi ORII

(Received for publication December 11, 1974)

Introduced herewith is a new type of PPD which we have developed lately as a single dose preparation. Although the need for this type of PPD has been talked about frequently for years, the product has neither been materialized nor marketed due to difficulties in its production such as the persistent absorption of PPD protein inside its container and so forth, and the difficulty becomes more serious when the product is intended for smaller number of doses to require a miniature sized container.

We have the pleasure to announce that our laboratory has recently succeeded in the production of PPD for a single dose preparation which can be used conveniently at out-patients department of hospitals, clinics and even at patient's home, having equal potency and preservability with that of PPD being sold at present on market.

The use of a disposable needle containing PPD is the characteristic point of this epoch making new product (patent pending). The PPD for a single dose is freeze-dried inside the base of a needle. When it is being used, the needle is connected directly to the syringe, and suck up solution to be ready for use.

Contained in the base of each needle is dried PPD equivalent to 0.175 mcg Standard PPD so that 0.05 mcg/0.1 ml solution is obtained when dissolved with 0.35 ml solvent. We thought that 0.35 ml of solvent is necessary to inject 0.1 ml PPD, as certain amounts of solution remain in the needle and it is also necessary to give some allowance for the convenience of graduation.

When dissolving PPD, the solvent is to be drawn up to the graduation of 0.2 ml of the tuberculin syringe, and the whole amount of solution is 0.35 ml including the volume inside the needle.

The potency assay using guinea pigs has proved that the trial products extracted from seven different lots at random had equal potency to the PPD currently sold on market. The seven lots

* From the Japan BCG Laboratory, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 180-04 Japan.

which had been preserved for the period of 2.5 to 3 years at 5°, 25° and 37°C, were tested on animals, and it was revealed that there was no significant reduction in its potency.

We have also performed a comparison test on school children using the conventional and this new disposable PPD, and the results also proved no significant difference between these two PPD products.

Further trial has been extended to check the tightness of hermatical seal of the aluminum foil under various severe conditions. It was revealed that the hermatical seal by aluminum foil adopted for this product is very satisfactory and promises the complete protection of PPD under normal storage conditions for the moisture.

I. 緒 言

現在市販されている精製ツベルクリン(PPD)製品は、集団検診用の20人用、あるいは100人用だけで小人数用、特に1人用ができないかと要望されていた。しかしPPD製品はツベルクリン蛋白の容器への吸着の問題があり^{7)~9)}、溶解液量に比例して容器の内面積を小さくしなければならぬ。またPPD製品は吸湿しやすい等⁶⁾⁷⁾、大量製造には種々の困難を伴うので、力価の一定した製品を作ることは難しく、今まで必要性はいわれてきたが、1人用製品は市販されていなかった。

1人用PPDを実用化するための実験を重ねてきたが、現在の市販製品と同様の力価と保存性をもち、1人単位で、診断用として、病院外来、診療所あるいは往診先等において手軽に使用でき、しかも使用残液を保存使用することによる力価の低下⁸⁾⁹⁾の心配のない、ディスポーザブル形態の製品を試作したので、その試験成績を報告する。

II. PPD ディスポーザブル (1人用) の特徴および製法

精製ツベルクリン(PPD)蛋白の容器への吸着を考える場合、できるだけ内面積の小さい容器を採用しなければならない。最小の容器としてディスポーザブル注射針を使用したのが、この製品の特徴である。

小分用の容器はディスポーザブル注射針基準¹⁰⁾に適合する樹脂製(ポリプロピレン)の注射針である。この注射針に精製ツベルクリンを小分して、樹脂製の保護ケースと共に凍結乾燥する。小分は0.1mlの精製ツベルクリン液を分注するが、±1.0%以内の精度で非常に正確に分注小分されている。凍結乾燥後、保護ケースの封栓を行つた後、凍結乾燥機より取り出し、乾燥空気を封入して、アルミ箔で密封する。密封用アルミ箔はJIS第5種の規格¹¹⁾のもので厚さ0.025mmのものを使用しており、これは透湿度0の規格のものである。

このようにして作られた製品の注射針を直接ツベルク

リン用注射筒に接合して溶解使用するようにしたものである。

III. 1容器中の PPD 含量

PPD ディスポーザブル(1人用)は、0.35mlに溶解したとき、一般診断用PPD濃度と等濃度の0.05mcg/0.1mlとなるように、1容器中に精製ツベルクリン原末が、標準PPD 0.175mcg相当量、含有されている。

1容器を0.35mlで溶解するようにしたのは、0.1ml注射する場合、針基内に残る液量と目盛合せのための余裕をみると0.35mlが必要なためである。

注射針針基内および注射筒先端の目盛外の部分(Fig. 2)の液量は、市販4社のツベルクリン用注射筒をそれぞれ50~150本実測したところ、全平均値0.1512ml、95%信頼限界±0.00165であった。

この液量は0.15mlとした場合、誤差の変動の幅は小さく、注射筒の目盛では測定し得ない程度のものである。したがって、この注射針を注射筒に接合して0.2ml

Fig. 1. Container

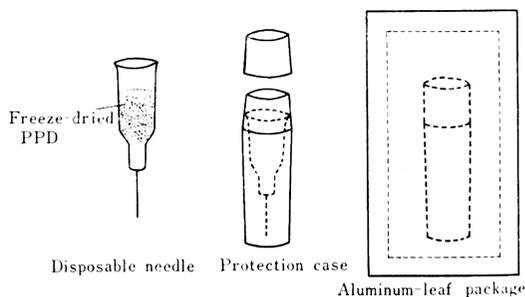
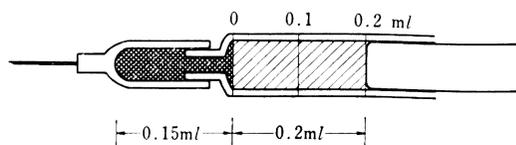


Fig. 2. Volume of Reconstituting Solution



の目盛まで溶解液を吸い上げると、溶解液総量は注射針針基内も含めて0.35 ml となり、このとき PPD 濃度は0.05 mcg/0.1 ml 溶液となる。

IV. 使用法

(1) 注射針と注射筒の接合

PPD ディスポーザブル(1人用)のアルミ箔を破り、注射針保護ケースを取り出し、キャップを取る。中の注射針と滅菌済のツベルクリン用注射筒を接合してから保護ケースより引き出す。

(2) 溶解液の吸上げ

アンプル内の溶解液を注射筒の0.2 ml 目盛まで静かに吸い上げる。

このとき溶解液総量(注射筒内液量+針基内液量)は0.35 ml となり、所定の標準濃度0.05 mcg/0.1 ml となる。

(3) 混合

注射筒内の気泡を上下に移動させて混合を行う。

この操作は次のように行う。

- 1) 注射針内の溶液を全部注射筒内に移す。
- 2) 注射筒内に少量の気泡を残して、余分の空気を押し出す。
- 3) 注射筒の上下転倒操作を3~4回繰り返し、気泡を注射筒内で移動させる。
- 4) 混合が終わったら、針先を上に向けて気泡を押し出す。

Table 1. Potency Tests of Products

Lot No.	Preservation period	5°C		25°C		37°C	
		$ (x_s - x_t) ^*$	U^{2**}	$ (x_s - x_t) $	U^2	$ (x_s - x_t) $	U^2
SSP-1	0	3.0	0.443	—	—	—	—
	6 mths	6.0	0.579	2.5	0.651	2.5	0.698
	1 yr	1.5	0.382	4.5	2.564	7.0	0.516
	1.5 yrs	1.5	0.523	3.5	0.597	1.0	0.911
	2 yrs	7.0	0.835	2.0	0.590	2.5	0.547
	2.5 yrs	3.0	0.596	2.0	0.650	1.5	0.174
	3 yrs	3.0	0.371	3.0	0.375	0.5	0.423
SSP-3	0	5.5	0.587	—	—	—	—
	6 mths	2.5	0.651	5.0	0.693	1.0	0.650
	1 yr	4.0	0.422	0	0.700	6.0	0.504
	2 yrs	1.0	0.407	3.0	0.504	3.0	0.754
	2.5 yrs	2.0	0.816	2.0	0.283	1.5	0.507
	3 yrs	2.5	0.470	2.0	0.218	1.5	0.323
SSP-5	0	4.0	0.420	—	—	—	—
	6 mths	5.0	0.694	5.0	0.607	4.0	0.667
	1 yr	4.5	0.691	4.5	0.887	0.5	0.792
	2 yrs	8.0	0.623	3.0	0.555	2.0	0.355
	3 yrs	1.5	0.507	0	0.652	0.5	0.566
SSP-6	0	1.5	0.231	—	—	—	—
	1 yr	3.5	0.487	3.5	0.823	3.0	0.603
	2.5 yrs	1.5	0.460	2.5	0.520	0	0.727
SSP-7	0	0.5	0.466	—	—	—	—
	1 yr	2.5	1.165	1.5	1.122	2.5	0.654
	2.5 yrs	4.5	0.665	6.5	0.531	2.5	0.262
SSP-8	0	2.5	0.616	—	—	—	—
	2.5 yrs	2.5	0.651	5.0	0.346	5.0	0.607
SSP-10	0	1.5	0.740	—	—	—	—
	2.5 yrs	2.0	0.275	4.5	0.452	1.5	0.528

$n=24$, Pass range of assay diagram —below 10.0

* $|(x_s - x_t)|$: Absolute value of total difference of reaction size due to standard PPD and sample.

** U^2 : Mean square of reaction size due to standard PPD and sample.

(4) 注 射

目盛を合せて 0.1 ml を注射する。

V. 動物による力価試験

(1) 方 法

合計7ロットの製品について、製造直後および 5°C, 25°C, 37°C でそれぞれ2年6カ月~3年間保存後の力価を標準品と比較した。

おのおの感作モルモット6匹を用い、背部の片側4点に標準ツベルクリン、他の片側4点に試験品をそれぞれ 0.1 ml 皮内に注射し、判定は「生物学的製剤基準」に定める「動物による力価試験の方法」²⁾により、対応する標準品と試験品との反応値の差の合計値から、判定表により力価の合否を決定した。

試験品は製品1容器を溶解液 0.35 ml に溶かし PPD 濃度 0.5 mcg 相当量/ml とし、また標準品 0.5 mcg/ml 溶液を標準ツベルクリン液として用いた。

(2) 試験成績 (Table 1)

(3) 試験の結果

製造直後および 5°C, 25°C, 37°C で保存された製品は Table 1 の力価試験成績の通りで、各試験ロットとも合格範囲内の成績で、保存による力価の低下したものは認められなかった。

VI. 人体注射成績

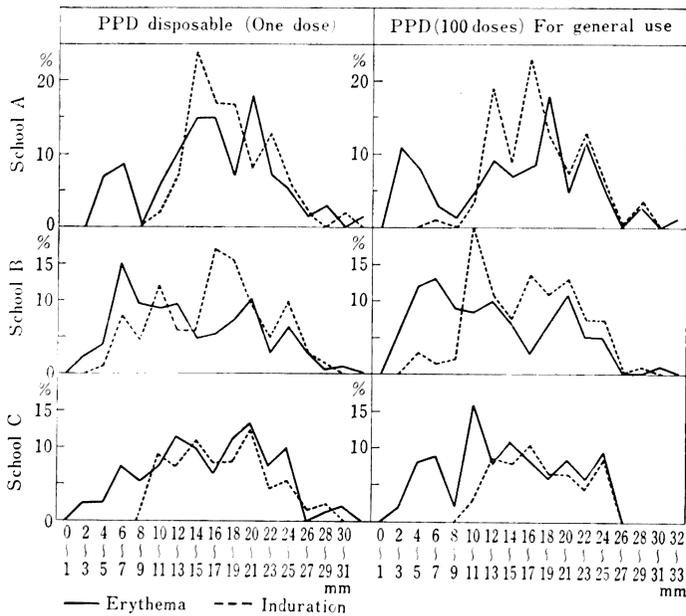
(1) 方 法

ABC 3校の学童をクラスごとに PPD ディスポーザブル (1人用) と対照精製ツベルクリン (100人用) を1人おきに交互に注射した。48時間後に判定を行い、発赤平均径、硬結平均径、陽性率および二重発赤率を比較した。

(2) 試験品の種類

A校 試験品: PPD ディスポーザブル (1人用)
Lot No. SSP-6

Fig. 3. Distribution Curve of Tuberculin Reaction Tested by PPD Disposable and PPD for General Use on Schoolchildren



School	A		B		C	
	One dose	100 dose	One dose	100 dose	one dose	100 dose
Number tested	70	72	204	213	120	119
Mean size of erythema (m/m)	16.1	15.0	12.5	12.3	16.0	14.2
Positive rate (%)	84.3	76.4	59.3	59.2	81.7	77.3
Rate of double erythema (%)	8.6	11.1	10.3	6.6	8.3	8.4
Mean size of induration (m/m)	12.6	12.9	9.4	9.0	12.7	10.5
Rate of induration (%)	67.1	67.1	56.9	57.3	71.7	59.7

BC 校 試験品: Lot No. SSP-7

ABC 校 対照: 一般診断用 (100 人用)

Lot No. P-1071

(3) 試験成績 (Fig. 3)

(4) 試験結果

A 校の SSP-6 および対照の P-1071 の間に陽性率、発赤および硬結の平均径、硬結率等において著しい差は認められない。

BC 校の SSP-7 および対照の P-1071 の間にも陽性率、発赤および硬結の平均径、硬結率等において著しい差は認められない。

VII. アルミ箔容器の密封度試験

(1) 目的

「PPD ディスポーザブル (1 人用)」は密封容器としてアルミ箔を用いているが、このアルミ箔容器の密封度、耐透湿性を調べ、製品の密封容器として長期保存に耐えるかどうかを試験したものである。

(2) 試験方法

凍結乾燥精製ツベルクリン製品は吸湿すると、その容積が痕跡程度にまで収縮してしまうので吸湿の有無が肉眼で簡単に判別できる。この性質を利用して、アルミ箔で密封した製品を、室温 1.5~3 年保存後、温度 40°C 湿度 90%、3 年保存後、室温と 40°C、湿度 90% に 3 カ月ごとに交互に 2.5 年保存後、37°C 1.5~2 年保存後、また水およびアルコールに 10 日間浸漬した後、それぞれアルミ箔包装を開き、乾燥ツベルクリンの吸湿の有無を肉眼で観察して、アルミ箔容器の密封度が完全であったかどうかを調べた。

(3) 試験品の種類

アルミ箔密封作業室の湿度の違いによって、アルミ箔

内に封入される空気の湿度が異なる。通常の製造においては、湿度の高い空気が封入されないように作業室は除湿を行い、低湿度の作業室でアルミ箔密封が行われる。

この試験では、比較のため同一ロットの製品から、それぞれ通常の製法によるもの A と、作業室の除湿を行わず、特に条件の悪い室で製造したもの B との 2 種の試験品を作り、試験を行った。

(4) 試験成績 (Table 2 ~ 5)

(5) 試験結果

保存試験、浸漬試験の結果、いずれも製品に吸湿したものは認められなかった。したがってアルミ箔容器の外からの湿気に対する密封度は完全であることが証明された。

VIII. 考 察

「PPD ディスポーザブル (1 人用)」の成分は現在市販されている集団検診用の 2 ml 用、10 ml 用と全く同じのものであり、異なるのは、直接の容器としてディスポーザブル注射針を用いていることと、密封にアルミ箔を用いていることである。

したがって問題となるのは、直接の容器が吸着や保存等によつて、力価に影響しないかどうか、あるいはアルミ箔包装による密封が完全なもので長期の保存に耐えるかどうかということである。

試験の結果は力価試験、保存試験共に異常は全く認められず、従来の製品と同様の製品として使用できるものであった。

すなわち動物による力価試験は、5°C、25°C、37°C で 2 年 6 カ月 ~ 3 年間保存したもので、力価の低下したものは認められなかった。人体に注射した試験成績も、1 人用と 100 人用を別の群に注射して比較した成績である

Table 2. Airtight Test of Aluminum leaf Packing during Preservation (1)

Lot No.	Temperature, relative humidity of packing room	Rate of hygroscopic shrink									Number tested for each time
		3 mths	6 mths	1 yr	1 yr 3 mths	1 yr 6 mths	1 yr 9 mths	2 yrs	2 yrs 6 mths	3 yrs	
SSP-3A	20°C, 40%	0%	0%	0%	—	0%	—	0%	0%	0%	50
SSP-5A	20°C, 40%	0	0	0	—	—	—	0	0	—	50
SSP-8A	20°C, 40%	0	0	0	0	—	0	—	0	—	100
SSP-10A	20°C, 40%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
" B	25°C, 70%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
SSP-12A	20°C, 40%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
" B	26°C, 75%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
SSP-13A	20°C, 40%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
" B	25°C, 65%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	50
SSP-14A	20°C, 40%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	100
" B	24°C, 70%	0	0	0	—	0	—	0	—	—	100

Preservation condition: Room temperature

Table 3. Airtight Test of Aluminum leaf Packing during Preservation (2)

Lot No.	Temperature, relative humidity of packing room	Rate of hygroscopic shrink										Number tested for each time
		3 mths	6 mths	9 mths	1 yr	1 yr 3 mths	1 yr 6 mths	1 yr 9 mths	2 yrs	2 yrs 6 mths	3 yrs	
SSP-1A	20°C, 40%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	30
SSP-6A	20°C, 40%	0	0	—	0	0	0	—	0	0	0	50
SSP-7A	20°C, 40%	0	0	—	0	0	0	—	0	0	0	50

Preservation condition: SSP-1A—40°C, 90% thermo-hygrostats
 SSP-6A) —40°C, 90% thermo-hygrostats and room temperature
 SSP-7A)
 3 months by turns

Table 4. Airtight Test of Aluminum leaf Packing during Preservation (3)

Lot No.	Temperature, relative humidity of packing room		Rate of hygroscopic shrink					Number tested each time
			3 mths	6 mths	1 yr	1 yr 6 mths	2 yrs	
SSP-10A	20°C	40%	0%	0%	0%	0%	0%	50
" B	25°C	70%	0	0	0	0	0	50
SSP-12A	20°C	40%	0	0	0	0	0	50
" B	26°C	75%	0	0	0	0	0	50
SSP-13A	20°C	40%	0	0	0	0	0	50
" B	25°C	65%	0	0	0	0	0	50
SSP-14A	20°C	40%	0	0	0	0	0	100
" B	24°C	70%	0	0	0	0	0	100

Preservation condition: 37°C

Table 5. Preservation Test of Products immersed into Water and Alcohol

Lot No.	Rate of hygroscopic shrink		Days immersed	Number tested
	Water	Alcohol		
SSP-10A	0%	0%	10	50
SSP-12A	0	0	10	50
SSP-13A	0	0	10	50
SSP-14A	0	0	10	50

が、両者の間に差は認められなかつた。

アルミ箔容器が製品を吸湿させずに長期間保存に耐えるかどうかを試験した製品の保存試験は、通常の製品の外に、比較のために特に湿度、温度の高い製造条件の悪い部屋でアルミ箔密封したのも作り保存試験を行った。保存は室温、37°Cおよび40°C、90%の高温、高湿度での保存、および40°C、90%と室温に3カ月ごとに交互に保存して、結露と乾燥を繰り返す等の苛酷な条件で試験を行ったが、いずれも吸湿したものは1本も認められなかつた。加えて製品を水、アルコールに10日間浸漬したのものについても吸湿したものの有無を調べたが、吸湿したものは1本もなかつた。このようにアルミ

箔で密封されたこの「PPD ディスポーザブル (1人用)」は密封性は完全であり外からの湿気の浸入を完全に防ぐことができることがわかつた。

IX. 結 論

PPD ディスポーザブル (1人用) は現在市販されているバイアル入りの2ml用、10ml用と異なり、ディスポーザブル注射針を直接の容器として、アルミ箔で密封を行っているが、力価および保存性においてバイアル入りの製品と同様の製品といえる。更にディスポーザブル形態の製品であるので、使用残液を保存して使用することもなく、したがって溶解保存による力価の低下の心配もない製品といえる。また集団を対象とした従来の製品と異なり、1人単位の診断用として、病院、診療所等で手軽に使用できるものである。

文 献

- 1) Magnus, K., Guld, J., Waaler, H. and Magnusson, M.: Bull. Wld Hlth Org., 19: 765, 1958.
- 2) Waaler, H., Guld, J., Magnus, K. and Magnusson, M.: Bull. Wld Hlth Org., 19: 783, 1958.
- 3) Magnusson, M., Guld, J., Magnus, K. and Waaler, H.: Bull. Wld Hlth Org., 19: 799, 1958.

- 4) 細井正春・浅見望: 胸疾, 5 : 1217, 1961.
- 5) Marks, J.: Tubercle, 45 : 62, 1964.
- 6) 田所一郎: 第5回凍結および乾燥研究会記録, p. 96, 1962.
- 7) 浅見望・片岡哲朗: 凍結および乾燥研究会誌, 15 : 108, 1969.
- 8) 細井正春: 結核, 32 : 622, 1957.
- 9) Guld, J., Magnus, K. and Magnusson, M.: Am. Rev. Tuberc., 72 : 126, 1955.
- 10) ディスポーザブル注射針基準, 昭和45年12月28日厚生省告示第413号。
- 11) 日本工業規格, JIS Z 1520 (はり合せアルミニウムハク)。
- 12) 厚生省: 生物学的製剤基準, p. 59, 1971.