

表 4 検出菌同定結果

整理番号	製造所	ロット番号	コロニー番号	菌名
4	北研	40	4-1-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-1-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-1-3	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-1-4	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-1-5	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-2-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-3-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-3-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-3-3	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-4-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-4-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-4-3	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-5-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-5-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			4-5-3	<i>Bacillus subtilis</i>
7	阪大	120	7-4-1	<i>Bacillus subtilis</i>
9	武田	H016	9-2-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			9-5-1	<i>Nocardia spp.</i>
10	武田	H017	10-1-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-1-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-2-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-2-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-3-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-3-2	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-3-3	真菌
			10-4-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-5-1	<i>Bacillus subtilis</i>
			10-5-2	真菌
			10-5-3	<i>Bacillus subtilis</i>

表5 病原性クロストリジウム否定試験

① 加温 TG での菌の増殖の結果

検体番号	製造所	製造番号	増殖が確認された試験管番号
1	千葉血清研	7801-A	-
2	〃	7801-B	-
3	北里研	38	-
4	〃	40	1・2・3・4
5	阪大微研会	116	-
6	〃	119	-
7	〃	120	-
8	武田薬品	H015	4・8
9	〃	H016	-
10	〃	H017	4・7
11	東芝	13	-
12	〃	14	-

② 各検体由来菌の好気および嫌気条件での培養の結果

検体番号	試験管番号	培 養	
		好 気	嫌 気
4	1	○	○
	2	○	○
	3	○	○
	4	○	○
8	4	○	○
	8	○	○
10	4	○	○
	7	○	○

○：菌の増殖確認

③ 各検体由来菌の鏡検（グラム染色）とコロニー形状の観察結果

検体番号	鏡 検 (グラム染色) ※		コロニー 性 状
	形状	芽胞の有無	
4	グラム陽性 連鎖桿菌	-	灰白色・波状 R型・遊走性あり
	グラム陽性 桿菌	”	黄色・粘稠 S型
8	グラム陽性 連鎖桿菌	”	灰白色・波状 R型・遊走性あり
10	グラム陽性 連鎖桿菌	”	灰白色・波状 R型・遊走性あり
	グラム陽性 桿菌	”	黄色・粘稠 S型

※ TG 培地 6～8 日間培養

表6 コリネバクテリウム否定試験

1. CBU 平板培地での発育増殖試験成績

検体番号	製造所	製造番号	増殖が確認された 平板培地番号(コロニー数)
1	千葉血清研	7801 - A	-
2	"	7801 - B	4 (3), 5 (1)
3	北里研	38	2 (1)
4	"	40	1 (3), 2 (2), 3 (3)
5	阪大微研会	116	-
6	"	119	5 (1)
7	"	120	-
8	武田薬品	H 015	-
9	"	H 016	1 (2)
10	"	H 017	1(3), 2 (1), 3 (2), 4 (1), 5 (1)
11	東芝	13	-
12	"	14	2 (1)

注：CBU 平板培地のコロニーは全てグラム陽性桿菌であった。異染小体染色は全て陰性であった。*C. diphtheriae gravis* 型と *mitis* 型は 1 日培養で透明感のある白色コロニーが観察された。*C. diphtheriae intermedius* 型(PW 8 株) は 4 日培養でも増殖しなかった。その他のコリネバクテリウムは、全て 2~3 日培養で透明感のある白色コロニーが観察された。

2. CBU 平板培地に出現したコロニーのアピコリネ同定試験成績

検体 No.	ロット	アピコード	菌名
2-4-1	千葉 7801-B	5752337	該当菌なし
3-2-1	北里 38	6012004	<i>Arthrobacter spp</i> (85.4%), <i>Brevibacterium spp</i> (13.7%)
4-1-1	北里 40	6452773	該当菌なし
4-2-1	北里 40	7152335	該当菌なし
4-2-2	北里 40	7670777	該当菌なし
4-3-1	北里 40	7552335	該当菌なし
4-3-3	北里 40	7552325	該当菌なし
9-1-1	武田 H 016	7552335	該当菌なし

注1： アピコリネ同定試験；グラム陽性桿菌、チンスダール平板培地で黒色コロニー形成したものをコロンビア平板培地に培養し、増殖したものについて試験を行った（CBU 平板培地に増殖した 26 コロニー中、最終的にコロンビア平板培地まで増殖したものは、8 コロニーであった）。アピコリネキットは、コロンビア平板培地上のコロニーを接種して 24 時間培養後に各試薬及び培地の色調変化で、22 項目の生化学性状が検査できる。この結果をコード化して専用コード表より菌を同定する方法である。

注2： 検体 No.の 2 番目はプレート番号、3 番目の番号はコロニーの整理番号。

注3： 上記全ての検体からは、コリネバクテリウムは検出されなかった。

3. CBU 平板培地に出現したコロニーの 16s rRNA 試験成績

検体 No.	ロット	菌名	相同性
2-4-1	千葉 7801-B	<i>Bacillus licheniformis</i>	732/738 (99%)
3-2	北里 38	<i>Brevibacterium casei</i>	723/735 (98%)
4-1-1	北里 40	<i>Paenibacillus illinoisensis</i> (?)	748/795 (94%)
4-2-2	北里 40	<i>Paenibacillus</i> sp.	740/766 (96%)
4-3-3	北里 40	<i>Bacillus licheniformis</i>	743/745 (99%)

注：16s rRNA 遺伝子の配列による簡易同定による。

佐々木の方法(川村、佐々木、棚元編(2000)「新訂版 GMP 微生物試験法」P.148-158 講談社サイエンティフィック)に従って菌体より総 DNA を抽出して、rRNA 遺伝子の一部を 10F プライマーと 800R プライマー (同) を用いて増幅し、増幅された DNA 断片の配列を EMBL, GenBank データベースと比較した。佐々木らによれば、相同性が 98%以上であれば、ほぼその菌に間違いないとされている。

表7 含湿度試験成績（乾燥減量法）

検体番号	製造所	製造番号	含湿度(%)	平均値(%)	標準偏差(%)	判定
1	千葉血清研	7801-A	1.13 ND 1.62	1.38	0.35	合格
2	"	7801-B	0.64 2.83 2.95	2.14	1.30	合格
3	北里研	38	1.5 1.56 1.56	1.54	0.03	合格
4	"	40	1.52 1.55 2.44	1.84	0.52	合格
5	阪大微研会	116	0.9 1.67 2.48	1.68	0.79	合格
6	"	119	2.99 2.42 2.56	2.66	0.30	合格
7	"	120	1.41 ND 1.76	1.59	0.25	合格
8	武田薬品	H015	0.9 0.56 1.17	0.88	0.31	合格
9	"	H016	0.9 1.08 0.38	0.79	0.36	合格
10	"	H017	0.35 0.6 0.85	0.60	0.25	合格
11	東芝	13	0.05 0.55 0.22	0.27	0.25	合格
12	"	14	0.46 1.36 0.6	0.81	0.48	合格

ND：異常値で測定結果から排除した。

表 7-2 アンプル内容物の形状に 2 種類みられるロットの含湿度
試験成績

検体番号	製造所	製造番号	含湿度(%)	平均値(%)	標準偏差(%)	判定
1	千葉血清研	7801-A(1)	1.71	1.84	0.18	合格
			ND			
			1.96			
2	千葉血清研	7801-A(2)	0.39	0.56	0.15	合格
			0.62			
			0.67			

ND：異常値で測定結果から排除した。

7801-A (1) は、透明シート状、A (2) は通常の不透明形状

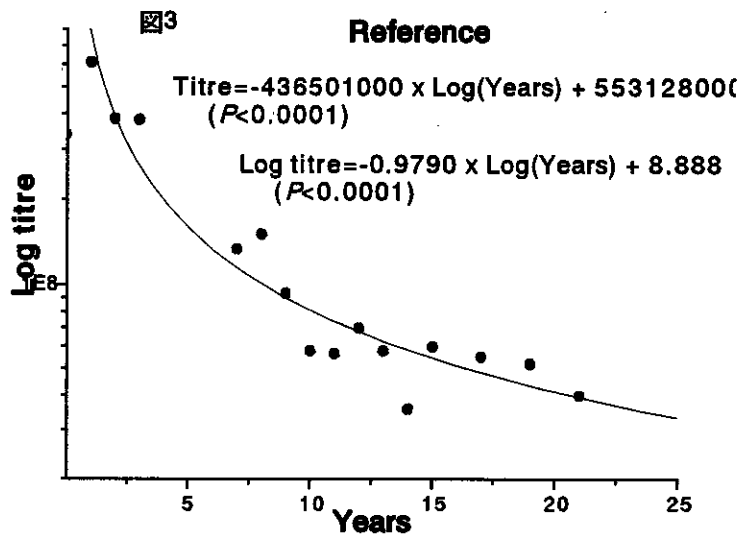
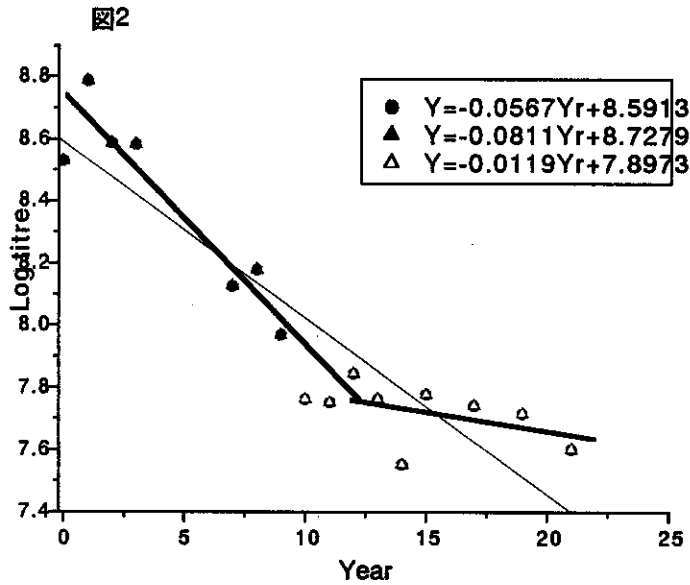
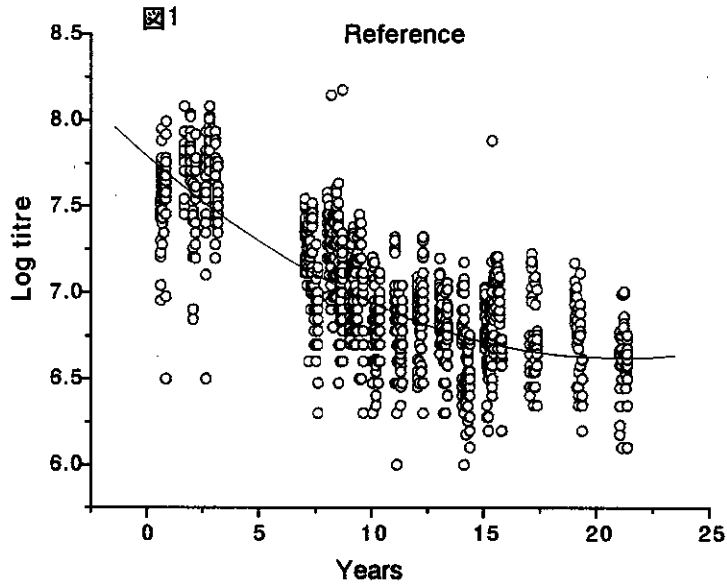


表8 参照痘そうワクチンの力価変動予測

		力価			
		全体	最初の9年	10年目以降	対数年**
回帰式*	b	-0.0567	-0.0811	-0.0119	-0.979
	a	8.5913	8.7279	7.8973	8.888
年	実測 (log)	推定 (log)	推定 (log)	推定 (log)	推定 (log)
0	8.5302	8.5913	8.7279		
1	8.7866	8.5346	8.6468		8.8880
2	8.5867	8.4779	8.5657		8.5933
3	8.5826	8.4212	8.4846		8.4209
7	8.1264	8.1944	8.1602		8.0606
8	8.1789	8.1377	8.0791		8.0039
9	7.9698	8.0810	7.9980		7.9538
10	7.7620	8.0243		7.7783	7.9090
11	7.7529	7.9676		7.7664	7.8685
12	7.8441	7.9109		7.7545	7.8315
13	7.7619	7.8542		7.7426	7.7974
14	7.5534	7.7975		7.7307	7.7659
15	7.7774	<u>7.7408</u>		<u>7.7188</u>	<u>7.7366</u>
17	7.7413	7.6274		7.6950	7.6834
19	<u>7.7159</u>	7.5140		7.6712	7.6361
21	7.6018	7.4006		7.6474	7.5935
力価低下	7.00	2006	1999	2053	2063
予測年限	6.74	2011	2003	2075	2134

* : 対数力価 = b x 保存期間 (年) + a

** : 年を対数として扱った場合

下線 : 検定合格ラインの $7.7 \log_{10}/\text{ml}$ 到達時

表 9 新ワクチンの力価、安定性試験

ロット	力価試験(1)	安定性試験(2)	(1)-(2)	判定
千葉 LC16m8 (新ワクチン)	8.7	8.1	0.6	合格

注：数値は、発育鶏卵 12 日令の漿尿膜状のポック数判定による力価の対数値。

表 10 新ワクチンのマーカー試験

(1) 増殖温度感受性試験

ロット	35℃ (1)	41℃ (2)	(1)-(2)	判定
千葉 LC16m8 (新ワクチン)	8.0	< 2.7	> 5.3	合格
参照痘そうワクチン (Lister 株)	7.4	7.1	0.3	

注：数値は、初代ウサギ腎細胞でのブラック力価の対数値。

(2) ふ化鶏卵漿尿膜接種試験

ロット	最大	最小	平均	標準偏差	判定
千葉 LC16m8 (新ワクチン)	1.65	1.00	1.17	0.18	合格

表 11 新ワクチンの含湿度試験

製造所	製造番号	含湿度(%)	平均値(%)	標準偏差(%)	判定
千葉血清	LC16m8 (倉田班)	0.22	0.26	0.11	合格
		0.17			
		0.38			