

生物学的製剤基準の一部を改正する件（案）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 案	現 行
<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>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）</p> <p>(略)</p> <p><u>沈降10価肺炎球菌結合型ワクチン（無莢膜型インフルエンザ菌プロテインD、破傷風トキソイド、ジフテリアトキソイド結合体）</u></p> <p>1 本質及び性状</p> <p><u>本剤は、肺炎球菌莢膜血清型1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、18 C、19 F及び23 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組換えインフルエンザ菌プロテインD、破傷風トキソイド又はジフテリアトキソイドと共有結合させ、アルミニウム塩を加えて不溶性とした液を混合した液剤である。振り混ぜるとき、均等に白濁する。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2. 1 原材料</p> <p>2. 1. 1 製造用株</p> <p><u>肺炎球菌莢膜血清型1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、18 C</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>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）</p> <p>(略)</p> <p>(新設)</p>

、19F及び23Fのそれぞれの株並びに組換えインフルエンザ菌プロ
テインD産生大腸菌株、破傷風菌Harvard株及びジフテリア菌MD
H #353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、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。

破傷風菌及びジフテリア菌の培地には馬肉、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の人体に高度のア
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 精製ポリサッカライド

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 ± 1 ℃で培養す
る。培養終了後、型特異免疫血清による凝集反応により莢膜血
清型を確認する。適当な培養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. 1. 2 不活化

培養液にフェノールを1.2%になるように加え、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

沈殿その他適当な方法により菌体残渣、核酸及びたん白質を除
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 精製プロテインD

2. 2. 2. 1 菌の培養

組換えインフルエンザ菌プロテインD産生大腸菌株を 30 ± 1 ℃
で培養する。培養終了後、適当な培養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

限外ろ過その他適当な方法により培養液から精製し、精製プロ

テインDとする。精製プロテインDについて、3. 2の試験を行う。

2. 2. 3 精製破傷風トキソイド

2. 2. 3. 1 菌の培養

破傷風菌Harvard株を35±1℃で培養する。培養終了後、鏡検又は適当な培養法によって検査するとき、他の細菌の混入を認めてはならない。WHO破傷風国際標準品（フロキュラシオン用）で標定した破傷風抗毒素を用いた沈降反応によって試験するとき、1 mL中に毒素の45Lf以上を含まなければならない。

2. 2. 3. 2 トキソイド化及び精製

トキソイド化には、ホルマリンを用いる。トキソイド化の後に精製し、精製破傷風トキソイドとする。この精製破傷風トキソイドについて、3. 3の試験を行う。

2. 2. 4 精製ジフテリアトキソイド

2. 2. 4. 1 菌の培養

ジフテリア菌MDH #353株を35±1℃で培養する。培養終了後、鏡検又は適当な培養法によって検査するとき、他の細菌の混入を認めてはならない。WHOジフテリア国際標準品（フロキュラシオン用）で標定したジフテリア抗毒素を用いた沈降反応によって試験するとき、1 mL中に毒素の120Lf以上を含まなければならない。

2. 2. 4. 2 トキソイド化及び精製

トキソイド化には、ホルマリンを用いる。トキソイド化の後に精製し、精製ジフテリアトキソイドとする。この精製ジフテリアトキソイドについて、3. 4の試験を行う。

2. 2. 5 ^{ミヤク}ポリサッカライド-たん白質結合体（原液）

莢膜血清型1、4、5、7F、9V、14、18C及び19Fの精製ポリサッカライドは、たん白質（精製プロテインD、精製破傷風トキソイド又は精製ジフテリアトキソイド）との結合前に微粒化させる。精製破傷風トキソイドは、精製ポリサッカライドとの結合前に

更に精製し、その後適当な誘導化剤により誘導体化させる。精製ジフテリアトキソイドは、精製ポリサッカライドとの結合前に更に精製する。

精製ポリサッカライドを適当な活性化剤により活性化させ、^{きょう}莢膜血清型1、4、5、6 B、7 F、9 V、14及び23 Fの精製ポリサッカライドは精製プロテインDと、^{きょう}莢膜血清型18 Cの精製ポリサッカライドは精製破傷風トキソイドと、^{きょう}莢膜血清型19 Fの精製ポリサッカライドは精製ジフテリアトキソイドとそれぞれ結合させ、精製し、原液とする。これらの原液について、3. 5の試験を行う。

2. 3 単価吸着バルク

各原液にリン酸アルミニウム懸濁液を加えて吸着させ、単価吸着バルクとする。これらの単価吸着バルクについて、3. 6の試験を行う。

2. 4 最終バルク

1 mL中のポリサッカライド含量が^{きょう}莢膜血清型1、5、6 B、7 F、9 V、14及び23 Fはそれぞれ2 µg、^{きょう}莢膜血清型4、18 C及び19 Fはそれぞれ6 µg含まれるように、リン酸アルミニウム濃度及びpHを調整した各単価吸着バルクを混合し、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^{きょう}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試験

各^{きょう}莢膜血清型の精製ポリサッカライドをウリジル酸ナトリウム又はギ酸ナトリウムを内部基準物質として含む核磁気共鳴スペクトル測定用重水に溶かす。各溶液につき、核磁気共鳴スペクトル測定法により試験を行い、検体中のC-ポリサッカライド、ウロン酸、ヘキソサミン、メチルペントース及びO-アセチル基の含量を求めるとき、C-ポリサッカライドの含量は次の表に掲げる値以下に、

ウロン酸、ヘキソサミン、メチルペントース及びO-アセチル基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 (%)	ウロン酸含 量 (%)	ヘキソサミ ン含量 (%)	メチルペン トース含量 (%)	O-アセチ ル基含量 (%)
1	8.0	36.0	/	/	1.8
4	4.0	/	51.0	/	/
5	10.0	14.0	32.0	/	/
6 B	4.0	/	/	12.0	/
7 F	4.0	/	/	13.0	1.8
9 V	4.0	11.0	13.0	/	3.6
14	4.0	/	18.0	/	/
18C	4.0	/	/	10.0	1.8
19F	4.0	/	17.0	14.0	/
23F	4.0	/	/	30.0	/

3. 2 精製プロテインDの試験

精製プロテインDについて、次の試験を行う。

3. 2. 1 プロテインD含量試験

プロテインDに対するポリクローナル抗体を用いた酵素免疫測定法によりプロテインD含量を求めるとき、ローリー法により求めた総たん白質含量に対するプロテインDの割合は70~130%でなければならない。

3. 2. 2 純度試験

還元条件下においてSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、クマシー染色するとき、総たん白質に対するプロテインDの割合は95%以上でなければならない。

3. 2. 3 エンドトキシン試験

日本薬局方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、100EU/mL以下でなければならない。

3. 3 精製破傷風トキソイドの試験

精製破傷風トキソイドについて、次の試験を行う。

3. 3. 1 ホルムアルデヒド含量試験

アセチルアセトン存在下でインキュベートした後、吸光度測定によりホルムアルデヒド含量を求めるとき、 $200\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下でなければならない。

3. 3. 2 純度試験

WHO破傷風国際標準品（フロキュラシオン用）で標定した破傷風抗毒素を用いた沈降反応により、破傷風トキソイド含量を求める。窒素定量法により求めた窒素含量に対する破傷風トキソイド含量は、窒素1mg当たり1000Lf以上でなければならない。

3. 3. 3 無毒化試験

検体を $500\text{Lf}/\text{mL}$ に希釈し、体重 $250\sim 350\text{g}$ の健康なモルモット5匹を用い、1匹当たり1mLを皮下に注射して21日間観察する。この間、いずれの動物も破傷風毒素に起因する異常や死亡が認められてはならない。

3. 3. 4 毒性復帰試験

$27\text{Lf}/\text{mL}$ になるように検体を希釈したものを2本用意し、 $37\pm 1^\circ\text{C}$ 及び $5\pm 3^\circ\text{C}$ に42日間置いた試料について次の試験を行う。それぞれ体重 $250\sim 350\text{g}$ の健康なモルモット5匹を用い、1匹当たり5mLを皮下に注射して30日間観察する。この間、いずれの動物も破傷風毒素に起因する異常や死亡が認められてはならない。

3. 4 精製ジフテリアトキソイドの試験

精製ジフテリアトキソイドについて、次の試験を行う。

3. 4. 1 ホルムアルデヒド含量試験

アセチルアセトン存在下でインキュベートした後、吸光度測定によりホルムアルデヒド含量を求めるとき、 $200\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下でなければならない。

3. 4. 2 純度試験

WHOジフテリア国際標準品（フロキュラシオン用）で標定した

ジフテリア抗毒素を用いた沈降反応によりジフテリアトキソイド含量を求める。窒素定量法により求めた窒素含量に対するジフテリアトキソイド含量は、窒素 1 mg 当たり 1500Lf 以上でなければならない

3. 4. 3 無毒化試験

100Lf/mL になるように検体を希釈したものを用意し、5°C に 42 日間置いた試料について Vero 細胞によって試験するとき、ジフテリア毒素による細胞変性が認められてはならない。

3. 4. 4 毒性復帰試験

100Lf/mL になるように検体を希釈したものを用意し、37°C に 42 日間置いた試料について Vero 細胞によって試験するとき、ジフテリア毒素による細胞変性が認められてはならない。

3. 5 原液の試験

各莢膜血清型きょうの原液について、次の試験を行う。

3. 5. 1 遊離サッカライド試験

原液を適当な濃度に希釈したものに各キャリアタンパクに対するポリクローナル抗体を添加し、硫酸アンモニウム飽和溶液を加えて、遠心分離した上清を試料溶液とする。試料溶液について、各サッカライドに対する抗体を用いた酵素免疫測定法により遊離サッカライド含量を求めるとき、3. 5. 4 の試験法により求めたサッカライド含量に対する遊離サッカライドの割合は、莢膜血清型 1、6 B、7 F、9 V は 5% 以下、14、18 C、23 F は 10% 以下、4、19 F は 15% 以下、5 は 20% 以下でなければならない。

3. 5. 2 遊離たん白質試験

液体クロマトグラフィーにより試験を行うとき、各莢膜血清型きょうの原液に含まれる遊離たん白質は、3. 5. 5 の試験法により求めたたん白質含量に対し、莢膜血清型 6 B、7 F、9 V、14、18 C、19 F は 5%、1、4、5、23 F は 10% 以下でなければならない。

3. 5. 3 分子量分布試験

原液及びデキストランの標準溶液につき、液体クロマトグラフィ

一により試験を行う。デキストランの標準溶液の保持時間から、規定のカットオフ値（保持時間）を求める。原液につき、全ピーク面積に対するカットオフ値前のピーク面積の割合を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 5. 4 サッカライド含量試験

原液を適当な濃度に希釈したものにレソルシノール及び硫酸を加え、100℃で加熱する。冷却後、波長430nmにおける吸光度を測定し、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、莢膜血清型18Cは150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、それ以外の莢膜血清型は210 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上でなければならない。

3. 5. 5 たん白質含量試験

ローリー法を準用し各莢膜血清型の原液に含まれるたん白質含量を求めるとき、次の表に掲げる値以上でなければならない。

莢膜血清型	たん白質含量 (/mL)
1	260
4	260
5	145
6 B	130
7 F	180
9 V	230
14	230
18 C	270
19 F	250
23 F	90

3. 5. 6 サッカライド／たん白質比試験

3. 5. 5の試験で得られたたん白質含量に対する3. 5. 4の試験で得られたサッカライド含量の比を求めるとき、次の表に掲げる値の範囲内でなければならない。

莢膜血清型	サッカライド／たん白質比
1	0.55～0.90

4	0.45～0.90
5	0.80～1.50
6 B	1.05～1.80
7 F	0.70～1.15
9 V	0.55～1.00
14	0.55～1.00
18 C	0.30～0.55
19 F	0.50～0.90
23 F	1.35～2.55

3. 5. 7 エンドトキシン試験

日本薬局方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、0.75EU/μg (サッカライド) 以下でなければならない。

3. 5. 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、適合しなければならない。

3. 5. 9 血清学的同定試験

各キャリアタンパク及び各莢膜血清型ポリサッカライドに特異性を示す抗体を用いて酵素免疫測定法により試験を行い、検体中の莢膜血清型ポリサッカライド、プロテインD、破傷風トキソイド及びジフテリアトキソイドを同定する。

3. 6 単価吸着バルクの試験

各単価吸着バルクについて、次の試験を行う。

3. 6. 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. 6. 2 アルミニウム含量試験

滴定法あるいはそれと同等の方法でアルミニウム含量を求めるとき、血清型1、4、5、6 B、7 F、9 V、14、19 F、23 Fは1.12～1.68mg/mL、血清型18 Cは1.20～1.80mg/mLでなければならない

滴定法を行う際は、検体に硫酸及び硝酸を加えて溶かしたものを試料溶液として、エデト酸ナトリウムによりキレートを形成させ、過剰のエデト酸ナトリウムを硫酸銅溶液で逆滴定する方法を用いる。

3. 7 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 7. 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、5.6～6.6でなければならない。

3. 7. 2 エンドトキシン試験

日本薬局方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、25.0EU/mL以下でなければならない。

3. 7. 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、適合しなければならない。

3. 7. 4 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. 7. 5 アルミニウム含量試験

滴定法あるいはそれと同等の方法でアルミニウム含量を求めるとき、1 mL中0.80～1.20mgでなければならない。

滴定法を行う際は、検体に硫酸及び硝酸を加えて溶かしたものを試料溶液として、エデト酸ナトリウムによりキレートを形成させ、過剰のエデト酸ナトリウムを硫酸銅溶液で逆滴定する方法を用いる。

3. 7. 6 ポリサッカライド含量試験

レートネフェロメトリー法を用いて、検体中のアルミニウムに吸着したポリサッカライド-たん白質結合体の各莖膜血清型ポリサッカライド含量を求めるとき、血清型1、5、6B、7F、9V、14、23Fは1.40～2.60µg/mL、血清型4、18C、19Fは4.20～7.80

μg/mLでなければならない。

3. 7. 7 表示確認試験

レートネフェロメトリー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、承認時に定められた期間とする。

5 その他

5. 1 別名

本医薬品各条の別名は「10価肺炎球菌結合型ワクチン」とする。