

生物学的製剤基準の一部を改正する件（案）（概要）

令和5年3月
厚生労働省医薬・生活衛生局
医薬品審査管理課

1 改正の趣旨

- 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）第42条第1項の規定に基づき、厚生労働大臣は、保健衛生上特別の注意を要する医薬品又は再生医療等製品につき、薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて、その製法、性状、品質、貯法等に関し、必要な基準を設けることができることとされている。
- 保健衛生上特別の注意を要する医薬品のうち、ワクチン、血液製剤等に関する製法等の基準については、生物学的製剤基準（平成16年厚生労働省告示第155号。以下「基準告示」という。）により示されている。
- 今後、薬事・食品衛生審議会医薬品第二部会（令和5年2月28日開催）における議論を踏まえ、基準告示について所要の改正を行う。

2 改正の内容

- 基準告示医薬品各条について、以下の改正を行う。
 - (1) 「経鼻弱毒生インフルエンザワクチン」「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオヘモフィルスb型混合ワクチン」の基準を新設する。
 - (2) (1)の改正にあわせて、「ジフテリアトキソイド」「沈降ジフテリアトキソイド」「成人用沈降ジフテリアトキソイド」「沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド」「破傷風トキソイド」「沈降破傷風トキソイド」「沈降精製百日せきワクチン」「沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン」「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチン」「乾燥ヘモフィルスb型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）」「不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）」の基準について、所要の改正を行い、「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（ソークワクチン）混合ワクチン」の基準を削除する。
 - (3) 「乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン」「乾燥ガスエソウマ抗毒素」「乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン」「乾燥ジフテリアウマ抗毒素」「乾燥はぶウマ抗毒素」「乾燥ボツリヌスウマ抗毒素」「乾燥まむしウマ抗毒素」の基準について、異常毒性否定試験及びpH試験の項目を削除し、あわせて所要の改正を行う。

3 根拠規定

法第42条第1項

4 適用期日等

告示日：令和5年3月（予定）

適用期日：告示日

生物学的製剤基準の一部を改正する件

○厚生労働省告示第 号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第四百四十五号）第四十二条第一項の規定に基づき、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）の一部を次の表のように改正する。ただし、この告示により生物学的製剤基準通則四に規定する基準名（以下「基準名」という。）が改正された医薬品であつて、令和七年三月二十七日までに製造され、又は輸入されるものの基準名については、この告示による改正後の生物学的製剤基準の規定にかかわらず、なお従前の例によることができる。

令和五年 月 日

厚生労働大臣 加藤 勝信

(傍線部分は改正部分)

改 正 後	改 正 前
<p style="text-align: center;">医薬品各条</p> <p>(略) インフルエンザHAワクチン</p> <p>(略) <u>経鼻弱毒生インフルエンザワクチン</u></p> <p>1 <u>本質及び性状</u> <u>本剤は、弱毒生インフルエンザウイルス（以下「ウイルス」という。）を含む無色～淡黄色の澄明又はわずかに白濁した液剤であり、白色の粒子を含む可能性がある。</u></p> <p>2 <u>製法</u></p> <p>2. 1 <u>原材料</u></p> <p>2. 1. 1 <u>製造用株</u> <u>承認されたA型及びB型のインフルエンザウイルス株を用いてシードロットを作製する。シードロットについて3. 1の試験を行う。</u></p> <p>2. 1. 2 <u>発育鶏卵</u> <u>承認された規定に適合する鶏卵を10～12日間ふ卵したもの（以下「卵」という。）を用いる。</u></p> <p>2. 2 <u>原液</u></p> <p>2. 2. 1 <u>ウイルス浮遊液</u> <u>製造用ウイルス株をそれぞれ別個に卵の尿膜腔内に接種して培養し、ウイルスの増殖したとき尿膜腔液を採り、これをそれぞれの株のウイルス浮遊液とする。</u> <u>ウイルス浮遊液について、3. 2の試験を行う。</u></p> <p>2. 2. 2 <u>ウイルスの精製</u> <u>ウイルス浮遊液を適当な方法で処理してウイルスを精製濃縮する。更なるろ過等の操作を行い、それぞれの株の原液とする。</u></p>	<p style="text-align: center;">医薬品各条</p> <p>(略) インフルエンザHAワクチン</p> <p>(略) (新設)</p>

原液について，3. 3の試験を行う。

2. 3 最終バルク

それぞれの株の原液を適当な緩衝剤を含む溶液等で希釈混合し，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。

3 試験

3. 1 シードロットの試験

3. 1. 1 遺伝的安定性試験

発育鶏卵で5代継代培養し，最終継代ウイルスの遺伝子配列を適当な方法により解析するとき，既知の遺伝子座において低温馴化，温度感受性又は弱毒性表現型に影響するアミノ酸変異を認めてはならない。この試験に適合しない場合にあっては，最終継代ウイルスについて3. 3. 2及び3. 3. 3を準用した弱毒性試験及び表現型試験に適合するときは，この試験に適合とみなす。

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 1 外来性ウイルス等否定試験

必要あれば，あらかじめヒト，サル及びニワトリ以外の動物で作った抗インフルエンザウイルス免疫血清で処理してウイルスを中和したものを試料として，試験を行う。また，試料には，適当な抗生物質を加えることができる。

3. 2. 1. 1 乳のみマウス接種試験

生後24時間未満の乳のみマウス20匹以上に，1匹当たり試料を腹腔内に0.1mL及び脳内に0.01mLずつ接種して，14日間以上観察する。また，生後24時間未満の乳のみマウス20匹以上に，接種14日後の生存マウスの組織懸濁液を同様の経路で継代接種して，14日間以上観察する。ただし，初回接種又は継代接種の試験において乳のみマウスが接種24時間経過した後死亡又は瀕死となった場合，生後24時間未満の乳のみマウス5匹以上に，死亡又は瀕死となったマウスの組織懸濁液を腹腔内及び脳内に継代接種して，14日間以上観察する。この間，接種後24時間以内に死亡又は瀕死となった乳のみマウス

以外の乳のみマウスについて、いずれも外来性病原体による感染を示してはならず、また、その 80%以上は生き残らなければならない。

3. 2. 1. 2 培養細胞接種試験

Ver o細胞, MRC-5細胞及びニワトリ胚線維芽(CEF)細胞に試料を接種し, Ver o細胞及びMRC-5細胞は14日間, CEF細胞は7日間培養後に盲継代して更に7日間培養するとき, 外来性ウイルスによる細胞変性を認めてはならない。また, 継代及び培養終了時に適当な種の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. 1. 3 ニワトリ卵接種試験

10~11日齢の卵10個以上に, 1個当たり試料0.5mLを尿膜腔内に接種して3日間観察する。全ての生存卵から尿膜腔液を採取し赤血球凝集試験を行う。全ての生存卵から採取した尿膜腔液を集め, 10~11日齢の卵10個以上に, 1個当たり試料0.5mLを尿膜腔内に接種して3日間観察する。全ての卵から尿膜腔液を採取し赤血球凝集試験を行う。また, 6~7日齢の卵15個以上に, 1個当たり試料0.5mLを卵黄囊内に接種し, 接種48時間後の時点で生存を確認した卵の中から無作為に選んだ10個の卵を合計9~10日間観察する。全ての生存卵から卵黄囊液を採取し赤血球凝集試験を行う。さらに, 残りの卵黄囊液を集め, 3. 2. 1を準用して調製した懸濁液について, 6~7日齢の卵15個以上の卵黄囊内に接種し, 上と同様に観察する。これらの試験の間, いずれの卵においても, 胚を観察し生死を確認するとき, 卵の80%以上は生き残らなければならない。また, 赤血球凝集試験においては, いずれも陰性でなければならない。

3. 2. 2 ニワトリ白血病ウイルス否定試験

3. 2. 1を準用して調製した試料をCEF細胞に接種し, 5代継代培養し, 各継代培養後, ニワトリ白血病ウイルスを酵素免疫測定法又は他の適当な方法により検出を行うとき, その存在を

認めてはならない。

3. 2. 3 レトロウイルス否定試験

検体を遠心し、得られた沈殿物の逆転写酵素活性を高感度酵素活性試験法又は定量高感度逆転写酵素試験法により測定するとき、陰性でなければならない。

3. 2. 4 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験を準用した試験又は以下の試験を行うとき、適合しなければならない。ただし、それらの試験と同等の真度及び精度を有する核酸増幅法が承認されている場合は、核酸増幅法によって行うことができる。

3. 2. 4. 1 培養法

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種類の平板培地1枚当たり検体0.2mL、100mL入り液体培地1本当たり検体10mLを接種し、各培地の半数を空気に5～10vol%炭酸ガスを混合した好氣的条件下において36±1℃で培養し、残り半数を窒素ガスに5～10vol%炭酸ガスを混合した微好氣的条件下において36±1℃で培養する。培養期間中、液体培地についてはいずれの培養条件においても、培養開始から3日目、7日目、14日目及び21日目に1枚当たり培養液0.2mLを平板培地に移植し、3日目、7日目及び14日目に移植した平板培地は14日間、21日目に移植した平板培地は7日間、移植前と同じ培養条件で培養する。平板培地及び液体培地を観察するとき、マイコプラズマの増殖を認めなければならない。

3. 2. 4. 2 DNA染色法

検体を抗インフルエンザウイルス免疫血清で処理し、Vero細胞に接種して適当な条件下で培養し、細胞浮遊液とする。この細胞浮遊液を適当な条件下で5日間培養した後、適当な試薬により固定、染色し、蛍光顕微鏡により観察するとき、マイコプラズマの混入を認めてはならない。

3. 2. 5 微生物限度試験

日本薬局方一般試験法の微生物限度試験法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. 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 弱毒性試験

試験には、ワクチンに含まれるインフルエンザウイルスに対する抗体が検出されないフェレットを用いる。8～10週齢のフェレット3匹以上に、1匹当たり適当な濃度に希釈した試料1mLを経鼻接種して、3日間以上観察するとき、いずれの動物もインフルエンザ様症状を示してはならない。最終観察後、動物から鼻甲介及び肺でのウイルス感染価あるいは血清を用いた抗体価を測定するとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 3 表現型試験

検体を適当に段階希釈してニワトリ腎初代培養細胞に接種し、低温（25℃）、中温（33℃）及び高温（A型株は39℃、B型株は37℃）におけるウイルス感染価を測定するとき、中温におけるウイルス感染価は、低温におけるウイルス感染価と比較して100倍以下でなければならず、高温におけるウイルス感染価と比較して100倍以上でなければならない。

3. 4 小分製品の試験

3. 4. 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. 4. 2 力価試験

適当な培養細胞を用いてウイルス量を蛍光抗体法により測定するとき、各ウイルス株の力価は $7.0 \pm 0.5 \text{Log}_{10} \text{FFU}/0.2 \text{mL}$ でなければならない。

3. 4. 3 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、

30.00EU/mL以下でなければならない。

3.4.4 表示確認試験

適当な培養細胞に検体を接種し培養した後、蛍光抗体法によって行う。

(略)

乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン

1 (略)

2 製法

2.1 原材料

(略)

2.2 原液

(略)

2.3 (略)

3 試験

3.1~3.3 (略)

3.4 小分製品の試験

(削る)

3.4.1 (略)

(削る)

3.4.2・3.4.3 (略)

(削る)

3.4.4 (略)

3.4.5 (略)

3.4.5.1~3.4.5.3 (略)

3.4.6 (略)

4 (略)

5 その他

(略)

乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン

1 (略)

2 製法

2.1 原材料

(略)

2.2 原液

(略)

2.3 (略)

3 試験

3.1~3.3 (略)

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 (略)

3.4.2 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、pHは6.8~7.4でなければならない。

3.4.3・3.4.4 (略)

3.4.5 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。

3.4.6 (略)

3.4.7 (略)

3.4.7.1~3.4.7.3 (略)

3.4.8 (略)

4 (略)

5 その他

(略)

(略)

乾燥ガスエソウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 5を準用する.

3. 2 小分製品の試験

(削る)

3. 2. 1 (略)

(削る)

3. 2. 2・3. 2. 3 (略)

(削る)

3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 (略)

3. 2. 5. 1～3. 2. 5. 3 (略)

3. 2. 6 (略)

4 (略)

5 その他

(略)

(略)

乾燥ガスエソウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 7を準用する.

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う.

3. 2. 1 (略)

3. 2. 2 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.4
でなければならない.

3. 2. 3・3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 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. 2. 6 (略)

3. 2. 7 (略)

3. 2. 7. 1～3. 2. 7. 3 (略)

3. 2. 8 (略)

4 (略)

5 その他

(略)

(略)

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 1 (略)

3. 2. 2 不活化ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 2. 1 (略)

3. 2. 2. 2 不活化試験

3. 4. 4を準用する.

3. 3 (略)

3. 4 小分製品の試験

(削る)

3. 4. 1 (略)

(削る)

3. 4. 2・3. 4. 3 (略)

(削る)

3. 4. 4 (略)

3. 4. 5 (略)

(略)

(略)

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 1 (略)

3. 2. 2 不活化ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 2. 1 (略)

3. 2. 2. 2 不活化試験

3. 4. 6を準用する.

3. 3 (略)

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 (略)

3. 4. 2 pH試験

一般試験法のpH測定法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. 4. 3・3. 4. 4 (略)

3. 4. 5 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. 4. 6 (略)

3. 4. 7 (略)

3. 4. 5. 1 ～ 3. 4. 5. 3 (略)
3. 4. 6 (略)
4 (略)
(略)
乾燥ジフテリアウマ抗毒素
1 (略)
2 製法
2. 1 原材料
(略)
2. 2 原液
(略)
2. 3 (略)
3 試験
3. 1 原液の試験
3. 1. 1～3. 1. 4 (略)
3. 1. 5 抗毒素含量試験
3. 2. 5を準用する.
3. 2 小分製品の試験
(削る)
3. 2. 1 (略)
(削る)
3. 2. 2・3. 2. 3 (略)
(削る)
3. 2. 4 (略)
3. 2. 5 (略)
3. 2. 5. 1～3. 2. 5. 3 (略)
3. 2. 6 (略)

3. 4. 7. 1～3. 4. 7. 3 (略)
3. 4. 8 (略)
4 (略)
(略)
乾燥ジフテリアウマ抗毒素
1 (略)
2 製法
2. 1 原材料
(略)
2. 2 原液
(略)
2. 3 (略)
3 試験
3. 1 原液の試験
3. 1. 1～3. 1. 4 (略)
3. 1. 5 抗毒素含量試験
3. 2. 7を準用する.
3. 2 小分製品の試験
小分製品について、次の試験を行う.
3. 2. 1 (略)
3. 2. 2 pH試験
一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.4
でなければならない.
3. 2. 3・3. 2. 4 (略)
3. 2. 5 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. 2. 6 (略)
3. 2. 7 (略)
3. 2. 7. 1～3. 2. 7. 3 (略)
3. 2. 8 (略)

4・5 (略)

ジフテリアトキソイド

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

承認されたジフテリア菌 Park-Williams No. 8 株又はこれと同等以上の毒素産生能をもつ株を用いてシードロットを作製する。

2. 1. 2 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1 毒素液

ジフテリア菌の培養終了後、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ない培養液を適当な方法で除菌し、これを毒素液とする。

毒素液は、3. 2. 6を準用して試験するとき、1 mL 中に毒素の 100Lf 以上を含まなければならない。

2. 2. 2 (略)

2. 3 最終バルク

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、1 mL 中のトキソイドの含量が 70Lf 以下となるようにして作る。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 純度試験

一般試験法のたん白窒素定量法を準用してたん白窒素含量を、また、3. 2. 6を準用してトキソイド含量を測定するとき、たん白窒素 1 mg につきトキソイドの 1500Lf 以上を含まなければならない。

3. 1. 2 (略)

3. 1. 3 無毒化試験

検体を 0.017mol/L リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液 (pH7.0

4・5 (略)

ジフテリアトキソイド

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

ジフテリア菌 Park-Williams No. 8 株又はこれと同等以上の毒素産生能をもつ株を用いる。

2. 1. 2 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1 毒素液

ジフテリア菌の培養終了後、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ない培養液を適当な方法で除菌し、これを毒素液とする。

毒素液は、3. 2. 7を準用して試験するとき、1 mL 中に毒素の 100Lf 以上を含まなければならない。

2. 2. 2 (略)

2. 3 最終バルク

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、1 mL 中のトキソイドの含量が 70Lf を超えないようにして作る。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 純度試験

一般試験法のたん白窒素定量法を準用してたん白窒素含量を、また、3. 2. 7を準用してトキソイド含量を測定するとき、たん白窒素 1 mg につきトキソイドの 1500Lf 以上を含まなければならない。

3. 1. 2 (略)

3. 1. 3 無毒化試験

検体を 0.017mol/L リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液 (pH7.0

)で薄めて、1mL中にトキシソイドの200Lfを含むようにしたもの、及び最終バルクと同等以上で70Lf以下の濃度となるようにして37℃に20日間置いたものを試料として、次の試験を行う。

3. 1. 3. 1・3. 1. 3. 2 (略)

3. 2 小分製品の試験

(削る)

(削る)

3. 2. 1～3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 力価試験

(略)

3. 2. 5. 1 (略)

3. 2. 5. 1. 1～3. 2. 5. 1. 3 (略)

3. 2. 5. 2 血中抗毒素価測定法

(略)

3. 2. 5. 2. 1 (略)

3. 2. 5. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 5. 1. 2を準用して行う。ただし、マウスを用いるときは5週齢のマウス 10 匹以上を1群とし、検体及び標準品の各希釈に1群ずつを用い、1匹当たり0.5mLを皮下に注射する。

免疫注射の4～6週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価を測定する。

3. 2. 5. 2. 3 判定

3. 2. 5. 1. 3を準用する。

3. 2. 6 表示確認試験

参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用)を用いた抗体変量法による試験管内沈降反応その他の適当な免疫学的方法によって行う。

)で薄めて、1mL中にトキシソイドの200Lfを含むようにしたもの、及び最終バルクと同等以上で70Lfを超えない濃度となるようにして37℃に20日間置いたものを試料として、次の試験を行う。

3. 1. 3. 1・3. 1. 3. 2 (略)

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 2. 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、6.6～7.4でなければならない。

3. 2. 2～3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 力価試験

(略)

3. 2. 6. 1 (略)

3. 2. 6. 1. 1～3. 2. 6. 1. 3 (略)

3. 2. 6. 2 血中抗毒素価測定法

(略)

3. 2. 6. 2. 1 (略)

3. 2. 6. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 6. 1. 2を準用して行う。ただし、マウスを用いるときは5週齢のマウス 10 匹以上を1群とし、検体及び標準品の各希釈に1群ずつを用い、1匹当たり0.5mLを皮下に注射する。

免疫注射の4～6週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価を測定する。

3. 2. 6. 2. 3 判定

3. 2. 6. 1. 3を準用する。

3. 2. 7 表示確認試験

参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用)を用い、抗体変量法による試験管内沈降反応によって行う。

(削る)

沈降ジフテリアトキソイド

1 本質及び性状

本剤は、『ジフテリアトキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含む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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

(削る)

(削る)

3. 2. 1～3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 無毒化試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 4を準用する。

3. 2. 6 力価試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準ジフテリアトキソイドとあるのは標準沈降ジフテリアトキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は70国際単位以上とする。

4 有効期間

有効期間は、2年とする。

沈降ジフテリアトキソイド

1 本質及び性状

本剤は、ジフテリア毒素をホルマリンでその免疫原性をなるべく損なわないように無毒化して得られた『ジフテリアトキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含む液にアルミニウム塩を加えてトキソイドを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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 2. 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、5.4～7.4でなければならない。

3. 2. 2～3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 無毒化試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5を準用する。

3. 2. 7 力価試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 6を準用する。ただし、3. 2. 6. 1. 1の標準ジフテリアトキソイド（以下「標準品」という。）とあるのは標準沈降ジフテリアトキソイド（以下「標準品」という。）とし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 6. 1. 3の検体の力価は70国際単位以上とする。

3. 2. 7 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、ジフテリアトキソイド3. 2. 6を準用する。

(削る)

成人用沈降ジフテリアトキソイド

1 本質及び性状

本剤は、『ジフテリアトキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含み、それ以外の抗原性物質の含量の少ない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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

沈降ジフテリアトキソイド3. 2を準用する。ただし、3. 2. 6の検体の力価は15国際単位以上とする。

(削る)

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド

1 本質及び性状

本剤は、『ジフテリアトキソイド』及び『破傷風トキソイド』（以下各「トキソイド」という。）を含む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。

3. 2. 8 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、ジフテリアトキソイド3. 2. 7を準用する。

4 有効期間

有効期間は、2年とする。

成人用沈降ジフテリアトキソイド

1 本質及び性状

本剤は、ジフテリア毒素をホルマリンでその免疫原性をなるべく損なわないように無毒化して得られた『ジフテリアトキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含み、それ以外の抗原性物質の含量の少ない液にアルミニウム塩を加えてトキソイドを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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

沈降ジフテリアトキソイド3. 2を準用する。ただし、3. 2. 7の検体の力価は15国際単位以上とする。

4 有効期間

有効期間は、3年とする。

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド

1 本質及び性状

本剤は、ジフテリア毒素及び破傷風毒素をホルマリンでその免疫原性をなるべく損なわないように無毒化して得られた『ジフテリアトキソイド』及び『破傷風トキソイド』（以下各「トキソイド」という。）を含む液にアルミニウム塩を加えてトキソイドを

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 最終バルク

それぞれの原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈混合し、アルミニウム塩を加えた最終バルクを作る。ただし、ジフテリアトキソイドの含量は1 mL中に50Lf以下、また、破傷風トキソイドの含量は1 mL中に20Lf以下となるようにする。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

(削る)

(削る)

3. 2. 1～3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 無毒化試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 4及び破傷風トキソイド3. 2. 4をそれぞれ準用する。

3. 2. 6 力価試験

3. 2. 6. 1 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準ジフテリアトキソイドとあるのは標準沈降ジフテリアトキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は70国際単位以上とする。

3. 2. 6. 2 沈降破傷風トキソイドの力価試験

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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 最終バルク

それぞれの原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈混合し、アルミニウム塩を加えて作る。ただし、1 mL中のジフテリアトキソイドの含量が50Lfを超えないように、また、破傷風トキソイドの含量が20Lfを超えないようにする。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 2. 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、5.4～7.4でなければならない。

3. 2. 2～3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 無毒化試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5及び破傷風トキソイド3. 2. 5をそれぞれ準用する。

3. 2. 7 力価試験

沈降ジフテリアトキソイド3. 2. 7及び沈降破傷風トキソイド3. 2. 7をそれぞれ準用する。

破傷風トキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準破傷風トキソイドとあるのは、標準沈降破傷風トキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は 40 国際単位以上とする。

3. 2. 7 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、ジフテリアトキソイド3. 2. 6及び破傷風トキソイド3. 2. 6をそれぞれ準用する。

(削る)

(略)

破傷風トキソイド

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

承認された破傷風菌 Harvard 株又はこれと同等以上の毒素産生能をもつ株を用いてシードロットを作製する。

2. 1. 2 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1 毒素液

破傷風菌の培養終了後、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ない培養液を除菌ろ過し、これを毒素液とする。

毒素液は、標準破傷風抗毒素を用いて結合価を測定するとき、1 L+量が 0.05mL 以下であるか、又は3. 2. 6を準用して試験するとき、1 mL 中に毒素の 20Lf 以上を含まなければならない

2. 2. 2 (略)

2. 3 最終バルク

3. 2. 8 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、ジフテリアトキソイド3. 2. 7及び破傷風トキソイド3. 2. 7をそれぞれ準用する。

4 有効期間

有効期間は、2年とする。

(略)

破傷風トキソイド

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

破傷風菌 Harvard 株又はこれと同等以上の毒素産生能をもつ株を用いる。

2. 1. 2 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1 毒素液

破傷風菌の培養終了後、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ない培養液を除菌ろ過し、これを毒素液とする。

毒素液は、標準破傷風抗毒素を用いて結合価を測定するとき、1 L+量が 0.05mL 以下であるか、又は3. 2. 7を準用して試験するとき、1 mL 中に毒素の 20Lf 以上を含まなければならない

2. 2. 2 (略)

2. 3 最終バルク

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、1 mL 中のトキシイドの含量が 50Lf 以下 となるようにして作る。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 純度試験

一般試験法のたん白窒素定量法を準用してたん白窒素含量を、また、3. 2. 6を準用してトキシイド含量を測定するとき、たん白窒素 1 mg につきトキシイドの 1500Lf 以上を含まなければならない。

3. 1. 2 (略)

3. 1. 3 無毒化試験

検体を 0.017mol/L リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液 (pH7.0) で薄めて 1 mL 中にトキシイドの 100Lf を含むようにしたもの、及び最終バルクと同等以上で 50Lf 以下の濃度 となるようにして 37°C に 20 日間置いたものをそれぞれ試料とし、3. 2. 4 を準用する。

3. 2 小分製品の試験

(削る)

(削る)

3. 2. 1 ~ 3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 力価試験

(略)

3. 2. 5. 1 (略)

3. 2. 5. 1. 1 ~ 3. 2. 5. 1. 3 (略)

3. 2. 5. 2 血中抗毒素価測定法

3. 2. 5. 2. 1 材料

検体、標準品及び結合価既知の毒素液を用いる。これらの希釈は、3. 2. 5. 1. 1を準用して行う。

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、1 mL 中のトキシイドの含量が 50Lf を超えない ようにして作る。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 純度試験

一般試験法のたん白窒素定量法を準用してたん白窒素含量を、また、3. 2. 7を準用してトキシイド含量を測定するとき、たん白窒素 1 mg につきトキシイドの 1500Lf 以上を含まなければならない。

3. 1. 2 (略)

3. 1. 3 無毒化試験

検体を 0.017mol/L リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液 (pH7.0) で薄めて 1 mL 中にトキシイドの 100Lf を含むようにしたもの、及び最終バルクと同等以上で 50Lf を超えない濃度 となるようにして 37°C に 20 日間置いたものをそれぞれ試料とし、3. 2. 5 を準用する。

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 2. 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、6.6 ~ 7.4 でなければならない。

3. 2. 2 ~ 3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 力価試験

(略)

3. 2. 6. 1 (略)

3. 2. 6. 1. 1 ~ 3. 2. 6. 1. 3 (略)

3. 2. 6. 2 血中抗毒素価測定法

3. 2. 6. 2. 1 材料

検体、標準品及び結合価既知の毒素液を用いる。これらの希釈は、3. 2. 6. 1. 1を準用して行う。

3. 2. 5. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 5. 1. 2を準用して行う。

免疫注射の4～6週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価をマウス法によって測定するときは、一般試験法の破傷風抗毒素価測定法を準用する。ただし、試験に用いる標準品は、標準破傷風抗毒素を用いる。

3. 2. 5. 2. 3 判定

3. 2. 5. 1. 3を準用する。

3. 2. 6 表示確認試験

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）を用いた抗体変量法による試験管内沈降反応その他の適当な免疫学的方法によって行う。

（削る）

沈降破傷風トキソイド

1 本質及び性状

本剤は、『破傷風トキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含む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

（略）

2. 2 原液

（略）

2. 3 （略）

3 試験

3. 1 （略）

3. 2 小分製品の試験

（削る）

3. 2. 6. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 6. 1. 2を準用して行う。

免疫注射の4～6週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価をマウス法によって測定するときは、一般試験法の破傷風抗毒素価測定法を準用する。ただし、試験に用いる標準品は、標準破傷風抗毒素を用いる。

3. 2. 6. 2. 3 判定

3. 2. 6. 1. 3を準用する。

3. 2. 7 表示確認試験

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）を用い、抗体変量法による試験管内沈降反応によって行う。

4 有効期間

有効期間は、2年とする。

沈降破傷風トキソイド

1 本質及び性状

本剤は、破傷風毒素をホルマリンでその免疫原性をなるべく損なわないうに無毒化して得られた『破傷風トキソイド』（以下「トキソイド」という。）を含む液にアルミニウム塩を加えてトキソイドを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

（略）

2. 2 原液

（略）

2. 3 （略）

3 試験

3. 1 （略）

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

(削る)

3. 2. 1 ~ 3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 無毒化試験

破傷風トキソイド3. 2. 4を準用する.

3. 2. 6 力価試験

破傷風トキソイド3. 2. 5を準用する. ただし, 3. 2. 5. 1. 1の標準破傷風トキソイドとあるのは, 標準沈降破傷風トキソイドとし, 検体及び標準品の希釈は生理食塩液による. 3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は40国際単位以上とする.

3. 2. 7 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として, 破傷風トキソイド3. 2. 6を準用する.

(削る)

乾燥はぶウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 ~ 3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 5を準用する.

3. 2 小分製品の試験

3. 2. 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, 5.4~7.4でなければならない.

3. 2. 2 ~ 3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 無毒化試験

破傷風トキソイド3. 2. 5を準用する.

3. 2. 7 力価試験

破傷風トキソイド3. 2. 6を準用する. ただし, 3. 2. 6. 1. 1の標準破傷風トキソイド(以下「標準品」という.)とあるのは, 標準沈降破傷風トキソイド(以下「標準品」という.)とし, 検体及び標準品の希釈は生理食塩液による. 3. 2. 6. 1. 3の検体の力価は40国際単位以上とする.

3. 2. 8 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として, 破傷風トキソイド3. 2. 7を準用する.

4 有効期間

有効期間は, 2年とする.

乾燥はぶウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1 ~ 3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 7を準用する.

3. 2 小分製品の試験

(削る)
3. 2. 1 (略)
(削る)
3. 2. 2・3. 2. 3 (略)
(削る)
3. 2. 4 (略)
3. 2. 5 (略)
3. 2. 5. 1 (略)
3. 2. 5. 1. 1～3. 2. 5. 1. 3 (略)
3. 2. 5. 2 (略)
3. 2. 5. 2. 1～3. 2. 5. 2. 3 (略)
3. 2. 6 (略)
4・5 (略)
(略)
沈降精製百日せきワクチン
1 (略)
2 製法
2. 1 原材料
2. 1. 1 製造用株
承認された百日せき菌 I 相菌株を用いてシードロットを作製する。
2. 1. 2 (略)
2. 2 原液
(略)
2. 3 最終バルク
原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、アルミニウム塩を加え、3. 2. 8の力価試験に適合するようにして作る。ただし、百

小分製品について、次の試験を行う。
3. 2. 1 (略)
3. 2. 2 pH試験
一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.4でなければならない。
3. 2. 3・3. 2. 4 (略)
3. 2. 5 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. 2. 6 (略)
3. 2. 7 (略)
3. 2. 7. 1 (略)
3. 2. 7. 1. 1～3. 2. 7. 1. 3 (略)
3. 2. 7. 2 (略)
3. 2. 7. 2. 1～3. 2. 7. 2. 3 (略)
3. 2. 8 (略)
4・5 (略)
(略)
沈降精製百日せきワクチン
1 (略)
2 製法
2. 1 原材料
2. 1. 1 製造用株
百日せき菌 I 相菌を用いる。
2. 1. 2 (略)
2. 2 原液
(略)
2. 3 最終バルク
原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、アルミニウム塩を加え、3. 2. 9の力価試験に適合するようにして作る。ただし、精

日せき菌の防御抗原の含量はたん白窒素として1 mL中に20 μ g以下でなければならない。適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 マウスヒスタミン増感試験

最終バルクと等濃度としたものを試料とする。検体を希釈する場合は、生理食塩液を用いる。

3. 2. 7を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3. 2 小分製品の試験

(削る)

3. 2. 1～3. 2. 6 (略)

3. 2. 7 (略)

3. 2. 7. 1～3. 2. 7. 3 (略)

3. 2. 8 力価試験

(略)

3. 2. 8. 1 材料

検体、標準百日せきワクチン(以下「標準品」という。)及び百日せき菌18323株(以下「攻撃株」という。)を用いる。

検体及び標準品の希釈は生理食塩液を用いる。

攻撃株を血液加カンテン培地で適当な時間培養し、1w/v%カゼイン製ペプトン加0.6w/v%塩化ナトリウム溶液(pH7.0～7.2)又は1w/v%カザミノ酸加0.6w/v%塩化ナトリウム溶液(pH7.0～7.2)に浮遊して、0.025mL中に約200LD₅₀の菌を含むようにしたもの(以下「攻撃用菌浮遊液」という。)を作る。

3. 2. 8. 2・3. 2. 8. 3 (略)

製百日せきワクチンの含量はたん白窒素として1 mL中に20 μ g以下でなければならない。適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 マウスヒスタミン増感試験

最終バルクと等濃度としたものを試料とする。検体を希釈する場合は、生理食塩液を用いる。

3. 2. 8を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3. 2 小分製品の試験

3. 2. 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、5.4～7.4でなければならない。

3. 2. 2～3. 2. 7 (略)

3. 2. 8 (略)

3. 2. 8. 1～3. 2. 8. 3 (略)

3. 2. 9 力価試験

(略)

3. 2. 9. 1 材料

検体、標準百日せきワクチン(以下「標準品」という。)及び百日せき菌18323株(以下「攻撃株」という。)を用いる。

検体及び標準品の希釈は生理食塩液を用いる。

攻撃株を血液加カンテン培地で約24時間培養し、1w/v%カゼイン製ペプトン加0.6w/v%塩化ナトリウム溶液(pH7.0～7.2)又は1w/v%カザミノ酸加0.6w/v%塩化ナトリウム溶液(pH7.0～7.2)に浮遊して、0.025mL中に約200LD₅₀の菌を含むようにしたもの(以下「攻撃用菌浮遊液」という。)を作る。

3. 2. 9. 2・3. 2. 9. 3 (略)

3. 2. 9 (略)

(削る)

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原、『ジフテリアトキソイド』及び『破傷風トキソイド』を含む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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 最終バルク

百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドを緩衝性の生理食塩液等で希釈し、アルミニウム塩を加えた最終バルクを作る。ただし、百日せき菌の防御抗原の含量はたん白窒素として1 mL中に20 μ g以下、ジフテリアトキソイドの含量は1 mL中に50Lf以下、また、破傷風トキソイドの含量は1 mL中に20Lf以下となるようにする。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

(削る)

(削る)

3. 2. 1～3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 エンドトキシン試験

3. 2. 10 (略)

4 有効期間

有効期間は、2年とする。

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原を含む液及び『ジフテリアトキソイド』並びに『破傷風トキソイド』を含む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

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 最終バルク

それぞれの原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、沈降精製百日せきワクチン2. 3及び沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド2. 3にそれぞれ適合するようにして作る。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う。

3. 2. 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、5.4～7.4でなければならない。

3. 2. 2～3. 2. 5 (略)

3. 2. 6 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

4. 0EU/mL 以下でなければならない。

3. 2. 6 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 2. 7 を準用する。

3. 2. 7 ジフテリア毒素無毒化試験

ジフテリアトキソイド 3. 2. 4 を準用する。ただし、検体を 37°C に 20 日間置いた試料についての試験を除く。

3. 2. 8 破傷風毒素無毒化試験

破傷風トキソイド 3. 2. 4 を準用する。ただし、検体を 37°C に 20 日間置いた試料についての試験を除く。また、1 匹当たり検体 3 mL を皮下に注射する。

3. 2. 9 力価試験

3. 2. 9. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 2. 8 を準用する。

(削る)

(削る)

沈降精製百日せきワクチン 3. 2. 6 を準用して試験するとき

4. 0EU/mL 以下でなければならない。

3. 2. 7 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 2. 8 を準用する。

3. 2. 8 ジフテリア毒素無毒化試験

ジフテリアトキソイド 3. 2. 5 を準用する。ただし、検体を 37°C に 20 日間置いた試料についての試験を除く。

3. 2. 9 破傷風毒素無毒化試験

体重 300~400 g のモルモット 4 匹以上を用い、1 匹当たり検体 3 mL を皮下に注射して 21 日間以上観察する。この間、いずれの動物も破傷風毒素による中毒死、けいれん、強直等の中毒症状、著しい体重減少その他の異常を示してはならない。

3. 2. 10 力価試験

3. 2. 10. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

マウスを用い、脳内攻撃法によって試験する。

3. 2. 10. 1. 1 材料

検体、標準百日せきワクチン（以下「標準品」という。）及び百日せき菌 18323 株（以下「攻撃株」という。）を用いる。検体及び標準品の希釈は生理食塩液を用いる。

攻撃株を血液加カンテン培地で約 24 時間培養し、1 w/v %カゼイン製ペプトン加 0.6 w/v %塩化ナトリウム溶液（pH 7.0~7.2）又は 1 w/v %カザミノ酸加 0.6 w/v %塩化ナトリウム溶液（pH 7.0~7.2）に浮遊して、0.025 mL 中に約 200LD₅₀ の菌を含むようにしたもの（以下「攻撃用菌浮遊液」という。）を作る。

3. 2. 10. 1. 2 試験

検体及び標準品をそれぞれ希釈し、これをもととしてそれぞれ 4 倍又は他の適当な対数的等間隔で合計 3 段階希釈以上の希釈を作る。

4 週齢のマウス 16 匹以上を 1 群とし、各希釈に 1 群ずつを用いる。1 匹当たり希釈液 0.5 mL を 1 回腹腔内に注射する

(削る)

3. 2. 9. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準ジフテリアトキソイドとあるのは標準沈降ジフテリアトキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は28国際単位/mL以上とする。

(削る)

. この際、動物は同性のものとするか、又は各群とも両性同数とする。免疫注射の21日後に、それぞれの動物に1匹当たり攻撃用菌浮遊液0.025mLを脳内に注射して、14日間観察する。注射後3日以内に死亡したものは、成績から除外し、14日後に麻痺又は頭がい腫大を示すものは、死亡に算入する。

また、別の7週齢のマウス10匹以上を1群とし、その3群以上を用いて攻撃用菌浮遊液のLD₅₀数を測定するとき、1LD₅₀中に含まれる菌数は50~400個/マウスでなければならない。ただし、光学濁度測定法において1mL中に100億個の新鮮菌を含む浮遊液の濁度は、10濁度単位に相当するものとする。

3. 2. 10. 1. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して比較するとき、検体の力価は8単位/mL以上でなければならない。

3. 2. 10. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

モルモットを用いる毒素攻撃法若しくは血中抗毒素価測定法又はマウスを用いる血中抗毒素価測定法によって試験する。

3. 2. 10. 2. 1 毒素攻撃法

3. 2. 10. 2. 1. 1 材料

検体、標準沈降ジフテリアトキソイド（以下「標準品」という。）及び適当な毒素液を用いる。検体及び標準品の希釈は、生理食塩液に、また、毒素液の希釈は、0.2w/v%ゼラチン加0.017mol/Lリン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液（pH7.0）による。

3. 2. 10. 2. 1. 2 試験

検体及び標準品をそれぞれ希釈し、対数的等間隔の段階希釈を作る。

(削る)

3. 2. 9. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

破傷風トキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準破傷風トキソイドとあるのは、標準沈降破傷

体重 300～400 g のモルモット 10 匹以上を 1 群とし、検体及び標準品の各希釈に 1 群ずつを用い、1 匹当たり 2 mL を 1 回皮下に注射する。免疫注射の 4～6 週間後に、それぞれの動物を約 50LD₅₀ の毒素で攻撃して、7 日間観察する。

別に体重 400～600 g のモルモット 3 匹以上を 1 群とし、その 3 群以上を用いて攻撃に用いた毒素の LD₅₀ 数を測定するとき、その値は 25～100 でなければならない。

3. 2. 10. 2. 1. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して比較するとき、検体の力価は 28 国際単位/mL 以上でなければならない。

3. 2. 10. 2. 2 血中抗毒素価測定法

ウサギ皮内法、培養細胞法又は血球凝集反応法によって行う。

3. 2. 10. 2. 2. 1 材料

検体、標準品、標準ジフテリア抗毒素及び結合価既知の毒素液を用いる。ただし、血球凝集反応法により行うときには、純度 2500Lf/mgN 以上のジフテリア毒素又はトキソイドの感作血球を用いる。

3. 2. 10. 2. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 10. 2. 1. 2 を準用して行う。ただし、マウスを用いるときは 5 週齢のマウス 10 匹以上を 1 群とし、検体及び標準品の各希釈に 1 群ずつを用い、1 匹当たり 0.5 mL を皮下に注射する。免疫注射の 4～6 週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価を測定する。

3. 2. 10. 2. 2. 3 判定

3. 2. 10. 2. 1. 3 を準用する。

3. 2. 10. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

モルモット又はマウスを用い、毒素攻撃法又は血中抗毒素価測定法によって試験する。

風トキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による
3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は18 国際単位/mL 以上と
する。

(削る)

(削る)

3. 2. 10. 3. 1 毒素攻撃法

3. 2. 10. 3. 1. 1 材料

検体、標準沈降破傷風トキソイド（以下「標準品」という。）及び適当な毒素液を用いる。検体及び標準品の希釈は、生理食塩液に、また、毒素液の希釈は、0.2w/v%ゼラチン加0.017mol/Lリン酸塩緩衝塩化ナトリウム液（pH7.0）による。

3. 2. 10. 3. 1. 2 試験

検体及び標準品をそれぞれ希釈し、対数的等間隔の段階希釈を作る。

体重300～400gのモルモット又は5週齢のマウス10匹以上を1群とする。検体及び標準品の各希釈に1群ずつを用い、1匹当たりモルモットでは2mL、マウスでは0.5mLを1回皮下に注射する。免疫注射の4～6週間後に、それぞれのモルモットを約50LD₅₀の毒素で、又はそれぞれのマウスを約100LD₅₀の毒素で攻撃して、4日間観察する。また、非免疫対照群の体重400～600gのモルモット又は免疫マウスと週齢をあわせたマウス3匹以上を1群とし、その3群以上を用いて攻撃に用いた毒素のLD₅₀数を測定するとき、その値は、モルモットでは25～100、マウスでは50～200でなければならない。

3. 2. 10. 3. 1. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して比較するとき、検体の力価は18 国際単位/mL 以上でなければならない。

3. 2. 10. 3. 2 血中抗毒素価測定法

3. 2. 10. 3. 2. 1 材料

検体、標準品及び結合価既知の毒素液を用いる。これらの希釈は3. 2. 10. 3. 1. 1を準用して行う。

3. 2. 10 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、沈降精製百日せきワクチン3. 2. 9、ジフテリアトキソイド3. 2. 6及び破傷風トキソイド3. 2. 6をそれぞれ準用する。

(削る)

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原、『ジフテリアトキソイド』、『破傷風トキソイド』並びに不活化したⅠ型、Ⅱ型及びⅢ型ポリオウイルス（以下この条において「不活化ポリオウイルス」という。）を含む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

沈降精製百日せきワクチン2. 1、ジフテリアトキソイド2. 1、破傷風トキソイド2. 1及び不活化ポリオワクチン2. 1をそれぞれ準用する。

(削る)

3. 2. 10. 3. 2. 2 試験

動物の免疫は、3. 2. 10. 3. 1. 2を準用して行う。

免疫注射の4～6週間後にそれぞれの動物から採血し、血中抗毒素価をマウス法によって測定する。

3. 2. 10. 3. 2. 3 判定

3. 2. 10. 3. 1. 3を準用する。

3. 2. 11 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、沈降精製百日せきワクチン3. 2. 10、沈降ジフテリアトキソイド3. 2. 8及び沈降破傷風トキソイド3. 2. 8をそれぞれ準用する。

4 有効期間

有効期間は、承認された期間とする。特に定めのない場合は2年とする。

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド並びに不活化したⅠ型、Ⅱ型及びⅢ型弱毒ポリオウイルス（以下この条において「不活化ポリオウイルス」という。）を含む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

(新設)

2. 1. 1 百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド及び破傷風トキソイドの原材料

沈降精製百日せきワクチン2. 1、ジフテリアトキソイド2.

(削る)

2. 2 原液

沈降精製百日せきワクチン2. 2, ジフテリアトキソイド2. 2, 破傷風トキソイド2. 2及び不活化ポリオワクチン2. 2をそれぞれ準用する.

(削る)

(削る)

1及び破傷風トキソイド2. 1をそれぞれ準用する.

2. 1. 2 不活化ポリオウイルスの原材料

2. 1. 2. 1 ウイルス・シードロット

I型のポリオウイルスにあつてはLS - c, 2 a b株, II型のポリオウイルスにあつてはP712, Ch, 2 a b株, III型のポリオウイルスにあつてはLeon, 12 a₁ b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.

2. 1. 2. 2 セル・バンク

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.

2. 1. 2. 3 培養液

細胞培養には, 適当な細胞増殖因子, 0.002w/v%以下のフェノールレッド及び必要最小量の抗生物質を加えることができる. ただし, ペニシリンを加えてはならない.

2. 2 原液

(新設)

2. 2. 1 百日せき菌の防御抗原を含む原液, ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液

沈降精製百日せきワクチン2. 2, ジフテリアトキソイド2. 2及び破傷風トキソイド2. 2をそれぞれ準用する.

2. 2. 2 不活化ポリオウイルス

2. 2. 2. 1 細胞培養

細胞培養は, 凍結保存されたセル・バンクから行い, かつ, その継代数が所定の継代数を超えてはならない.

培養細胞について, 3. 2. 1の試験を行う.

2. 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

2. 3 最終バルク

百日せき菌の防御抗原，ジフテリアトキソイド，破傷風トキソイド及び不活化ポリオウイルスの単価バルク又は混合バルクを緩衝性の生理食塩液等で希釈し，アルミニウム塩を加えた最終バルクを作る。ただし，百日せき菌の防御抗原の含量はたん白窒素として1 mL 中に 20 μ g 以下，ジフテリアトキソイドの含量は1 mL 中に 50Lf 以下，また，破傷風トキソイドの含量は1 mL 中に 20Lf 以下となるようにする。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

3. 1 培養細胞の試験

不活化ポリオワクチン 3. 1 を準用する。

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

不活化ポリオワクチン 3. 2 を準用する。

3. 3 原液の試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 1，ジフテリアトキソイド 3. 1，破傷風トキソイド 3. 1 及び不活化ポリオワクチン 3. 3 をそれぞれ準用する。ただし，百日せき菌の防御抗原を含む原液のマウスヒスタミン増感試験を行うとき，マウスヒスタミン増感活性は 0. 8HSU/mL 以下でなければならない。また，不活化ポリオ

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. 2 の試験を行う。

2. 2. 2. 3 精製ウイルス浮遊液

ウイルス浮遊液を適当な方法で濃縮，精製及びろ過したものを精製ウイルス浮遊液とする。

精製ウイルス浮遊液について，3. 2. 3 の試験を行う。

2. 2. 2. 4 単価バルク

精製ウイルス浮遊液を適当な方法で不活化し，これを単価バルクとする。

単価バルクについて，3. 2. 4 の試験を行う。

2. 3 最終バルク

百日せき菌の防御抗原，ジフテリアトキソイド，破傷風トキソイド及び不活化ポリオウイルスの単価バルクを緩衝性の生理食塩液等で希釈し，アルミニウム塩を加えて最終バルクを作る。適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

3 試験

(新設)

(新設)

3. 1 百日せき菌の防御抗原を含む原液，ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液の試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 1，ジフテリアトキソイド 3. 1 及び破傷風トキソイド 3. 1 をそれぞれ準用する。ただし，百日せき菌の防御抗原を含む原液のマウスヒスタミン増感試験を行うとき，マウスヒスタミン増感活性は 0. 8HSU/mL 以下でなければならない。

ウイルス単価バルクのエンドトキシン試験は、最終バルクと等濃度以上としたものを試料として行い、エンドトキシン含量は0.4EU/mL以下でなければならない。

(削る)

3. 2 不活化ポリオウイルスの試験

3. 2. 1 培養細胞の試験

培養細胞のうち試験に必要な量を対照培養細胞とし、ポリオウイルスを接種することなく、適当な条件で培養し観察する。この間、外来性ウイルスによる細胞変性を認めてはならない。また、対照培養細胞の20%以上が非特異的又は偶発的事由により観察ができなくなることがあってはならない。

3. 2. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 2. 1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法及びマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、それぞれに適合しなければならない。

3. 2. 2. 2 同定試験

I型、II型及びIII型のポリオウイルスにそれぞれ特異的な抗ウイルス免疫血清を用い、検体中のポリオウイルスの型を同定する。

3. 2. 3 精製ウイルス浮遊液の試験（細胞由来DNA含量試験）

製造用細胞株又は製造用細胞と同種の細胞株由来のDNAを用い検量線を作成し、小分製品と等濃度に希釈したとき、検体中の細胞由来DNAの量は1回接種量（0.5mL）当たり10ng以下でなければならない。

3. 2. 4 単価バルクの試験

3. 2. 4. 1 不活化試験

検体は、少なくとも単価バルクの全量の1%又は1500回接種に相当する量を採取する。その採取した検体について、混在する不活化剤等の培養細胞に対する変性効果を除くため、適当な緩衝剤を含む溶液等の十分な量を用いて透析したものを試料とする。

3. 4 小分製品の試験
(削る)

3. 4. 1～3. 4. 4 (略)

3. 4. 5 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン3. 2. 7を準用する。ただし、マウスヒスタミン増感活性は0.8HSU/mL以下でなければならない。

3. 4. 6 ジフテリア毒素無毒化試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 4を準用する。ただし、検体を37°Cに20日間置いた試料についての試験を除く。

試料をアフリカミドリザル腎細胞又はこれと同等以上の感受性を有する適当な培養細胞に接種し、21日間培養観察する。この際、試料1mLにつきその腎細胞又は培養細胞3cm²以上を用いる。この間、細胞変性を認めてはならない。

なお、必要に応じて、検体に各単価バルクを混合したものを
用いることができる。

3. 2. 4. 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. 2. 4. 3 エンドトキシン試験

最終バルクと等濃度以上としたものを試料とする。検体を希
釈する場合は、エンドトキシン試験用水を用いる。

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、0.4EU/mL以下でなければならない。

3. 2. 4. 4 比抗原量試験 (たん白質含量/D抗原量)

酵素免疫測定法等の適当な免疫学的方法によりD抗原量を測
定する。一般試験法のたん白質定量法を準用して試験するとき
、たん白質含量はD抗原量1DU当たり0.1μg以下でなければな
らない。

3. 3 小分製品の試験

3. 3. 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、承認された
判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 2～3. 3. 5 (略)

3. 3. 6 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン3. 2. 8を準用する。ただし、マウスヒスタミン増感活性は0.8HSU/mL以下でなければならない。

3. 3. 7 ジフテリア毒素無毒化試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 8を
準用する。

3. 4. 7 破傷風毒素無毒化試験

破傷風トキソイド3. 2. 4を準用する。ただし、検体を37℃に20日間置いた試料についての試験を除く。また、1匹当たり検体3mLを皮下に注射する。

3. 4. 8 力価試験

3. 4. 8. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

沈降精製百日せきワクチン3. 2. 8を準用する。

3. 4. 8. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

ジフテリアトキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準ジフテリアトキソイドとあるのは標準沈降ジフテリアトキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は28国際単位/mL以上とする。

3. 4. 8. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

破傷風トキソイド3. 2. 5を準用する。ただし、3. 2. 5. 1. 1の標準破傷風トキソイドとあるのは、標準沈降破傷風トキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3の検体の力価は18国際単位/mL以上とする。

3. 4. 8. 4 不活化ポリオウイルスの力価試験

不活化ポリオワクチン3. 5. 4を準用する。ただし、3. 5. 4. 2D抗原含量試験を行う場合は、検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料とする。

(削る)

3. 3. 8 破傷風毒素無毒化試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 9を準用する。

3. 3. 9 力価試験

3. 3. 9. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10. 1を準用する。

3. 3. 9. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10. 2を準用する。

3. 3. 9. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10. 3を準用する。

3. 3. 9. 4 不活化ポリオウイルスの力価試験

ラットを免疫し、得られた血清中の中和抗体価を型別に測定する。

3. 3. 9. 4. 1 材料

検体、参照不活化ポリオワクチン（セービン株）及び攻撃用ウイルスを用いる。

また、ポリオウイルスに感受性を有する細胞を指標細胞とし、これを適当な培地で希釈したものを細胞浮遊液とする。

攻撃用ウイルスを適当な培地で希釈し、これを攻撃用ウイルス浮遊液とする。

(削る)

(削る)

3. 4. 9 表示確認試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料として、沈降精製百日せきワクチン3. 2. 9, ジフテリアトキソイド3. 2. 6, 破傷風トキソイド3. 2. 6及び不活化ポリオワクチン3. 5. 5を準用する。

(削る)

(削る)

3. 3. 9. 4. 2 試験

検体及び参照品をそれぞれ希釈し、対数的等間隔の希釈を作る。

8週齢のラット10匹以上を1群とし、各希釈に1群ずつを用いる。1匹当たり0.5mLを筋肉内に注射する。注射の20～22日後に、個体別に全ての動物から採血する。各群の個体別血清を適当な培地で希釈し、希釈血清と攻撃用ウイルス浮遊液の等量を混合する。その後、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で3時間置いた後、 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ で一夜置く。細胞浮遊液を添加し、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で7日間培養する。培養終了後、細胞変性の有無を観察し、50%中和点の血清希釈倍数を算出し、その逆数を中和抗体価とする。

攻撃用ウイルス浮遊液の感染価を測定するとき、その値は $32 \sim 320\text{CCID}_{50}/0.05\text{mL}$ でなければならない。

3. 3. 9. 4. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して比較するとき、承認された判定基準の下限值以上でなければならない。

3. 3. 10 表示確認試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 11を準用する。なお、不活化ポリオウイルスについては、血清学的方法により行う。

4 有効期間

有効期間は、承認された期間とする。

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（ソークワクチン）混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド並びに不活化したⅠ型、Ⅱ型及びⅢ型のポリオウイルス（以下この条において「不活化ポリオウイルス」という。）を含む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

沈降精製百日せきワクチン 2. 1, ジフテリアトキソイド 2. 1, 破傷風トキソイド 2. 1 及び不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 2. 1 をそれぞれ準用する。

2. 2 原液

沈降精製百日せきワクチン 2. 2, ジフテリアトキソイド 2. 2, 破傷風トキソイド 2. 2 及び不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 2. 2 をそれぞれ準用する。

2. 3 最終バルク

百日せき菌の防御抗原, ジフテリアトキソイド, 破傷風トキソイド及び不活化ポリオウイルスに必要に応じてアルミニウム塩を加え, 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。

3 試験

3. 1 百日せき菌の防御抗原を含む原液, ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液の試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 1, ジフテリアトキソイド 3. 1 及び破傷風トキソイド 3. 1 をそれぞれ準用する。

3. 2 不活化ポリオウイルスの試験

3. 2. 1 培養細胞の試験

不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 3. 1 を準用する。

3. 2. 2 ウイルス浮遊液の試験

不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 3. 2 を準用する。

3. 2. 3 単価バルクの試験

不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 3. 3 を準用する。

3. 2. 4 混合バルクの試験

不活化ポリオワクチン (ソークワクチン) 3. 4 を準用する。

3. 3 小分製品の試験

3. 3. 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、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 2 アルミニウム含量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、1 mL 中 0.3mg 以下でなければならない。

3. 3. 3 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、0.01w/v%以下でなければならない。

3. 3. 4 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. 5 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、4.0EU/mL 以下でなければならない。

3. 3. 6 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン3. 2. 8を準用する。

3. 3. 7 ジフテリア毒素無毒化試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 8を準用する。

3. 3. 8 破傷風毒素無毒化試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 9を準用する。

3. 3. 9 力価試験

3. 3. 9. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10. 1を準用する。

3. 3. 9. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10. 2を準用する。

3. 3. 9. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 10

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオヘモフィ
ルスb型混合ワクチン

1 本質及び性状

本剤は、百日せき菌の防御抗原、『ジフテリアトキソイド』，
『破傷風トキソイド』，不活化したⅠ型，Ⅱ型及びⅢ型ポリオウ
イルス（以下「不活化ポリオウイルス」という。）並びに担体た
ん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体を含む液にアルミニウ
ム塩を加えて，不溶性とした液剤，又は担体たん白質結合型イン
フルエンザ菌b型多糖体の乾燥製剤に，沈降精製百日せきジフテ
リア破傷風不活化ポリオ混合ワクチンを混和させる用時調製の液
剤である。

2 製法

2. 1 原材料

沈降精製百日せきワクチン2. 1，ジフテリアトキソイド2.
1，破傷風トキソイド2. 1，不活化ポリオワクチン2. 1及び
乾燥ヘモフィルスb型ワクチン2. 1をそれぞれ準用する。

2. 2 原液

沈降精製百日せきワクチン2. 2，ジフテリアトキソイド2.
2，破傷風トキソイド2. 2，不活化ポリオワクチン2. 2及び
乾燥ヘモフィルスb型ワクチン2. 2をそれぞれ準用する。

. 3を準用する。

3. 3. 9. 4 不活化ポリオウイルスのD抗原含量試験

検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料と
し，不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）3. 6. 5を準
用する。

3. 3. 10 表示確認試験

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン3. 2. 11
及び不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）3. 6. 6を準用
する。

4 有効期間

有効期間は，承認された期間とする。
（新設）

2. 3 最終バルク

百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、不活化ポリオウイルスの単価バルク又は混合バルク並びに担体たん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、アルミニウム塩を加えた最終バルクを作る。ただし、百日せき菌の防御抗原の含量はたん白窒素として1 mL中に20 μ g以下、ジフテリアトキソイドの含量は1 mL中に50Lf以下、また、破傷風トキソイドの含量は1 mL中に20Lf以下となるようにする。

適当な保存剤及び安定剤を用いることができる。

なお、用時調製の液剤は、沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン2. 3及び乾燥ヘモフィルスb型ワクチン2. 3をそれぞれ準用する。

3 試験

3. 1 培養細胞の試験

不活化ポリオワクチン3. 1を準用する。

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

不活化ポリオワクチン3. 2を準用する。

3. 3 担体たん白質の試験

乾燥ヘモフィルスb型ワクチン3. 1を準用する。

3. 4 原液の試験

沈降精製百日せきワクチン3. 1、ジフテリアトキソイド3. 1、破傷風トキソイド3. 1、不活化ポリオワクチン3. 3及び乾燥ヘモフィルスb型ワクチン3. 2をそれぞれ準用する。ただし、百日せき菌の防御抗原を含む原液のマウスヒスタミン増感試験を行うとき、マウスヒスタミン増感活性は0.8HSU/mL以下でなければならない。また、不活化ポリオウイルス単価バルクのエンドトキシン試験は、最終バルクと等濃度以上としたものを試料として行い、エンドトキシン含量は0.4EU/mL以下でなければならない。

3. 5 小分製品の試験

小分製品について以下の試験を行う。ただし、用時調製の液剤は、沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン3.4及び乾燥ヘモフィルスb型ワクチン3.3をそれぞれ準用するほか、担体たん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体につき、液体クロマトグラフィーその他適当な方法により遊離多糖体含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

なお、担体たん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体の乾燥製剤の溶解は用時調製時と同量の注射用水を用いる。

3.5.1 アルミニウム含量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、1 mL中0.3mg以下でなければならない。

3.5.2 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、0.01w/v%以下でなければならない。

3.5.3 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。

3.5.4 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、44EU/mL以下でなければならない。

3.5.5 マウスヒスタミン増感試験

沈降精製百日せきワクチン3.2.7を準用する。ただし、マウスヒスタミン増感活性は0.8HSU/mL以下でなければならない。

3.5.6 ジフテリア毒素無毒化試験

ジフテリアトキソイド3.2.4を準用する。ただし、検体を37°Cに20日間置いた試料についての試験を除く。

3.5.7 破傷風毒素無毒化試験

破傷風トキソイド3.2.4を準用する。ただし、検体を37°Cに20日間置いた試料についての試験を除く。また、1匹当た

り検体 3 mL を皮下に注射する。

3. 5. 8 力価試験

3. 5. 8. 1 沈降精製百日せきワクチンの力価試験

沈降精製百日せきワクチン 3. 2. 8 を準用する。

3. 5. 8. 2 沈降ジフテリアトキソイドの力価試験

ジフテリアトキソイド 3. 2. 5 を準用する。ただし、3.

2. 5. 1. 1 の標準ジフテリアトキソイドとあるのは標準沈降ジフテリアトキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3 の検体の力価は 28 国際単位/mL 以上とする。

3. 5. 8. 3 沈降破傷風トキソイドの力価試験

破傷風トキソイド 3. 2. 5 を準用する。ただし、3. 2.

5. 1. 1 の標準破傷風トキソイドとあるのは、標準沈降破傷風トキソイドとし、検体及び標準品の希釈は生理食塩液による。3. 2. 5. 1. 3 の検体の力価は 18 国際単位/mL 以上とする。

3. 5. 8. 4 不活化ポリオウイルスの力価試験

不活化ポリオワクチン 3. 5. 4 を準用する。ただし、3.

5. 4. 2 D 抗原含量試験を行う場合は、検体にクエン酸ナトリウム等を加えて溶かしたものを試料とする。

3. 5. 9 多糖体含量試験

検体を加水分解処理し適当な方法で標識した液につき、液体クロマトグラフィー法を用いて検量線法によりリボース含量を求め、リボース含量から検体の多糖含量を算出するとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 5. 10 遊離多糖体含量試験

液体クロマトグラフィーその他適当な方法により遊離多糖体含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 5. 11 表示確認試験

検体又は検体を必要に応じてクエン酸ナトリウム等を加えて溶

かしたものを試料として、沈降精製百日せきワクチン3. 2. 9, ジフテリアトキソイド3. 2. 6, 破傷風トキソイド3. 2. 6, 不活化ポリオワクチン3. 5. 5及び乾燥ヘモフィルスb型ワクチン3. 3. 5を準用する.

(略)

乾燥ヘモフィルスb型ワクチン (担体たん白質結合型)

1 本質及び性状

本剤は、*Haemophilus influenzae* type b (以下「インフルエンザ菌b型」という。) から抽出精製した 莢膜多糖体であるインフルエンザ菌b型多糖体のポリリボシルリビトールリン酸を破傷風トキソイド又は無毒性変異ジフテリア毒素 (以下「CRM₁₉₇」という。) と共有結合させた担体たん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体を含む乾燥製剤である。溶剤を加えるとき、無色澄明な液剤となる。

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

承認されたインフルエンザ菌b型株並びに破傷風菌株又はCRM₁₉₇産生株を用いてシードロットを作製する.

2. 1. 2 培地

インフルエンザ菌b型の培養に用いる培地には、高分子量の多糖及び人体に高度のアレルギーを起こすおそれのあるものを加えてはならない。また、血液由来成分を加えた培地を用いた場合は、適当な方法により血液成分を除去しなければならない。

破傷風菌及びCRM₁₉₇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又は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 インフルエンザ菌b型多糖体

2. 2. 1. 1 菌の培養

(略)

乾燥ヘモフィルスb型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)

1 本質及び性状

本剤は、*Haemophilus influenzae* type b (以下「インフルエンザ菌b型」という。) から抽出精製した 莢膜多糖体であるインフルエンザ菌b型多糖のポリリボシルリビトールリン酸に、破傷風トキソイドを共有結合させた破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌b型多糖を含む乾燥製剤である。溶剤を加えるとき、無色澄明な液剤となる。

2 製法

2. 1 原材料

2. 1. 1 製造用株

インフルエンザ菌b型株及び破傷風菌 Harvard 株又はこれと同等以上の毒素産生能を持つ株を用いる.

2. 1. 2 培地

インフルエンザ菌b型の培養に用いる培地には、高分子量の多糖を加えてはならない。また、血液由来成分を加えた培地を用いた場合は、適当な方法により血液成分を除去しなければならない。

破傷風菌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又は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 インフルエンザ菌b型多糖体

2. 2. 1. 1 菌の培養

インフルエンザ菌 b 型株を培養する。培養終了後、適当な培養法によって検査するとき、他の細菌の混入を認めてはならない。

2. 2. 1. 2 精製

培養液を遠心分離して得られた培養上清から適当な方法で莢膜多糖体を精製し、インフルエンザ菌 b 型多糖体とする。

(削る)

2. 2. 2 担体たん白質

2. 2. 2. 1 又は 2. 2. 2. 2 による。

2. 2. 2. 1 破傷風トキソイド

2. 2. 2. 1. 1 菌の培養

破傷風菌株を培養する。培養終了後、適当な方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。

2. 2. 2. 1. 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。トキソイド化の前あるいは後に精製濃縮し、精製破傷風トキソイドを得る。精製破傷風トキソイドについて、3. 1. 1 の試験を行う。

2. 2. 2. 2 精製 CRM₁₉₇

2. 2. 2. 2. 1 菌の培養

CRM₁₉₇ 産生株を培養する。培養終了後、適当な方法によ

インフルエンザ菌 b 型株を $37 \pm 2^\circ\text{C}$ で培養する。培養終了後、鏡検及び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。

2. 2. 1. 2 静菌、抽出及び精製

培養液にホルマリンを添加してインフルエンザ菌 b 型株の増殖を停止する。次に、遠心操作によって得られた培養上清にセトリミドを添加して莢膜多糖を抽出し、フェノールあるいはエタノール処理等によって精製後乾燥しインフルエンザ菌 b 型多糖体 (以下「PRP」という。)とする。

2. 2. 1. 3 インフルエンザ菌 b 型多糖 AH 誘導体

PRP に臭化シアンを加え活性化した後、アジピン酸ジヒドラジドを反応させ、限外ろ過等の方法で濃縮したものを、インフルエンザ菌 b 型多糖 AH 誘導体 (以下「PRP - AH」という。)液とする。

PRP - AH 液について、3. 1 の試験を行う。

(新設)

2. 2. 2 破傷風トキソイド

2. 2. 2. 1 菌の培養

破傷風菌 Harvard 株を $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で培養する。培養終了後、鏡検及び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。

2. 2. 2. 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。トキソイド化の前あるいは後に精製しなければならない。精製後のトキソイドは限外ろ過等により濃縮する。この精製トキソイドを含む液を濃縮破傷風トキソイド液とする。濃縮破傷風トキソイド液について、3. 2 の試験を行う。

(新設)

って検査するとき、他の細菌の混入を認めてはならない。

2. 2. 2. 2. 2 精製

ろ過等により菌体及び菌体残渣を除き、塩析法その他適当な方法により精製し、精製CRM₁₉₇とする。精製CRM₁₉₇について、3. 1. 2の試験を行う。

2. 2. 3 担体たん白質結合型インフルエンザ菌b型多糖体

適当な方法でインフルエンザ菌b型多糖体を活性化し、精製破傷風トキソイド又は精製CRM₁₉₇と共有結合させ、適当な方法により精製したものを原液とする。

原液について、3. 2の試験を行う。

2. 3 最終バルク及び乾燥

原液を必要に応じて希釈して最終バルクを作る。この際、適当な賦形剤等を加えることができる。最終バルクは3. 3. 4の試験に適合するように希釈する。最終バルクを分注し、凍結乾燥する。

3 試験

3. 1 担体たん白質の試験

担体たん白質の種類に応じて3. 1. 1又は3. 1. 2の試験を行う。

(削る)

3. 1. 1 精製破傷風トキソイドの試験

3. 1. 1. 1 無毒化試験及び毒性復帰試験

破傷風トキソイド3. 1. 3を準用した試験又は次の試験を行うとき、適合しなければならない。

3. 1. 1. 1. 1 無毒化試験

検体を800Lf/mLに希釈し、体重250~350gのモルモット

2. 2. 3 破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌b型多糖

エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド(以下「EDAC」という。)存在下、PRP-AHと濃縮破傷風トキソイドとを結合させ、シヨ糖密度勾配遠心分画法で精製する。これを緩衝液等で希釈したものを破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌b型多糖(以下「PRP-T」という。)液とし原液とする。

原液について、3. 3の試験を行う。

2. 3 最終バルク及び乾燥

原液を必要であれば希釈して最終バルクを作る。この際、適当な賦形剤等を加えることができる。最終バルクは3. 4. 5の試験に適合するように希釈する。最終バルクを分注し、凍結乾燥する。

3 試験

3. 1 PRP-AH液の試験

(新設)

3. 1. 1 シアン化物含量試験

日本薬局方一般試験法のガスクロマトグラフィーを準用して、PRP-AH液のシアン化物含量を求めるとき、5µg/mL以下でなければならない。

3. 2 濃縮破傷風トキソイド液の試験

3. 2. 1 無毒化試験及び毒性否定試験

(新設)

3. 2. 1. 1 無毒化試験

最終バルクの濃度と推定される濃度である15Lf/mLになる

5匹を用い、1匹当たり2.5mLを皮下に注射して21日間観察する。

3. 1. 1. 1. 2 毒性復帰試験

15Lf/mLになるように検体を希釈したものを2本用意し、37±1℃及び5±3℃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250～350gのモルモット5匹を用い、1匹当たり5mLを皮下に注射して21日間観察する。

3. 1. 1. 1. 3 判定

無毒化試験及び毒性復帰試験（以下この条において「両試験」という。）について破傷風毒素由来の症状や死亡例を認めない場合は、両試験に適合とし、両試験で合計1匹以上が中毒症状を示した場合又は中毒により死亡した場合は不適とする。両試験で合計1匹以上が不特定の要因で死亡した場合は再試験を実施し、当該試験で1匹以上が死亡した場合は不適とする。

3. 1. 1. 2 純度試験

日本薬局方一般試験法の窒素定量法（セミマイクロケルダール法）その他適当な方法によりたん白窒素含量を求める。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て抗体変量法による試験管内沈降法によってLfを求めるとき、たん白窒素1mgにつきトキシイド1500Lf以上を含まなければならない。

3. 1. 2 精製CRM₁₉₇の試験

3. 1. 2. 1 ジフテリア毒素否定試験

ADPリボシルトランスフェラーゼ活性試験又はVer_o細胞毒性試験を行う。ただし、製造工程のバリデーション並びに適切な工程管理及び品質管理の試験検査に関する記録によりジフテリア毒素活性が否定できる場合にはこの限りではない。

ように検体を希釈したものを2本用意し、37±1℃及び5±3℃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250～350g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21日間観察する。

3. 2. 1. 2 毒性否定試験

検体を800Lf/mLに希釈し、体重250～350gの健康なモルモット5匹を用い、1匹当たり2.5mLを皮下に注射して21日間観察する。

3. 2. 1. 3 判定

無毒化試験及び毒性否定試験（以下この条において「両試験」という。）について破傷風トキシイド由来の症状や死亡例を認めない場合は、両試験に適合とし、両試験で合計1匹以上が中毒症状を示すか又は中毒により死亡した場合は不適とする。両試験で合計1匹以上が不特定の要因で死亡した場合は再試験を実施し、当該試験で1匹以上が死亡した場合は不適とする。

3. 2. 2 純度試験

40w/v%トリクロロ酢酸により沈殿化し、日本薬局方一般試験法の窒素定量法（セミマイクロケルダール法）を準用して試験するとき又はこれと同等の方法によりたん白窒素含量を測定し、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て抗体変量法による試験管内沈降法によってLfを測定するとき、たん白窒素1mgにつきトキシイド1500Lf以上を含まなければならない。

(新設)

3. 1. 2. 1. 1 ADPリボシルトランスフェラーゼ活性試験

¹⁴C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求めるとき、ジフテリア毒素に対する検体の活性は承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 1. 2. 1. 2 Ver o細胞毒性試験

検体及びジフテリア毒素溶液を適当な培地で承認された濃度に希釈し、試料溶液及び比較液とする。Ver o細胞に適当な培地を加えた後、試料溶液及び比較液を接種し、適当な条件下で培養する。各培養液に適当な酵素及び発光基質を加え、発光量を求めるとき、細胞毒性は承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 1. 2. 2 純度試験

サイズ排除クロマトグラフィーその他適当な方法によりCR M₁₉₇の純度を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 2 原液の試験

3. 2. 1 多糖／たん白質比試験

呈色反応による定量法その他適当な方法により多糖体含量を求め、一般試験法のたん白質定量法その他適当な方法により求めたたん白質含量に対する多糖体の含量の比率を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 2. 2 残留溶媒・試薬含量試験

キャピラリー電気泳動法、吸光光度法その他適当な方法によりシアン化物、フェノール、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルプロピル) 尿素等の

3. 3 原液の試験

3. 3. 1 多糖／たん白質比試験

原液及び乾燥ヘモフィルスb型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)用リン酸標準液(リンとして50µg/mL)を無機化処理し、適当な方法で呈色した液につき、対照溶液に対して波長825nmにおける吸光度を測定し、原液中のリン含量を求め、このリン含量より多糖含量を計算して求める。また、たん白質含量は、一般試験法のたん白質定量法を準用し又はこれと同等の方法により試験を行う。更にたん白質含量に対する多糖含量の割合を求めるとき、0.30~0.55でなければならない。

3. 3. 2 EDU及びEDAC含量試験

原液につき、キャピラリー電気泳動法により試験を行い、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルプロピル) 尿素(EDU)含量及びEDAC含量を求めるとき、いずれも10µmol/L未満でなけれ

残留溶媒・試薬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。なお、原液の代わりに適切な中間体を検体とすることができる。

(削る)

3. 2. 3 分子量分布試験

サイズ排除クロマトグラフィーその他適当な方法により分子量分布を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 2. 4 遊離たん白質試験

SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法その他適当な方法により遊離たん白質含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 2. 5 遊離多糖含量試験

液体クロマトグラフィーその他適当な方法により遊離多糖体含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 2. 6 (略)

3. 3 小分製品の試験

3. 3. 1 (略)

(削る)

ばならない。

3. 3. 3 フェノール含量試験

検体、pH9.0のアルカリ緩衝液、4-アミノアンチピリン溶液及びヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム溶液を正確に等量混和し、遮光下10分間静置し試料溶液とする。別に1µg/mLのフェノール標準溶液を検体と同様に操作し標準液とする。別に水を検体と同様に操作し対照液とする。試料溶液及び標準液につき、対照液に対し波長546nmにおける吸光度を測定するとき、試料溶液の吸光度は、標準溶液の吸光度より小さくなければならない。

3. 3. 4 分子サイズ分布試験

原液を希釈し、ポリメタクリレート樹脂を充てんしたカラムを用いたサイズ排除クロマトグラフィーにより試験を行い、分子量 M_w 及び流体力学的半径 R_h を求めるとき、 M_w は 4.2×10^6 Da以上、 R_h は30nm以上でなければならない。

3. 3. 5 遊離破傷風トキソイド含量試験

SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法により遊離破傷風トキソイド含量を求めるとき、1%未満でなければならない。

3. 3. 6 遊離多糖含量試験

超遠心分離した上清を適当に加水分解処理した後、日本薬局方一般試験法の液体クロマトグラフィーを準用して、遊離多糖含量を測定するとき、同様に加水分解処理して測定した総多糖含量に対する遊離多糖含量の割合は20%未満でなければならない。

3. 3. 7 (略)

3. 4 小分製品の試験

3. 4. 1 (略)

3. 4. 2 pH試験

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

3. 3. 2・3. 3. 3 (略)

3. 3. 4 多糖体含量試験

呈色反応による定量法その他適当な方法により多糖体含量を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 5 表示確認試験

二重拡散法（オクタロニー法）その他適当な方法によって担体たん白質結合型インフルエンザ菌 b 型多糖体及び担体たん白質の確認を行う。

4 その他

(削る)

4. 1 別名

本医薬品各条の別名は「乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン」とする。

(削る)

(略)

乾燥ボツリヌスウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 4. 3・3. 4. 4 (略)

3. 4. 5 多糖含量試験

検体及び乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）用リン酸標準液（リンとして 10µg/mL）を無機化処理し、適当な方法で呈色した液につき、対照溶液に対して波長 825nm における吸光度を測定し、検体のリン含量を求める。このリン含量より多糖含量を計算して求めるとき、表示量の 80～120%でなければならない。

3. 4. 6 表示確認試験

二重拡散法（オクタロニー法）等の適当な方法によってインフルエンザ菌 b 型多糖及び破傷風トキソイドの確認を行う。

4 貯法及び有効期間

貯法は、2～8℃とする。

有効期間は、製造日より 3 年とする。

(新設)

5 その他

5. 1 溶剤の添付

添付する溶剤は、0.4%塩化ナトリウム液とする。

(略)

乾燥ボツリヌスウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

- 3. 1 原液の試験
- 3. 1. 1～3. 1. 4 (略)
- 3. 1. 5 抗毒素含量試験
 - 3. 2. 5を準用する.
- 3. 2 小分製品の試験
 - (削る)
 - 3. 2. 1 (略)
 - (削る)
 - 3. 2. 2・3. 2. 3 (略)
 - (削る)
 - 3. 2. 4 (略)
 - 3. 2. 5 (略)
 - 3. 2. 5. 1～3. 2. 5. 3 (略)
 - 3. 2. 6 (略)
- 4 (略)
- 5 その他
 - (略)
 - 不活化ポリオワクチン
 - 1 (略)
 - 2 製法
 - 2. 1 原材料
 - 2. 1. 1 ウイルス・シードロット
 - 承認されたⅠ型、Ⅱ型及びⅢ型のポリオウイルス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。
 - 2. 1. 2 セル・バンク

- 3. 1 原液の試験
- 3. 1. 1～3. 1. 4 (略)
- 3. 1. 5 抗毒素含量試験
 - 3. 2. 7を準用する.
- 3. 2 小分製品の試験
 - 小分製品について、次の試験を行う。
 - 3. 2. 1 (略)
 - 3. 2. 2 pH試験
 - 一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.4でなければならない。
 - 3. 2. 3・3. 2. 4 (略)
 - 3. 2. 5 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. 2. 6 (略)
 - 3. 2. 7 (略)
 - 3. 2. 7. 1～3. 2. 7. 3 (略)
 - 3. 2. 8 (略)
- 4 (略)
- 5 その他
 - (略)
 - 不活化ポリオワクチン (ソークワクチン)
 - 1 (略)
 - 2 製法
 - 2. 1 原材料
 - 2. 1. 1 ウイルス・シードロット
 - Ⅰ型のウイルスにあつては Mahoney 株、Ⅱ型のウイルスにあつてはMEF - 1株、Ⅲ型のウイルスにあつてはSaukett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。
 - 2. 1. 2 セル・バンク

承認された細胞株を用いてセル・バンクを作製する。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。

2. 1. 3 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1～2. 2. 3 (略)

2. 2. 4 混合バルク

I型、II型及びIII型の単価バルクを混合し、これを混合バルクとする。

2. 3 最終バルク

混合バルクを適当な緩衝剤を含む溶液等で希釈し、最終バルクを作る。適当な保存剤及び安定剤を加えることができる。

最終バルクについて、3. 4の試験を行う。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 1 (略)

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。

1) 一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、当該試験に適合しなければならない。ただし、培養法と同等の真度及び精度が確認された核酸増幅法が承認されている場合は、核酸増幅法によって行うことができる。

2) (略)

3. 2. 3 (略)

3. 3 単価バルクの試験

単価バルクについて、以下の試験を行う。なお、混合バルクを検体とすることもできる。

3. 3. 1 不活化試験

検体は、少なくとも単価バルクの全量の1%又は1500回接種

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。

2. 1. 3 (略)

2. 2 原液

2. 2. 1～2. 2. 3 (略)

2. 2. 4 混合バルク

I型、II型及びIII型の単価バルクを混合し、これを混合バルクとする。

混合バルクについて、3. 4の試験を行う。

2. 3 最終バルク

混合バルクを適当な緩衝剤を含む溶液等で希釈し、最終バルクを作る。適当な保存剤及び安定剤を加えることができる。

最終バルクについて、3. 5の試験を行う。

3 試験

3. 1 (略)

3. 2 ウイルス浮遊液の試験

3. 2. 1 (略)

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。

1) 一般試験法のマイコプラズマ否定試験法の核酸増幅法を準用して試験するとき、当該試験に適合しなければならない。

2) (略)

3. 2. 3 (略)

3. 3 単価バルクの試験

(新設)

3. 3. 1 不活化試験

検体は、少なくとも1500回接種に相当する量を、不活化期間

に相当する量を、不活化期間の4分の3に相当する日及び最終日にそれぞれ採取する。その採取した検体について、混在する不活化剤等の培養細胞に対する変性効果を除くため、適当な緩衝剤を含む溶液等の十分な量を用いて透析したものを試料とする。

試料をアフリカミドリザル腎細胞又はこれと同等以上の感受性をもつ適当な培養細胞に接種し、21日間培養観察する。この際、試料1 mLにつきその腎細胞又は培養細胞3 cm²以上を用いる。この間、細胞変性を認めてはならない。

なお、必要に応じて、検体に各単価バルクを混合したものを用いることができる。

3. 3. 2 (略)

(削除)

3. 3. 3 (略)

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、承認された判定基準に適合しなければならない。

3. 3. 5 細胞由来DNA含量試験

適当な方法で細胞由来のDNA含量を測定するとき、検体中の細胞由来DNAの量は承認された判定基準に適合しなければならない。 なお、精製したウイルス浮遊液を検体とすることもできる。

3. 4 (略)

3. 5 小分製品の試験

3. 5. 1 (略)

(削る)

3. 5. 2・3. 5. 3 (略)

3. 5. 4 力価試験

ラット免疫原性試験によって行う。ただし、ラット免疫原性試験との相関が確認されたD抗原含量試験が承認されている場合は

の4分の3に相当する日及び最終日にそれぞれ採取する。その採取した検体について、混在する不活化剤等の培養細胞に対する変性効果を除くため、適当な緩衝剤を含む溶液等の十分な量を用いて透析したものを試料とする。

試料をアフリカミドリザル腎細胞又はこれと同等以上の感受性をもつ適当な培養細胞に接種し、21日間培養観察する。この際、試料1 mLにつきその腎細胞又は培養細胞3 cm²以上を用いる。この間、細胞変性を認めてはならない。

3. 3. 2 (略)

3. 4 混合バルクの試験

3. 4. 1 (略)

3. 4. 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、50EU/mL以下でなければならない。

(新設)

3. 5 (略)

3. 6 小分製品の試験

3. 6. 1 (略)

3. 6. 2 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.5でなければならない。

3. 6. 3・3. 6. 4 (略)

(新設)

， D抗原含量試験によって行うことができる。

3. 5. 4. 1 ラット免疫原性試験

ラットを免疫し，得られた血清中の中和抗体価を型別に測定する。

3. 5. 4. 1. 1 材料

検体，参照不活化ポリオワクチン（セービン株）又は適当な標準物質並びに攻撃用ウイルスを用いる。

また，ポリオウイルスに感受性を有する細胞を指標細胞とし，これを適当な培地で希釈したものを細胞浮遊液とする。

攻撃用ウイルスを適当な培地で希釈し，これを攻撃用ウイルス浮遊液とする。

3. 5. 4. 1. 2 試験

検体及び参照品をそれぞれ希釈し，対数的等間隔の希釈を作る。

8週齢のラット 10 匹以上を 1 群とし，各希釈に 1 群ずつを用いる。1 匹当たり 0.5mL を筋肉内に注射する。注射の 20～22 日後に，個体別に全ての動物から採血する。各群の個体別血清を適当な培地で希釈し，希釈血清と攻撃用ウイルス浮遊液の等量を混合する。その後， $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で 3 時間置いた後， $5 \pm 3^\circ\text{C}$ で一夜置く。細胞浮遊液を添加し， $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で 7 日間培養する。培養終了後，細胞変性の有無を観察し，50% 中和点の血清希釈倍数を算出し，その逆数を中和抗体価とする。

攻撃用ウイルス浮遊液の感染価を測定するとき，その値は $32 \sim 320\text{CCID}_{50}/0.05\text{mL}$ でなければならない。

3. 5. 4. 1. 3 判定

試験の成績を統計学的に処理して比較するとき，承認された判定基準の下限值以上でなければならない。

3. 5. 4. 2 (略)

3. 5. 4. 2. 1～3. 5. 4. 2. 3 (略)

3. 5. 5 (略)

3. 6. 5 (略)

3. 6. 5. 1～3. 6. 5. 3 (略)

3. 6. 6 (略)

(削る)

(略)

乾燥まむしウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 5を準用する.

3. 2 小分製品の試験

(削る)

3. 2. 1 (略)

(削る)

3. 2. 2・3. 2. 3 (略)

(削る)

3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 (略)

3. 2. 5. 1 (略)

3. 2. 5. 1. 1～3. 2. 5. 1. 3 (略)

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)

乾燥まむしウマ抗毒素

1 (略)

2 製法

2. 1 原材料

(略)

2. 2 原液

(略)

2. 3 (略)

3 試験

3. 1 原液の試験

3. 1. 1～3. 1. 4 (略)

3. 1. 5 抗毒素含量試験

3. 2. 7を準用する.

3. 2 小分製品の試験

小分製品について、次の試験を行う.

3. 2. 1 (略)

3. 2. 2 pH試験

一般試験法のpH測定法を準用して試験するとき、6.8～7.4
でなければならない.

3. 2. 3・3. 2. 4 (略)

3. 2. 5 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. 2. 6 (略)

3. 2. 7 (略)

3. 2. 7. 1 (略)

3. 2. 7. 1. 1～3. 2. 7. 1. 3 (略)

<u>3. 2. 5. 2</u> (略)	<u>3. 2. 7. 2</u> (略)
<u>3. 2. 5. 2. 1</u> ~ <u>3. 2. 5. 2. 3</u> (略)	<u>3. 2. 7. 2. 1</u> ~ <u>3. 2. 7. 2. 3</u> (略)
<u>3. 2. 6</u> (略)	<u>3. 2. 8</u> (略)
4 (略)	4 (略)
5 <u>その他</u>	5 <u>その他</u>
(略)	(略)

乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン、乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン、乾燥まむしウマ抗毒素、乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥ボツリヌスウマ抗毒素、乾燥ガスエソウマ抗毒素及び乾燥ジフテリアウマ抗毒素の異常毒性否定試験の生物学的製剤基準からの削除について

国立感染症研究所

異常毒性否定試験は、ワクチン・血液製剤等のロットの均一性を確認する品質管理試験として長年に渡って用いられて来た試験であるが、2018年WHO ECBSにおいて生物学的製剤の安全性や品質を保証するには、異常毒性否定試験を実施するよりも、GMPや包括的に品質管理が確認される現在の製造管理がより適切であると考えられることから、生物学的製剤に異常毒性否定試験を実施しない方針となった。以降この方針について世界的に協力が求められているところである。FDAおよびEMAではそれぞれ2015年、2019年に異常毒性否定試験が削除された。日本では、SLP審査導入を機に異常毒性否定試験を継続して実施する必要のない製剤には生物学的製剤基準（以下、生物基）に試験省略を可能とする規定を導入して来たが、国際調和への協力のため現在WHOの方針に沿って製剤毎に試験の削除を進めている。

今回、標記の7製剤について、2007年から2021年までの15年間を対象期間とし、この期間における異常毒性否定試験の検定および自家試験の結果を評価し、生物基から試験の削除の可能性について検討した。

その結果、組織培養不活化ワクチン2製剤では、全ロットで異常毒性否定試験による均一性が確認され、試験の削除可能と考えられた。抗毒素5製剤ではロット数が少ないものの確認できる限りにおいて、検定および自家試験でともに問題がなかったことを確認し、今後は製造所におけるGMPや現在の製造工程の品質管理が十分に機能することで、異常毒性否定試験を用いない品質管理に移行可能と考えられた。

本結論について所内検定検査業務委員会（2022.11.25）及び検定検査協議会（2022.12.1）にて議論の上、承認を得たため国立感染症研究所の意見として厚生労働省に報告する。

1. 対象製剤について

- ・ 製剤担当室：ウイルス第一部第三室、ウイルス第二部第五室、細菌第二部第三室、治療薬・ワクチン開発研究センター第三室

表 1. 対象製剤リスト

対象製剤	製剤担当室	製造所	販売開始
乾燥組織培養不活化ワクチン			
乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン	ウイルス第二部第五室	KMB	1995
乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン	ウイルス第一部第三室	GSK	2019
		KMB	1996
抗毒素			
乾燥まむしウマ抗毒素	治療薬・ワクチン開発研究センター第三室	KMB	1996
乾燥はぶウマ抗毒素	治療薬・ワクチン開発研究センター第三室	KMB	1986
乾燥ボツリヌスウマ抗毒素	細菌第二部第三室	KMB	2012
乾燥ガスエソウマ抗毒素	細菌第二部第三室	KMB	2004
乾燥ジフテリアウマ抗毒素	細菌第二部第三室	KMB	2005

製剤の特徴（添付文書より）

● 乾燥組織培養不活化ワクチン

- ・ **乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン**：アフリカミドリザル腎臓由来細胞（GL37 細胞）でA型肝炎ウイルスを培養し、高度に精製し、不活化後安定剤を加え、凍結乾燥したワクチンである。

- ・ **乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン**：GSK 社：本剤は、狂犬病ウイルス（Flury LEP 株）をニワトリ胚初代培養細胞で増殖させ、得られたウイルスを β-プロピオラクトンで不活化した後、しょ糖密度勾配遠心で濃縮・精製し、安定剤を加え充填・凍結乾燥したものである。（KMB 社は、狂犬病ウイルス（HEP Flury 株）で同様の記載である。）

● 抗毒素

- ・ **乾燥まむしウマ抗毒素**：まむし毒又はトキシノイドで免疫したウマの血清を精製処理して得たまむし抗毒素を凍結乾燥したものである。

- ・ **乾燥はぶウマ抗毒素**：はぶ毒又はトキシノイドで免疫したウマの血清を精製処理して得たはぶ抗毒素を凍結乾燥したものである。

- ・ **乾燥ボツリヌスウマ抗毒素**：A型、B型、E型及びF型ボツリヌストキシノイドでそれぞれ別々の馬を免疫して得た血漿を精製処理し、4種の抗毒素を混合して凍結乾燥したものである。

- ・ **乾燥ガスエソウマ抗毒素**：Clostridium perfringens Type A, Clostridium septicum 及び Clostridium novyi トキシノイドでそれぞれ個別のウマを免疫して得た血漿を精製処理し、

3種の抗毒素を混合し凍結乾燥したものである。

・**乾燥ジフテリアウマ抗毒素**：ジフテリアトキソイドで免疫したウマの血漿を精製処理して得たジフテリア抗毒素を凍結乾燥したものである。

2. 異常毒性否定試験の設定について（生物学的製剤基準 医薬品各条）

標記の7製剤の医薬品各条では、以下のように異常毒性否定試験が設定されている。
一般試験法の異常毒性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。

3. これまでの異常毒性否定試験の成績の確認について

2022年11月16日に各製剤の製剤担当室および品質保証・管理部とこれまでの異常毒性否定試験の試験結果を確認した。別紙2図2、下表2に示す。

表2. 対象期間における検定および自家試験の結果のまとめ

製剤名 製造所	出検数	検定				自家試験				
		合格	再試	再々試	不合格	合格	再試	再々試	不合格	
●乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン										
KMB	33	33	2	0	なし	33	0	0	なし	
●乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン										
KMB	29	29	0	0	なし	29	0	0	なし	
GSK	5	5	0	0	なし	5	2	0	なし	
●乾燥まむしウマ抗毒素*1										
KMB	12	12	0	0	なし	12	0	0	なし	
●乾燥はぶウマ抗毒素*1										
KMB	3	3	0	0	なし	3	0	0	なし	
●乾燥ボツリノスウマ抗毒素										
KMB	4	4	1	0	なし	4	0	0	なし	
●乾燥ガスエソウマ抗毒素										
KMB	2	2	1	0	なし	2	0	0	なし	
●乾燥ジフテリアウマ抗毒素										
KMB	3	3	0	0	なし	3	1	0	なし	

*1:対象期間より前の1990年～2006年（17年間）に乾燥まむしウマ抗毒素は、KMB社10ロット、武田社6ロット、阪大微研2ロット、千葉血清1ロットについて検定で合格し、1976年～2006年（31年間）に乾燥はぶウマ抗毒素は、KMB社19ロットの検定で合格している。

製剤毎の評価結果

●乾燥組織培養不活化ワクチンについて、

・KMB社のA型肝炎ワクチンおよび狂犬病ワクチンについては、対象期間において検定および自家試験において全ロットで合格しており、これまでの実績から異毒による均一性が確認でき、品質が安定していることが確認できた。

・GSK社の狂犬病ワクチンについては、5ロットで実績が少ないものの承認前検査時に3ロットの試験および海外の自家試験13ロットを確認し問題が無かったことから、上記製剤と

同様に均一性が確認出来たと考えられる。また本ワクチンについては本国では異常毒性否定試験を用いない品質管理の方法に移行されている。

●抗毒素について

対象期間 15 年の実績が 2～12 ロットと少ないものの、長期に渡って異常毒性否定試験で問題がなかったことが確認された。なお、抗毒素製剤は、他の製剤と比べ出検頻度が著しく低く（平均 2.5 年/ロット， 最長 9 年）、十分なロット数での均一性の確認が現実的に困難であり、現状で検定および自家試験を確認できる範囲での結果の評価となった。また、抗毒素 5 製剤の製造法は類似しており、同種製剤と見なすことも可能であると考えられた。

4. 見解

乾燥組織培養不活化ワクチン 2 製剤については、異常毒性否定試験による均一性が確認され、品質が安定していることが確認され、これまで異常毒性否定試験を削除した他の製剤と同等の状況が整っており、生物基から異常毒性否定試験を削除可能と考えられた。

抗毒素 5 製剤については、製造所において GMP や包括的な品質管理の技術が十分に整っていると考えられ、また感染研における SLP 審査により今後も製造記録の確認が可能であると考えられた。また、これまでの試験成績についても、ロット数の少ない製剤があるものの確認できる限りにおいて異常毒性否定試験において、長期に渡り問題がなかったことが確認された。これらのことから、今後の安全性や品質の管理は、WHO の方針の異常毒性否定試験を用いない方法（GMP や包括的な品質管理による製造管理）に移行可能と考えられた。

よって、これまで異常毒性否定試験は製剤の品質管理に一定の役割を果たしてきたが、標記 7 製剤の生物基から異常毒性否定試験を削除することは可能と考えられた。

別紙 1

図 1 異常毒性否定試験の削除の経緯と国際調和への協力について

海外

WHOの異毒の考え方の変遷

- ~2000年：品質管理試験に必要
- 2000年～2015年：推奨
- 2015年～2018年：NRAの判断
- 2018年：生物学的製剤の試験から削除
ECBS 69th TRS 1016, 3.1.3
 - GMP
 - 包括的品質管理（工程内管理の確認を含む）
 これらの品質管理方法が異毒を行うよりもより適切である。

海外の試験廃止状況

- FDA：2015年 削除
- EMA：2019年 削除

異毒は、これまでワクチン・血液製剤等に重要な品質管理試験として用いられて来たが、2018年WHO ECBSの決定以降、試験の削除について世界的に協力が求められている。

日本

これまでの取り組み
試験省略 → 削除

製剤	省略承認年 (業務委員会)	省略開始年	生物基削除 (業務委員会)
組換えHBV	2012	2013	2021
肺炎球菌	2016	2020	2022
日本脳炎	2017	2020	2022
Hib	2018	2020	2022
インフルHA	2017	2020	2022

これまで5製剤について、試験の省略を導入して来た。
WHO方針に協力し、これらの製剤についても生物基から削除を進めた。

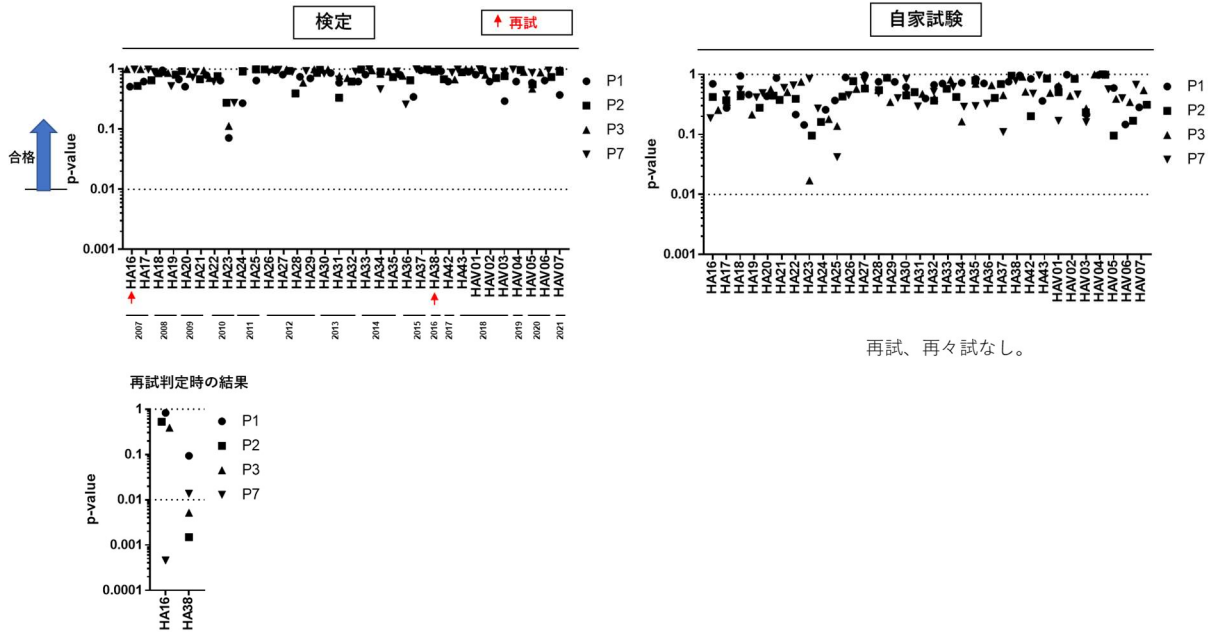
国際調和への取り組み

2021年 削除	2022年 削除	今回の審議 (7製剤)
<ul style="list-style-type: none"> • 血液製剤(29) • 生ワクチン(5) • ツベルクリン • 水痘抗原 • 組換えHBV 	<ul style="list-style-type: none"> • 肺炎球菌 • 日本脳炎 • Hib • インフルHA • 組換えHPV(3) • 組換えVZV • 髄膜炎菌 • 4混関連 (6) 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン</u> • <u>乾燥組織培養不活化養狂犬病ワクチン</u> • <u>乾燥〇〇ウマ抗毒素 (5)</u> <ul style="list-style-type: none"> ①まむし, ②はぶ, ③ポツリヌス, ④ガスエそ, ⑤ジフテリア

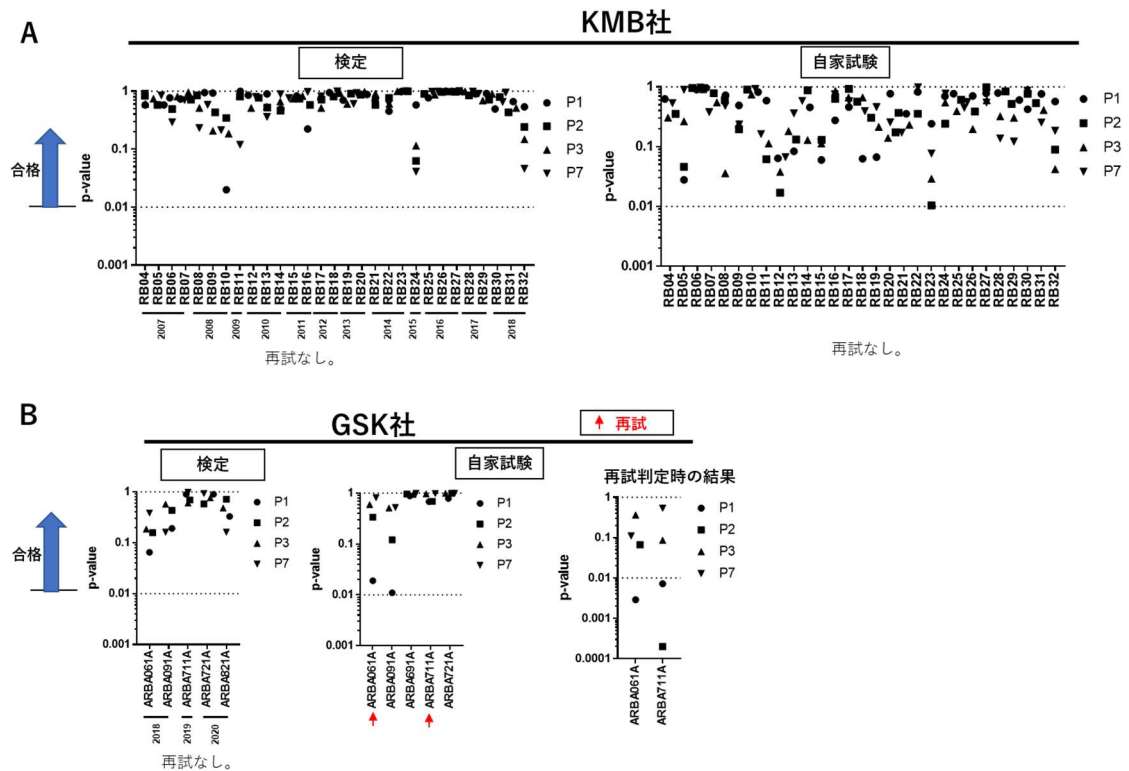
国際調和への対応のため、製剤毎に試験結果を確認し、生物基からの削除を進めている。

別紙 2 図 2 (1/2)

1 乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン



2 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン



別紙 2 図 2 (2/2)

3 抗毒素

