

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号）（抄）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

| 改正後   | 改正前  |
|---|--|
| <p>診断液の部</p> <p style="text-align: center;"><b>ツベルクリン</b></p> <p>1 定義<br/>牛型結核菌及び人型結核菌の培養ろ液を濃縮して調製した皮内反応用抗原又は牛型結核菌の培養ろ液を精製して調製した皮内反応用抗原である。</p> <p>2 製法</p> <p><u>2.1 培養ろ液を濃縮して調製したもの（以下「濃縮ツベルクリン」という。）</u></p> <p><u>2.1.1 製造用株</u></p> <p><u>2.1.1.1～2.1.1.3</u>（略）</p> <p><u>2.1.2 製造用材料</u></p> <p><u>2.1.2.1 培地</u><br/>製造用培地には小川培地、ソートン培地（付記1）、ソートンばれいしょ培地（付記2）、<u>変法ソートン培地（付記3）</u>、又は製造に適当と認められた培地を用いる。</p> <p><u>2.1.3 原液</u></p> <p><u>2.1.3.1・2.1.3.2</u>（略）</p> <p><u>2.1.3.3 除菌、濃縮及び加薬</u><br/>殺菌後、ろ過及び遠心により透明な培養ろ液を集め、加熱又は限外ろ過その他適当と認められた方法により、培養前の培地量の18vol%以下となるように濃縮する。これを100℃で15分間加熱し、冷却する。5w/v%フェノール液と濃グリセリンとを加えて培養前の培地量の20%となるように調整する。この場合、フェノールの含有量は、0.5w/v%となるようにしなければならない。<br/>フェノール液の添加前に検体を採り、濃縮ろ液とする。<br/>濃縮ろ液について<u>3.1.1</u>の試験を行う。</p> <p><u>2.1.3.4 熟成及び力価の測定</u><br/>フェノール添加後、8週間以上2～10℃で貯蔵し、熟成させた後、メンブランフィルターでろ過滅菌する。両株由来のろ液を混合し、混合ろ液とする。混合ろ液について、<u>3.1.2</u>の試験を行う。</p> <p><u>2.1.3.5 力価の調整</u><br/>希釈用液（付記4）で動物用標準濃縮ツベルクリン（付記5）に対する相</p> | <p>診断液の部</p> <p style="text-align: center;"><b>ツベルクリン</b></p> <p>1 定義<br/>牛型結核菌及び人型結核菌の培養ろ液を濃縮して調製した皮内反応用抗原である。</p> <p>2 製法<br/>（新設）</p> <p><u>2.1 製造用株</u></p> <p><u>2.1.1～2.1.3</u>（略）</p> <p><u>2.2 製造用材料</u></p> <p><u>2.2.1 培地</u><br/>製造用培地には小川培地、ソートン培地（付記1）、ソートンばれいしょ培地（付記2）<u>及び変法ソートン培地（付記3）</u>、又は製造に適当と認められた培地を用いる。</p> <p><u>2.3 原液</u></p> <p><u>2.3.1・2.3.2</u>（略）</p> <p><u>2.3.3 除菌、濃縮及び加薬</u><br/>殺菌後、ろ過及び遠心により透明な培養ろ液を集め、加熱又は限外ろ過その他適当と認められた方法により、培養前の培地量の18vol%以下となるように濃縮する。これを100℃で15分間加熱し、冷却する。5w/v%フェノール液と濃グリセリンとを加えて培養前の培地量の20%となるように調整する。この場合、フェノールの含有量は、0.5w/v%となるようにしなければならない。<br/><br/>フェノール液の添加前に検体を採り、濃縮ろ液とする。<br/>濃縮ろ液について<u>3.1</u>の試験を行う。</p> <p><u>2.3.4 熟成及び力価の測定</u><br/>フェノール添加後、8週間以上2～10℃で貯蔵し、熟成させた後、メンブランフィルターでろ過滅菌する。両株由来のろ液を混合し、混合ろ液とする。混合ろ液について、<u>3.2</u>の試験を行う。</p> <p><u>2.3.5 力価の調整</u><br/>希釈用液（付記4）で動物用標準ツベルクリンに対する相対力価が0.85～1.18</p> |

対力価が0.85～1.18の範囲となるよう調整し、原液とする。

原液について、3.1.3の試験を行う。

#### 2.1.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

#### 2.1.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.1.4の試験を行う。

### 2.2 培養ろ液を精製して調製したもの（以下「精製ツベルクリン」という。）

#### 2.2.1 製造用株

##### 2.2.1.1 名称

生型結核菌AN5株又はこれと同等と認められた株

##### 2.2.1.2 性状

グリセリンにより発育促進性を示す。

##### 2.2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、Stonebrink卵培地（付記6）又は適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では2代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

原株及び種菌は、凍結乾燥して2～8℃で保存する。

#### 2.2.2 製造用材料

##### 2.2.2.1 培地

製造用培地にはStonebrink卵培地、Watson-Reidばれいしょ培地（付記7）、グリセリン培地（付記8）、Dorset-Henley培地（付記9）、又は製造に適当と認められた培地を用いる。

#### 2.2.3 原液

##### 2.2.3.1 培養菌液

種菌をStonebrink卵培地に移植し、36～38℃で4～5週間培養する。発育した菌苔をWatson-Reidばれいしょ培地に移植し、36～38℃で3～4週間培養する。培地表面に発育した菌膜をグリセリン培地に移植し、培地表面に菌膜を形成するまで2～4週間培養する。形成した菌膜を新しいグリセリン培地に移植して培養することを数代繰り返し、集めた菌液をDorset-Henley培地に移植して36～38℃で8～12週間培養して、培養菌液とする。

##### 2.2.3.2 殺菌

培養菌液を95～98℃で100分間加温殺菌し、不活化菌液とする。不活化菌液について、3.2.1の試験を行う。

##### 2.2.3.3 除菌、濃縮及び精製

不活化菌液をろ過し培養ろ液を集め、トリクロロ酢酸を最終濃度4%となるように加えて十分混和し、一夜静置する。生じた沈殿を洗浄液（付記10）により再懸濁して遠心することを規定のpHになるまで繰り返し、沈殿を溶解用液（付記11）で溶解した後、遠心して上清を捨て、安定剤（付記12）を

の範囲となるよう調整し、原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

#### 2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

#### 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.4の試験を行う。

（新設）

|  |  |
|--|--|
| <p><u>等量加えたものを抗原液とする。</u><br/><u>抗原液について、3.2.2の試験を行う。</u></p>  |  |
| <p><u>2.2.3.4 原液の調製</u><br/><u>複数の抗原液を混合し、原液とする。</u><br/><u>原液について、3.2.3の試験を行う。</u></p>  |  |
| <p><u>2.2.4 最終バルク</u><br/><u>原液に、注射用水、グルコースリン酸希釈緩衝液及びフェノールを加えて均一になるまで攪拌し、調製原液とする。調製原液について、3.2.4の試験を行う。</u><br/><u>調製した原液をろ過し、最終バルクとする。</u></p>   |  |
| <p><u>2.2.5 小分製品</u><br/><u>最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。</u><br/><u>小分製品について、3.2.5の試験を行う。</u></p>   |  |
| <p>3 試験法</p>   | <p>3 試験法</p>   |
| <p><u>3.1 濃縮ツベルクリン</u></p>   | <p>(新設)</p>  |
| <p><u>3.1.1 濃縮ろ液の試験</u></p>  | <p><u>3.1 濃縮ろ液の試験</u></p>  |
| <p><u>3.1.1.1 結核菌否定試験</u></p>  | <p><u>3.1.1 結核菌否定試験</u></p>  |
| <p><u>3.1.1.1.1・3.1.1.1.2 (略)</u></p>  | <p><u>3.1.1.1・3.1.1.2 (略)</u></p>  |
| <p><u>3.1.2 混合ろ液の試験</u></p>  | <p><u>3.2 混合ろ液の試験</u></p>  |
| <p><u>3.1.2.1 無菌試験</u></p>   | <p><u>3.2.1 無菌試験</u></p>   |
| <p>一般試験法の無菌試験法を準用して試験を行うとき、適合しなければならない。</p>  | <p>一般試験法の無菌試験法を準用して試験を行うとき、適合しなければならない。</p>  |
| <p><u>3.1.2.2 相対力価の算出</u></p>  | <p><u>3.2.2 相対力価の算出</u></p>  |
| <p>混合ろ液及び動物用標準濃縮ツベルクリンを希釈用液で100,000国際単位/mLに調整したものをそれぞれ500、1,000及び2,000倍に希釈し、その0.1mLずつを6匹以上の感作モルモット(付記13)の背部6か所の皮内にそれぞれ注射し、24時間後の反応の大きさを計測する。</p> | <p>混合ろ液及び動物用標準ツベルクリン(付記5)を希釈用液で100,000国際単位/mLに調整したものをそれぞれ500、1,000及び2,000倍に希釈し、その0.1mLずつを6匹以上の感作モルモット(付記6)の背部6か所の皮内にそれぞれ注射し、24時間後の反応の大きさを計測する。</p> |
| <p>それぞれの反応値から平行線検定法(付記14)により、混合ろ液の動物用標準濃縮ツベルクリンに対する相対力価を算出する。</p>  | <p>それぞれの反応値から平行線検定法(付記7)により、混合ろ液の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価を算出する。</p>   |
| <p><u>3.1.3 原液の試験</u></p>  | <p><u>3.3 原液の試験</u></p>  |
| <p><u>3.1.3.1 無菌試験</u></p>   | <p><u>3.3.1 無菌試験</u></p>   |
| <p>一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p>   | <p>一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p>   |
| <p><u>3.1.3.2 力価試験</u></p>   | <p><u>3.3.2 力価試験</u></p>   |
| <p>3.1.2.2の方法に準じて、検体の動物用標準濃縮ツベルクリンに対する相対力価を算定するとき、0.85～1.18でなければならない。</p>  | <p>3.2.2の方法に準じて、検体の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価を算定するとき、0.85～1.18でなければならない。</p>  |
| <p><u>3.1.4 小分製品の試験</u></p>  | <p><u>3.4 小分製品の試験</u></p>  |
| <p><u>3.1.4.1～3.1.4.4 (略)</u></p>  | <p><u>3.4.1～3.4.4 (略)</u></p>  |
| <p><u>3.1.4.5 力価試験</u></p>   | <p><u>3.4.5 力価試験</u></p>   |
| <p>3.1.2.2の方法に準じて、試験品の動物用標準濃縮ツベルクリンに対する相</p>   | <p>3.2.2の方法に準じて、試験品の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価</p>  |

対力価を算定するとき、0.80～1.25でなければならない。

3.2 精製ツベルクリン

3.2.1 不活化菌液の試験

3.2.1.1 結核菌否定試験

3.2.1.1.1 試験方法

検体0.2mLずつをLowenstein-Jensen培地（付記15）、ミドルブルック7H10培地（付記16）等の2種類の適当な培地にそれぞれ3枚ずつ接種し、37℃で56日間培養する。

3.2.1.1.2 判定

結核菌の発育を認めてはならない。

3.2.2 抗原液の試験

3.2.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験を行うとき、適合しなければならない。

3.2.2.2 蛋白窒素定量試験

一般試験法の蛋白窒素定量法を準用して試験するとき、総蛋白質量と沈殿蛋白質量の比率は一定の範囲内で行なければならない。ただし、農林水産大臣が認めた場合には、その試験法とする。

3.2.3 原液の試験

3.2.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験を行うとき、適合しなければならない。

3.2.3.2 蛋白窒素定量試験

一般試験法の蛋白窒素定量法を準用して試験するとき、総蛋白質量と沈殿蛋白質量の比率は一定の範囲内で行なければならない。ただし、農林水産大臣が認めた場合には、その試験法とする。

3.2.4 調製原液の試験

3.2.4.1 生菌数試験

一般試験法の生菌数限度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.4.2 蛋白窒素定量試験

一般試験法の蛋白窒素定量法を準用して試験するとき、総蛋白質量と沈殿蛋白質量の比率は一定の範囲内で行なければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.5 小分製品の試験

3.2.5.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する液体でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.2.5.2 無菌試験

を算定するとき、0.80～1.25でなければならない。  
(新設)

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.2.5.3 フェノール定量試験

一般試験法のフェノール定量法を準用して試験するとき、フェノールの含有量は、0.4～0.5w/v%でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

### 3.2.5.4 蛋白窒素定量試験

一般試験法の蛋白窒素定量法を準用して試験するとき、試験品 1 mL中の蛋白質量は1.0～1.4mgでなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

### 3.2.5.5 pH測定試験

一般試験法のpH測定試験法を準用して試験するとき、pHは6.5～7.5でなければならない。

### 3.2.5.6 安全試験

体重250g以上のモルモット 2 匹に、試験品0.5mLを皮下に注射するとき、7日以内に異常を認めてはならない。

### 3.2.5.7 感作試験

試験品を0.1mL中500国際単位となるよう調整したものを、モルモット 3 匹に5日間隔で3回皮内注射し、試験群とする。また、3匹の無接種のモルモットを対照群とする。試験群の3回目の皮内接種から15～21日後に、試験群及び対照群に同じ用量の試験品を皮内接種する。24～28時間後に反応の大きさを計測したとき、2群間で有意差を認めてはならない。

### 3.2.5.8 力価試験

試験品及び動物用標準精製ツベルクリン（付記17）を希釈用液でそれぞれ0.1mL又は0.2mL当たり32、6.4、1.28国際単位となるよう希釈し、その0.1mL又は0.2mLずつを8匹以上の精製ツベルクリン用感作モルモット（付記18）の背部6か所に皮内接種し、24～48時間後の反応の大きさを計測する。

それぞれの反応値を統計的に処理して試験品の推定力価を算定するとき、試験品の推定力価は19,800～45,000国際単位/mLでなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その試験法とする。

## 4・5（略）

付記 1～3（略）

付記 4 希釈用液

1,000mL中

フェノール

リン酸緩衝食塩液（付記19）

5.0 g  
残 量

付記 5 動物用標準濃縮ツベルクリン

## 4・5（略）

付記 1～付記 3（略）

付記 4 希釈用液

1,000mL中

フェノール

リン酸緩衝食塩液（付記 8）

5.0 g  
残 量

付記 5 動物用標準ツベルクリン

動物医薬品検査所から配布される 1 mL中必要量の国際単位を含有するツベルクリン物質を含有する旧ツベルクリン又はこれと同等の力価を有するもの

動物医薬品検査所から配布される 1 mL中必要量の国際単位を含有するツベルクリン物質を含有する旧ツベルクリン又はこれと同等の力価を有するもの

付記 6 Stonebrink卵培地

(新設)

|                         |               |
|-------------------------|---------------|
| <u>1,000mL中</u>         |               |
| 全卵液                     | <u>637 mL</u> |
| ピルビン酸                   | <u>3.18g</u>  |
| リン酸二水素カリウム              | <u>1.59g</u>  |
| L-アスパラギン-水和物            | <u>3.18g</u>  |
| <u>2 w/v%マラカイトグリーン液</u> | <u>15.9mL</u> |
| <u>85vol%グリセリン</u>      | <u>28.7mL</u> |
| 水                       | <u>残 量</u>    |

付記 7 Watson-Reidばれいしょ培地

(新設)

|                    |             |
|--------------------|-------------|
| <u>1,000mL中</u>    |             |
| L-アスパラギン-水和物       | <u>5 g</u>  |
| ブドウ糖               | <u>10 g</u> |
| 硫酸マグネシウム七水和物       | <u>1 g</u>  |
| リン酸二水素カリウム         | <u>2 g</u>  |
| クエン酸水素二アンモニウム      | <u>2 g</u>  |
| 塩化ナトリウム            | <u>2 g</u>  |
| クエン酸鉄 (III) アンモニウム | <u>75mg</u> |
| <u>85vol%グリセリン</u> | <u>50mL</u> |
| 水                  | <u>残 量</u>  |

適当な容器に液体培地を入れ、ばれいしょ片を入れて121°C15分間高圧滅菌する。

付記 8 グリセリン培地

(新設)

|                    |                 |
|--------------------|-----------------|
| <u>1,000mL中</u>    |                 |
| 牛肉エキス              | <u>3 g</u>      |
| 塩化ナトリウム            | <u>5 g</u>      |
| トリプトン              | <u>10 g</u>     |
| リン酸二水素カリウム         | <u>2 g</u>      |
| <u>85vol%グリセリン</u> | <u>56 mL</u>    |
| 硫酸亜鉛七水和物           | <u>0.079 g</u>  |
| 塩化マンガン (II) 四水和物   | <u>0.0008 g</u> |
| 塩化コバルト (II) 六水和物   | <u>0.00138g</u> |
| 水                  | <u>残 量</u>      |

pHを7.0~7.4に調整する。

|      |  |   |   |
|------|--|---|---|
| 付記9  | <u>Dorset-Henley培地</u><br><u>1,000mL中</u><br>L-アスパラギン一水和物<br>リン酸水素二カリウム三水和物<br>クエン酸ナトリウム<br>硫酸マグネシウム七水和物<br>硫酸銅五水和物<br>クエン酸鉄(III)水和物<br>ブドウ糖<br>85vol%グリセリン<br>硫酸亜鉛七水和物<br>塩化マンガン四水和物<br>塩化コバルト(II)六水和物<br>水     | <u>13.79 g</u><br><u>1.926 g</u><br><u>0.731 g</u><br><u>1.48 g</u><br><u>0.0046 g</u><br><u>0.296 g</u><br><u>9.84 g</u><br><u>78.8 mL</u><br><u>0.079 g</u><br><u>0.008 g</u><br><u>0.00138g</u><br><u>残量</u> | (新設)  |
| 付記10 | <u>洗浄液</u><br><u>1,000mL中</u><br>フェノール<br>5%塩化ナトリウム液<br>pHを2.7~2.8に調整する。   | <u>5%</u><br><u>残量</u>  | (新設)  |
| 付記11 | <u>溶解用液</u><br><u>1,000mL中</u><br>リン酸水素二ナトリウム二水和物<br>リン酸二水素カリウム<br>ブドウ糖<br>水   | <u>30 g</u><br><u>15 g</u><br><u>193.6g</u><br><u>残量</u>  | (新設)  |
| 付記12 | <u>安定剤</u><br><u>1,000mL中</u><br>リン酸水素二ナトリウム二水和物<br>リン酸二水素カリウム<br>ブドウ糖<br>水  | <u>5 g</u><br><u>2.6g</u><br><u>22 g</u><br><u>残量</u>   | (新設)  |
| 付記13 | <u>濃縮ツベルクリン用感作モルモット</u><br>牛10株と青山B株の加熱死菌を乾燥し、等量ずつ混合した後磨砕し、滅菌流動パラフィンに1.0mg/mLとなるように浮遊させ、それを体重約400gの白色モルモットの両側の大腿部筋肉内に0.3mLずつ注射し、6週間後、動物用標準濃縮ツベルクリンの1,000、2,000及び4,000倍希釈液をそれぞれ皮内に0.1mLずつ注射する。24時間後、1,000倍希釈液にあって |   | 付記6 感作モルモット<br>牛10株と青山B株の加熱死菌を乾燥し、等量ずつ混合した後磨砕し、滅菌流動パラフィンに1.0mg/mLとなるように浮遊させ、それを体重約400gの白色モルモットの両側の大腿部筋肉内に0.3mLずつ注射し、6週間後、動物用標準ツベルクリンの1,000、2,000及び4,000倍希釈液をそれぞれ皮内に0.1mLずつ注射する。24時間後、1,000倍希釈液にあっては13 |

は13～23mm、2,000倍希釈液にあっては11～21mm、4,000倍希釈液にあっては9～19mmの反応を示したものを感作モルモットとし、試験に用いる。

#### 付記14 平行線検定法

##### 7-1 Validityの検定

動物用標準濃縮ツベルクリンを希釈用液で2倍に希釈したもの及び検体をそれぞれ希釈液で500、1,000及び2,000倍に希釈し、標準品及び試験品とする。その0.1mLずつをそれぞれ6匹以上24匹までの感作モルモットの皮内に注射し、24時間後、それぞれの反応の長径及び短径をmm単位で計測し、両者の平均を反応値とし、標準品及び試験品について、次式の計算を行う。ただし、標準品の高用量を $S_H$ 、中用量を $S_M$ 、低用量を $S_L$ とし、試験品の高用量を $T_H$ 、中用量を $T_M$ 、低用量を $T_L$ とする。

標準品の用量反応値の合計から

$$\text{標準品の直線性} \quad B = S_H - S_L$$

$$\text{標準品の曲線性} \quad C = S_H \times S_L - 2 \times S_M$$

両検体の用量反応値の合計から

$$\text{両検体の直線性} \quad C_B = B + (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線性} \quad C_C = C + (T_H + T_L - 2 \times T_M)$$

$$\text{両検体の直線非平行性} \quad C_B' = B - (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線非平行性} \quad C_C' = C - (T_H + T_L - 2 \times T_M) \text{を求める。}$$

上記の式で求めた $B$ 、 $C$ 、 $C_B$ 、 $C_B'$ 、 $C_C$ 及び $C_C'$ の絶対値が全て付表1の該当する $N$ 行の $B$ 、 $C$ 、 $C_B'$ 、 $C_C$ 及び $C_C'$ のそれぞれの基準値の範囲内にある場合は、Validityの検定に適合する。

求めた $|B|$ 及び $|C|$ のいずれかが付表1の $B$ 及び $C$ のそれぞれの基準値から外れたときには、再試験を行う。

$|B|$ 及び $|C|$ が共に付表1の基準値の範囲内にあり、 $|C_B|$ 、 $|C_B'|$ 、 $|C_C|$ 、及び $|C_C'|$ のいずれかが付表1の基準値外にあるときは、不適合とする。

##### 7-2 判定

Validityの検定に適合したときは、次式により検体差を求める。

$$\text{検体差} C_A = (T_H + T_M + T_L) - (S_H + S_M + S_L)$$

この $C_A$ 値が付表2の該当する $N$ 行の合格域の範囲内にあるとき、試験に適合とする。

$C_A$ 値が検査継続域にあるときは、更に別の試験動物について、7-1の試験を実施し、その成績を最初の試験に加えて、Validityの検定を行い、適合したときは、 $C_A$ について付表2により合否を判定する。

この繰り返しは合否が決定するまで行う。動物数の合計が24匹になるまで行っても、検査継続域にあるときは、試験に適合とする。

$C_A$ 値が不合格域にあるとき、試験品は、不適合とする。

##### 7-3 相対力価の計算

～23mm、2,000倍希釈液にあっては11～21mm、4,000倍希釈液にあっては9～19mmの反応を示したものを感作モルモットとし、試験に用いる。

#### 付記7 平行線検定法

##### 7-1 Validityの検定

動物用標準ツベルクリンを希釈用液で2倍に希釈したもの及び検体をそれぞれ希釈液で500、1,000及び2,000倍に希釈し、標準品及び試験品とする。その0.1mLずつをそれぞれ6匹以上24匹までの感作モルモットの皮内に注射し、24時間後、それぞれの反応の長径及び短径をmm単位で計測し、両者の平均を反応値とし、標準品及び試験品について、次式の計算を行う。ただし、標準品の高用量を $S_H$ 、中用量を $S_M$ 、低用量を $S_L$ とし、試験品の高用量を $T_H$ 、中用量を $T_M$ 、低用量を $T_L$ とする。

標準品の用量反応値の合計から

$$\text{標準品の直線性} \quad B = S_H - S_L$$

$$\text{標準品の曲線性} \quad C = S_H \times S_L - 2 \times S_M$$

両検体の用量反応値の合計から

$$\text{両検体の直線性} \quad C_B = B + (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線性} \quad C_C = C + (T_H + T_L - 2 \times T_M)$$

$$\text{両検体の直線非平行性} \quad C_B' = B - (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線非平行性} \quad C_C' = C - (T_H + T_L - 2 \times T_M) \text{を求める。}$$

上記の式で求めた $B$ 、 $C$ 、 $C_B$ 、 $C_B'$ 、 $C_C$ 及び $C_C'$ の絶対値が全て付表1の該当する $N$ 行の $B$ 、 $C$ 、 $C_B'$ 、 $C_C$ 及び $C_C'$ のそれぞれの基準値の範囲内にある場合は、Validityの検定に適合する。

求めた $|B|$ 及び $|C|$ のいずれかが付表1の $B$ 及び $C$ のそれぞれの基準値から外れたときには、再試験を行う。

$|B|$ 及び $|C|$ が共に付表1の基準値の範囲内にあり、 $|C_B|$ 、 $|C_B'|$ 、 $|C_C|$ 、及び $|C_C'|$ のいずれかが付表1の基準値外にあるときは、不適合とする。

##### 7-2 判定

Validityの検定に適合したときは、次式により検体差を求める。

$$\text{検体差} C_A = (T_H + T_M + T_L) - (S_H + S_M + S_L)$$

この $C_A$ 値が付表2の該当する $N$ 行の合格域の範囲内にあるとき、試験に適合とする。

$C_A$ 値が検査継続域にあるときは、更に別の試験動物について、7-1の試験を実施し、その成績を最初の試験に加えて、Validityの検定を行い、適合したときは、 $C_A$ について付表2により合否を判定する。

この繰り返しは合否が決定するまで行う。動物数の合計が24匹になるまで行っても、検査継続域にあるときは、試験に適合とする。

$C_A$ 値が不合格域にあるとき、試験品は、不適合とする。

##### 7-3 相対力価の計算



7-2で適合と判定された場合、次式又は付表3によって相対力価を求める。

$$P = \text{anti log} (4/3 \times 0.301 \times Q)$$

P : 相対力価      Q = C<sub>A</sub> / C<sub>B</sub>

付記15 Lowenstein-Jensen培地

|                   |                |
|-------------------|----------------|
| <u>1,000mL中</u>   |                |
| <u>デンプン</u>       | <u>30.0 g</u>  |
| <u>L-アスパラギン</u>   | <u>3.6 g</u>   |
| <u>リン酸二水素カリウム</u> | <u>2.4 g</u>   |
| <u>クエン酸マグネシウム</u> | <u>0.6 g</u>   |
| <u>マラカイトグリーン</u>  | <u>0.4 g</u>   |
| <u>硫酸マグネシウム</u>   | <u>0.24g</u>   |
| <u>グリセリン</u>      | <u>12 mL</u>   |
| <u>全卵液</u>        | <u>1000 mL</u> |

付記16 ミドルブルック7H10培地

|                    |                 |
|--------------------|-----------------|
| <u>1,000mL中</u>    |                 |
| <u>硫酸アンモニウム</u>    | <u>0.5 g</u>    |
| <u>L-グルタミン酸</u>    | <u>0.5 g</u>    |
| <u>リン酸一カリウム</u>    | <u>1.5 g</u>    |
| <u>リン酸二ナトリウム</u>   | <u>1.5 g</u>    |
| <u>クエン酸ナトリウム</u>   | <u>0.4 g</u>    |
| <u>クエン酸鉄アンモニウム</u> | <u>0.04 g</u>   |
| <u>硫酸マグネシウム</u>    | <u>0.025 g</u>  |
| <u>塩化カルシウム</u>     | <u>0.0005 g</u> |
| <u>硫酸亜鉛</u>        | <u>0.001 g</u>  |
| <u>硫酸銅</u>         | <u>0.001 g</u>  |
| <u>ピリドキシン塩酸塩</u>   | <u>0.001 g</u>  |
| <u>ビオチン</u>        | <u>0.0005 g</u> |
| <u>マラカイトグリーン</u>   | <u>0.00025g</u> |
| <u>寒天</u>          | <u>15.0 g</u>   |

付記17 動物用標準精製ツベルクリン

牛型ツベルクリンPPD国際標準品（1 mL中30,000国際単位以上を含有するもの）

付記18 精製ツベルクリン用感作モルモット

M.bovisの生菌0.001~0.0001mgを生理食塩液0.1mLに懸濁したもの又は適当な重量のM.bovisの死菌を流動パラフィン若しくはフロイントの不完全アジュバントに浮遊したものを大腿部筋肉内注射して5~7週間

7-2で適合と判定された場合、次式又は付表3によって相対力価を求める。

$$P = \text{anti log} (4/3 \times 0.301 \times Q)$$

P : 相対力価      Q = C<sub>A</sub> / C<sub>B</sub>

(新設)

(新設)

(新設)

(新設)

感作したものを感作モルモットとし、試験に用いる。

付記19 リン酸緩衝食塩液  
1,000mL中  
リン酸二カリウム 1.45 g  
リン酸二水素ナトリウム 19.87 g  
塩化ナトリウム 4.80 g  
水 残量

(略)

付記8 リン酸緩衝食塩液  
1,000mL中  
リン酸二カリウム 1.45 g  
リン酸二水素ナトリウム 19.87 g  
塩化ナトリウム 4.80 g  
水 残量

(略)