

生物学的製剤基準の一部を改正する件新旧対照条文

○生物学的製剤基準（平成十六年厚生労働省告示第百五十五号）

（傍線の部分は改正部分）

改正後	改正前
<p style="text-align: center;">生物学的製剤基準</p> <p style="text-align: center;">まえがき</p> <p>(略)</p> <p style="text-align: center;">通 則</p> <p>(略)</p> <p style="text-align: center;">医薬品各条</p> <p>(略)</p> <p>インフルエンザHAワクチン</p> <p>(略)</p> <p><u>細胞培養インフルエンザワクチン（H5N1株）</u></p> <p><u>1 本質及び性状</u></p> <p><u>本剤は、不活化したインフルエンザウイルス（H5N1株）（以下「ウイルス」という。）を含む澄明又はわずかに白濁した液剤である。</u></p> <p><u>2 製 法</u></p> <p><u>2. 1 原材料</u></p> <p><u>2. 1. 1 ウイルス・シードロット</u></p> <p><u>別に定めるウイルス株を用いる。その株を用いてシードロットを作製する。ただし、定められた条件の下で継代を行い、かつ、その継代数が所定の継代数を超えてはならない。</u></p> <p><u>2. 1. 2 セル・バンク</u></p> <p><u>本剤の製造に相当と認められた細胞を用いてセル・バンクを作製する。ただし、定められた培養条件の下で継代を行い、かつ、その継代数が所定の継代数を超えてはならない。</u></p>	<p style="text-align: center;">生物学的製剤基準</p> <p style="text-align: center;">まえがき</p> <p>(略)</p> <p style="text-align: center;">通 則</p> <p>(略)</p> <p style="text-align: center;">医薬品各条</p> <p>(略)</p> <p>インフルエンザHAワクチン</p> <p>(略)</p> <p>(新設)</p>

### 2. 1. 3 培養液

細胞培養及びウイルス培養に使用する培地には、血清、抗生物質その他人体に高度のアレルギーを起こすおそれのあるものを用いてはならない。

### 2. 2 原液

#### 2. 2. 1 細胞培養

細胞培養は、セル・バンクから行い、継代数が所定の継代数を超えてはならない。

培養細胞について、3. 1の試験を行う。

#### 2. 2. 2 ウイルス浮遊液

培養細胞にウイルス・シードを接種し、適当な培養条件でウイルスを増殖させた後、ウイルス浮遊液を得る。

ウイルス浮遊液について、3. 2の試験を行う。

#### 2. 2. 3 不活化及び精製

ウイルス浮遊液にホルマリンを添加する等、適当な方法で不活化し、精製濃縮したものを原液とする。

原液について、3. 3の試験を行う。

### 2. 3 最終バルク

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、最終バルクを作る。適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

最終バルクについて、3. 4の試験を行う。

## 3 試験

### 3. 1 培養細胞の試験

培養細胞の一部を対照培養細胞とし、ウイルスを接種することなく、ウイルス培養と同等の条件で14日間以上培養するとき、細胞変性を認めてはならない。また、培養終了時にモルモット赤血球を添加するとき、赤血球吸着を認めてはならない。

### 3. 2 ウイルス浮遊液の試験

#### 3. 2. 1 無菌試験

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. 2 マイコプラズマ否定試験

以下のいずれかの方法で試験するとき、適合しなければならない。

- 1) 一般試験法のマイコプラズマ否定試験を準用して試験するとき、適合しなければならない。
- 2) 培地性能指標菌種の発育を確認した適当な平板培地及び液体培地を試験に用いる。2種類の100 mL入り液体培地を各1本用意し、1本当たり試料10 mLを接種する。液体培地を35～38℃において20日間又は21日間培養する。培養3日目、7日目、14日目、20日又は21日目に、液体培地1本あたり2種類の平板培地を各2枚用意し、1枚当たり培養液0.2 mLを接種する。これらの平板培地を、35～38℃において5～10 v o 1%の炭酸ガスを含む空気又は窒素ガスで14日間以上（20日目又は21日目に移植した平面培地については、7日間以上）培養する。平板培地を観察するとき、マイコプラズマの増殖を認めてはならない。

### 3. 3 原液の試験

#### 3. 3. 1 無菌試験

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. 3. 2 不活化試験

検体を製造に用いる細胞に接種し、適当量の培地を加えて7日間培養する。次いで培養上清を集め、これを1代目試料とする。1代目試料を細胞に接種し、適当量の培地を加えて7日間培養した後、培養上清を集め、これを2代目試料とする。2代目試料について更に1回同様の操作を行い、得られた試料を3代目試料とする。

これらの試料に赤血球を添加するとき、2代目試料及び3代目試料ではいずれも赤血球凝集を認めてはならない。なお、本試験には、同等の感受性のある他の適当な培養細胞を用いることができる。

#### 3. 3. 3 力価試験

一元放射免疫拡散試験又はHA含量試験を行う。

### 3. 3. 3. 1 一元放射免疫拡散試験

標準抗原及び参照抗インフルエンザHA抗血清を用いてHA含量を測定する。

#### 3. 3. 3. 1. 1 材料

検体、標準インフルエンザHA抗原（一元放射免疫拡散試験用）（以下「標準抗原」という。）及び本剤に含まれるウイルス株に対応する特定量の参照抗インフルエンザHA抗血清又は国際標準抗血清を含むアガロースゲル（以下「SRDプレート」という。）を用いる。

#### 3. 3. 3. 1. 2 試験

検体及び標準抗原は、適当な界面活性剤により前処理を行う。

リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液等を用いて、検体及び標準抗原についてそれぞれ適当な希釈列を作り、SRDプレート上に調製されたウェルに適当な一定量ずつ分注してSRDプレートが乾燥しないように湿った容器中に20～25℃で18時間以上置く。次いで、SRDプレートを乾燥させた後染色処理をし、染色された拡散円の直径を測定する。

#### 3. 3. 3. 1. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して検体中のHAの含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

### 3. 3. 3. 2 HA含量試験

一元放射免疫拡散試験法の標準抗原又は参照インフルエンザHA抗血清が利用できない場合に行う。

#### 3. 3. 3. 2. 1 試験

高速液体クロマトグラフィー法又はこれと同等の方法によりHA含量を測定する。

#### 3. 3. 3. 2. 2 判定

3. 3. 3. 2. 1で求めたHAの含量は承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 4 エンドトキシン試験

一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、15.0 EU/mL以下でなければならない。

3. 4 最終バルクの試験

3. 4. 1 たん白質含量試験

ブラッドフォード法又はこれと同等の方法により試験するとき、検体0.5 mL中のたん白質含量は、100  $\mu$ g以下でなければならない。

3. 4. 2 ホルムアルデヒド含量試験

一般試験法のホルムアルデヒド定量法を準用して試験するとき、0.0005 w/v%以下でなければならない。

3. 5 小分製品の試験

3. 5. 1 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、7.3～7.6でなければならない。

3. 5. 2 無菌試験

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. 5. 3 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定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. 5. 4 エンドトキシン試験

一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、15.0 EU/mL以下でなければならない。

3. 5. 5 力価試験

3. 3. 3を準用して試験するとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 5. 6 表示確認試験

血清学的方法又は他の適当な方法によって行う。

4 貯法及び有効期間

有効期間は承認された期間とする。

(略)

沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）

(略)

沈降 1 3 価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）

## 1 本質及び性状

本剤は、肺炎球菌莢膜血清型 1、3、4、5、6 A、6 B、7 F、9 V、1 4、1 8 C、1 9 A、1 9 F 及び 2 3 F（デンマーク式命名法）から抽出した精製莢膜血清型ポリサッカライドをそれぞれ無毒性変異ジフテリア毒素（以下「CRM<sub>197</sub>」という。）と共有結合させ、これらを混合した液にアルミニウム塩を加えて不溶性とした液剤である。振り混ぜるとき、均等に白濁する。

## 2 製法

### 2. 1 原材料

#### 2. 1. 1 製造用株

肺炎球菌莢膜血清型 1、3、4、5、6 A、6 B、7 F、9 V、1 4、1 8 C、1 9 A、1 9 F 及び 2 3 F のそれぞれの株並びにジフテリア菌 CRM<sub>197</sub> 産生株を用いる。

#### 2. 1. 2 培地

肺炎球菌の培養に用いる培地には、高分子のポリサッカライド若しくは人体に高度にアレルギーを起こすおそれのあるもの又はポリサッカライド精製工程で沈殿を生じる成分を使用してはならない。

ジフテリア菌 CRM<sub>197</sub> 産生株の培養に用いる培地には、馬肉、人体に由来する材料、ヒト血液型物質を含む可能性のあるものその他人体に高度にアレルギーを起こすおそれのあるものを使用してはならない。

### 2. 2 原液

#### 2. 2. 1 精製ポリサッカライド

(略)

沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）

(略)

(新設)

### 2. 2. 1. 1 菌の培養

莢膜血清型別にそれぞれの肺炎球菌の株を  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  で培養する。培養終了後、型特異免疫血清による莢膜膨化反応若しくは型特異免疫抗体による凝集反応により莢膜血清型又はポリメラーゼ連鎖反応による増幅DNAの融解温度により血清型特異的な遺伝子型を確認する。適当な培養法により検査するとき、培養液に他の細菌の混入を認めてはならない。

### 2. 2. 1. 2 不活化

培養液にデオキシコール酸ナトリウムを0.13%となるように加え、少なくとも30分間攪拌することによって行う。

### 2. 2. 1. 3 精製

遠心分離及びろ過により不活化した菌体を除く。限外ろ過その他適当な方法により菌体残渣及びたん白質を除去し、精製ポリサッカライドとする。精製ポリサッカライドについて、3.1の試験を行う。

## 2. 2. 2 精製CRM<sub>197</sub>

### 2. 2. 2. 1 菌の培養

ジフテリア菌CRM<sub>197</sub>産生株を  $32 \pm 2^\circ\text{C}$  で培養する。培養終了後、適当な方法によって検査するとき、培養液に他の細菌の混入を認めてはならない。

### 2. 2. 2. 2 精製

ろ過等により菌体を除き、塩析法により得たCRM<sub>197</sub>を更に精製し、精製CRM<sub>197</sub>とする。精製CRM<sub>197</sub>について、3.2の試験を行う。

## 2. 2. 3 ポリサッカライド-CRM<sub>197</sub>結合体

精製ポリサッカライドを適当な酸化剤により酸化し、活性化ポリサッカライドとする。適当な還元剤により、活性化ポリサッカライドと精製CRM<sub>197</sub>を結合させ、これを精製し、原液とする。原液について、3.3の試験を行う。

## 2. 3 最終バルク

1 mL中にポリサッカライドが、莢膜血清型1、3、4、5、6 A、7 F、9 V、14、18 C、19 A、19 F及び23 Fでは4.4 μg、莢膜血清型6 Bでは8.8 μg、それぞれ含まれるように、各莢膜血清型の原液を塩化ナトリウム、コハク酸及びポリソルベート80を含む液で希釈混合し、アルミニウム塩を加えて最終バルクとする。

### 3 試験

#### 3. 1 精製ポリサッカライドの試験

各莢膜血清型の精製ポリサッカライドについて、次の試験を行う。

##### 3. 1. 1 核磁気共鳴スペクトル測定 (<sup>1</sup>H) 試験

各莢膜血清型の精製ポリサッカライドを凍結乾燥し、核磁気共鳴スペクトル測定用重水に溶かす。さらに、内部基準物質溶液として核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d<sub>4</sub>を、内部標準溶液としてジメチルスルホキシドを、それぞれ加え、1 mL中約5~9 mgに相当するポリサッカライドを含む試料溶液を調製する。各試料溶液につき、日本薬局方一般試験法の核磁気共鳴スペクトル測定法 (<sup>1</sup>H) により試験を行うとき、C-ポリサッカライドの含量は次の表に掲げる値以下に、メチルペントース、O-アセチル基、N-アセチルヘキソサミン、N-アセチルグリコサミン、メチルグリコサミン、N-アセチルフコサミン及びピルビン酸の含量は次の表に掲げる値以上に、それぞれならなければならない。

莢膜血清型	C-ポリサッカライド含量 (%)	メチルペントース含量 (%)	O-アセチル基含量 (%)	N-アセチルヘキソサミン含量 (%)	N-アセチルグリコサミン含量 (%)	メチルグリコサミン含量 (%)	N-アセチルフコサミン含量 (%)	ピルビン酸含量 <sup>**</sup> (mol/mol)
1	14	/	2.6	/	20	21	/	/
3	5	/	/	/	/	/	/	/
4	14	/	/	/	53	/	17	0.7

5	24				45	41		
6A	11	16						
6B	5	16						
7F	14	18	2.0	25				
9V	9		4.5	18				
14	12			22				
18C	10	12	2.8					
19A	6	19		25				
19F	9	19		25				
23F	10	29						

\*N-アセチルフコサミンに対するピルビン酸の比

### 3. 2 精製CRM<sub>197</sub>の試験

精製CRM<sub>197</sub>について、次の試験を行う。

#### 3. 2. 1 ADPリボシルトランスフェラーゼ活性試験

<sup>14</sup>C標識したニコチンアミドアデニンジヌクレオチドを用いて、  
検体及びジフテリア毒素のADPリボシルトランスフェラーゼ活性  
を測定するとき、ジフテリア毒素に対する検体の活性は0.013  
5%以下でなければならない。

#### 3. 2. 2 純度試験

サイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行うとき、検体に含  
まれるCRM<sub>197</sub>の割合は、95%以上でなければならない。

### 3. 3 原液の試験

各莢膜血清型の原液について、次の試験を行う。

#### 3. 3. 1 遊離サッカライド試験

適量の原液をとり、血清型3を除く原液についてはアルミニウム  
塩を加えて試料原液とする。血清型3については、希釈した原液を  
試料原液とする。適量の試料原液を希釈したものを総サッカライド  
測定用試料溶液とする。また、残りの試料原液（血清型3につい  
ては、デオキシコール酸塩を加えたもの）を遠心分離し、その上清を  
遊離サッカライド測定用試料溶液とする。3. 3. 4の試験法によ

りサッカライド含量を求めるとき、総サッカライドに対する遊離サッカライドの割合は、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値以下でなければならない。

莢膜血清型	遊離サッカライド (%)
1	40
3	30
4	36
5	45
6A	26
6B	30
7F	20
9V	35
14	35
18C	20
19A	35
19F	30
23F	18

### 3. 3. 2 遊離たん白質試験

サイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行うとき、各莢膜血清型の原液に含まれる遊離たん白質含量は1%以下でなければならない。

### 3. 3. 3 シアン化物試験

原液に水酸化ナトリウム試液を加えて調製した試料溶液につき、シアンイオン濃度を測定することにより、各莢膜血清型の原液に含まれるシアン化物含量を求めるとき、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値以下でなければならない。

莢膜血清型	シアン化物含量 [pg/μg (サッカライド)]
1	1200
3	650

4	400
5	600
6A	200
6B	200
7F	200
9V	925
14	200
18C	200
19A	200
19F	200
23F	200

### 3. 3. 4 サッカライド含量試験

血清型1及び5の原液に四ホウ酸ナトリウム硫酸溶液及び3-フェニルフェノール溶液を加えて調製した試料溶液につき、波長520nmにおける吸光度を測定することにより、各莢膜血清型の原液に含まれるサッカライド含量を求めるとき、 $350\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上でなければならない。また、血清型3、4、6A、6B、7F、9V、14、18C、19A、19F及び23Fの原液にアントロン硫酸溶液を加え、 $90\sim 100^\circ\text{C}$ で加熱する。冷却後、波長625nmにおける吸光度を測定することにより、各莢膜血清型の原液に含まれるサッカライド含量を求めるとき、 $350\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上でなければならない。

### 3. 3. 5 分子量分布試験

原液につき、サイズ排除クロマトグラフィーにより分離し、0.9%塩化ナトリウム溶液を用いてKd値0.3以下に溶出する画分を分画し、3.3.4の試験法によりサッカライド含量を求めるとき、各莢膜血清型の原液のサッカライド含量は、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値以上でなければならない。

莢膜血清型	Kd値0.3以下のサッカライド含量 (%)
1	40

3	40
4	40
5	55
6A	60
6B	35
7F	60
9V	40
14V	50
18C	40
19A	40
19F	40
23F	35

### 3. 3. 6 サッカライド／たん白質比試験

ローリー法を準用し、各莢膜血清型（キヤウ）の原液に含まれるたん白質含量を求める。3. 3. 4の試験で得られた値を用い、各莢膜血清型（キヤウ）の原液に含まれるたん白質含量に対するサッカライド含量の比を求めるとき、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値の範囲内（キヤウ）でなければならない。

莢膜血清型 <small>（キヤウ）</small>	サッカライド含量／たん白質含量比
1	0.6～2.0
3	0.5～1.4
4	1.0～1.9
5	1.3～2.5
6A	0.7～1.6
6B	0.4～0.8
7F	0.8～1.5
9V	1.2～2.2
14V	1.4～2.6
18C	0.7～1.5
19A	0.4～0.9

19F	0.5~1.0
23F	0.4~1.0

### 3.3.7 エンドトキシン試験

一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、0.75 EU/ $\mu$ g (サッカライド) 未満でなければならない。

### 3.3.8 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなればならない。

### 3.3.9 血清学的同定試験

各莢膜血清型ポリサッカライド及びCRM<sub>197</sub>に特異性を示す抗体を用いて試験を行い、検体中の莢膜血清型ポリサッカライド及びCRM<sub>197</sub>を同定する。

### 3.4 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

#### 3.4.1 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、5.3~6.3でなければならない。

#### 3.4.2 エンドトキシン試験

一般試験法のエンドトキシン試験法を準用して試験するとき、12.5 EU/mL以下でなければならない。

#### 3.4.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなればならない。

#### 3.4.4 たん白質含量試験

ローリー法を準用し、たん白質含量を求めるとき、1 mL中43.0~86.0  $\mu$ g でなければならない。

#### 3.4.5 結合たん白質含量試験

ローリー法を準用し、たん白質含量に対する結合たん白質含量の割合を求めるとき、70%以上でなければならない。

#### 3.4.6 アルミニウム含量試験

検体に塩酸を加えて溶かしたものを試料溶液として、誘導結合プラズマ発光分光分析法を用いてアルミニウム含量を求めるとき、1 mL中0.20～0.30 mg でなければならない。

### 3. 4. 7 ポリサッカライド含量試験

定量的速度比濁法を用いて、検体中の各莢膜血清型ポリサッカライド含量を求めるとき、莢膜血清型ごとにそれぞれ次の表に掲げる値の範囲内でなければならない。また、各莢膜血清型ポリサッカライド含量に対するアルミニウム塩に結合したポリサッカライドの含量（結合ポリサッカライド含量）の割合を求めるとき、莢膜血清型ごとにそれぞれ同表に掲げる値以上でなければならない。

莢膜血清型	ポリサッカライド含量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (結合ポリサッカライド含量の割合 (%))
1	3.1～5.7 (70)
3	3.1～5.7 (70)
4	3.1～5.7 (20)
5	3.1～5.7 (16)
6A	3.1～5.7 (17)
6B	6.2～11.4 (47)
7F	3.1～5.7 (23)
9V	3.1～5.7 (25)
14V	3.1～5.7 (39)
18C	3.1～5.7 (35)
19A	3.1～5.7 (42)
19F	3.1～5.7 (38)
23F	3.1～5.7 (38)

### 3. 4. 8 表示確認試験

検体にアルミニウム塩を加えた後、水酸化ナトリウム試液を加えて溶かしたものに無水クエン酸を加えたものを試料溶液として、各莢膜血清型ポリサッカライド及びCRM<sub>197</sub>に特異性を示す抗体を用い、免疫学的方法によって確認する。

4 貯法及び有効期間

貯法は、2～8℃とする。

有効期間は、承認された期間とする。

(略)

一般試験法

(略)

索引

(略)

(略)

一般試験法

(略)

索引

(略)