

責任があるのではなかろうか、このためには、消耗器材についてはできるだけ現地調達などにより、経費節約を図るとともに、次年度以降に支払を延せるものは、可能な限り今期の支出を延期し、当面必要とする器材の調達を図るべきであろう。

(注)平成3年4月現在、今後プロジェクトを運営する際に必要な全機材を算出し直したところ約300万US\$必要なことが明らかになった。うち約100万US\$については、技術協力のスキームで対応可能なのに対し、のこり約200万US\$についての対応を8月派遣のミッションでBioFarma側と協議を行なった。

その後10月の調査団派遣時に、無償資金協力業務部ミッションとの合同協議の席上、無償側が不足分を負担する用意があることを表明した。

B. 麻疹ワクチン

麻疹ワクチン製造に関しては、新設備を使用して、作業員の教育のための模擬製造が行なわれていて、大きな問題点は今までのところないようである。既に麻疹ワクチンに必要な技術については、日本でカウンターパートの研修は終了しており、今後は、現地の施設で、現地作業員による模擬製造の繰返しにより、作業員のトレーニングを行ないつつ、問題点の発見と整理解決をする時期であると思われる。これらについては、インドネシア側の努力に期待したい。インドネシア側から、さらに多くの専門家の派遣を要求されたが、試験製造の繰返しの中から何が問題かにより専門家の派遣を検討すべきであると考えられる。

ワクチン製造に不可欠な原材料として、SPFニワトリ胎児、牛血清がある。SPFニワトリ胎児入手のためのSPFニワトリコロニーは既に確立されており、しかも大変良い状態で飼育されていて、飼育設備完了後は、大量生産に向けての作業が開始できる。現状から判断すると、技術移転が最も進んでいる。牛血清については検討済みで、輸入にたよらず、インドネシアで自給できる見通しもたっているので、大量の調製は可能である。

以上の現状とカウンターパートの努力も認められることから、1992年9月には少量ではあるが、Bio Farma 製麻疹ワクチンの出荷が可能であると思われる。

最後に、今回の調査と協議により、Bio Farma、(財)阪大微研、JICAの三者が、今何が問題で、これから何をすべきか共通のレベルで協議することができ、今後の見通しも明るくなったと思う。

6. 合同委員会の協議結果

A. ポリオワクチン

1. J P R Iによる基盤技術移転計画具体案の説明

1) 製造用細胞基質について

初代カニクイザル、ミドリザル腎培養細胞及び継代培養細胞（CCL）の長所、短所、問題点をBio Farma 側に説明した。即ち、

- (1) カニクイザルはFoamy virusによる感染率が高く製造ロスが大きくなる心配があるが、安定供給が可能で、S I VやS V₄₀による自然感染は無いか極めて低い。
- (2) ミドリザルは安定供給に心配があり、高価な上にS I VやS T L Vによる自然感染率が高い。
- (3) C C Lによるワクチン製造は確立途上の技術で、C C Lで培養したウイルスが先祖返りを起こし神経毒力が高まる心配があり、3型の場合、従来のたねウイルスが使えないことも考えられる。

これらの比較から、本プロジェクトとしては野生カニクイザル、乳幼カニクイザルの使用が妥当な選択であることを示し、Bio Farma 側は了解した。J P R IはBio Farma が独自に生後2年以内の子ザルを入手する経路を確立するよう強調した。

2) ポリオワクチン試験製造計画

試験製造は少数のサル処理（1992年度は週2頭）から開始し、製造技術の向上及び抗血清の調製や試験用細胞ストックの調製など、Q C用品の整備に合わせて、処理サル数を増加するステップが必要で、Bio Farma の目標である年間2000万doses を恒常的に供給できるようになるためには4-5年を要することを説明した。

Bio Farma 側は、自国政府の要請から1994年には2000万doses を供給したいことを強く希望した。

3) 基盤技術移転内容について

日本側は、本プロジェクトの目標は、細胞培養、ウイルス培養、Q C、分注等の基本技術の移転であること、また、フルスケール製造の場合、3週間を1分注単位期間（準備、ウイルス混合、分注、検査と後始末）として120万doses製造することを計画していることから、プロジェクト期間中に120万dosesを製造することも基盤技術移転と考えていることを示した。

Bio Farma 側は、目標の2000万doses つくることが基盤技術移転であるとし、このプロジェクトの目標の解釈については平行線で終始した。

4) J P R Iからの専門家派遣計画

J P R Iは、本プロジェクト用たねウイルスの準備や研修員の指導のために、1990、1991

年に技術職員総労働時間の約22%を費やしており、J P R I の規模から長期専門家の派遣は困難である事情を説明した。しかし今後は短期専門家を試験製造内容に合わせてバトンタッチ方式にて派遣する計画を説明し、Bio Farma 側は了解した。

2. Bio Farma 側製造計画

Bio Farma 側からは独自の製造計画が示された。その内容からBio Farma 側は、野生カニクイザルを用いた方が早く製品化できるという認識があることを示唆し、製造計画については、1992年にパイロット製造、1993年にroutine 製造に入る計画であるが、週当たりのサル処理数については、技術の向上につれて増加する考えがあるものの、Dr. Darodjatun は週4頭から始めたいことを強調した。

3. はしか、ポリオ共同利用のmedia調製関係室一部手直し要請

既にBio Farma はhand over された一期工事分media 調製域について、物品の搬入、搬出経路の作業性に欠陥があり、阪大微研宮武専門家同意のもと改善案を日本設計池田氏に示した。本件は、Bio Farma のDr. Darodjatun から善処の依頼を受けた。

4. ポリオC/Pとの打合せ

Dr. Inaよりポリオ専任職員9名の紹介があり、抗血清の調製、カニクイザル腎細胞によるポリオウイルスの収量など現況説明を受け、今後の方針等について指示を行なった。

5. 今後の機材供与についてBio Farmaと協議

- 1) J I C Aのbudget規模について説明
- 2) Bio Farmaが負担すべき原材料、消耗品について

J I C AはBio Farmaに今後の本プロジェクトに対し200万US\$分の負担を求めたところ、Bio Farma には資金の余裕はなく、カニクイザルと消耗品の一部について負担することを表明したが、他はJ I C Aが負ってほしいとの強い要望があった。

6. 基盤技術移転に要する機材量の見直しと購入手段の検討

阪大微研宮武専門家、島本調整員と下記の検討を行なった。

- 1) はしかとポリオが共同利用できる品目について確認
- 2) Bio Farma 側に調達を依頼する消耗品
- 3) J I C A負担機材
 - (1) 現地調達機材 サンケイジ/架台、滅菌缶、無菌室机など
 - (2) 日本で調達する機材 タンク、顕微鏡など

7. 第二期工事分として設置される機器の性能試験とBio Farma への引き渡しについて

大型機器について、日本業者、J P R I 専門家及びBio Farma 側C/Pとの立ち会い試運転検収で合格なら、Bio Farma へ引き渡すものとするを両者が確認した。

8. Bio Farma のポリオワクチン製造職員について

- 1) ポリオワクチン製造及びQCには多数の専任職員が必要で、1992年度には総数32名にはす

べきで、二期工事完成前から採用し、職員の養成が不可欠であることを伝え、Bio Farma 側は理解を示した。

- 2) 現Bio Farmaウイルスワクチン製造責任者Dr. Inaは、1992年定年の予定で、Dr. Darodjatunより定年後の処遇について相談があった。

日本側としては、Dr. Inaは本プロジェクトの成功に重要な存在であることを説き、何らかの形で止められるよう要求した。

Dr. Darodjatun はまた、Dr. Inaの後任にBureau of secretariat のDr. Benny Kaligisを当て1992年早々にJ P R Iと阪大微研で合計3カ月研修に出す意向を示した。Director of productionのDrh. J. Sutaryo も数年中に定年となるもようである。

9. WHOによるBio Farma 生ワクチン製造施設査察

WHOはインドネシアE P Iワクチン製造施設のpreliminary inspection? として1991年8月25日-28日、ジュネーブ本部よりDr. 梅内を派遣するという、Bio Farma 宛ての情報を得た。

10. 本調査団とBio Farma との討議内容確認

Minutes of the meeting参照。

B. 麻疹ワクチン

(打合せ事項)

1. 1991年11月より1992年9月までの技術移転計画の概要
 - 1-1 working seed lot の作製
 - 1-2 S P Fニワトリコロニーの確立及びメンテナンス
 - 1-3 working seed lot からのワクチン製造
 - 1-4 ワクチン製造に必要な牛血清の供給確立
2. 1に伴う専門家の派遣
3. 研修員の受入れ計画
4. 機材供給計画
5. Field trial 用試作ワクチン

(協議及びその結果)

1. 1991年11月より1992年9月までの技術移転計画の概要について、日本側が説明し、協議した結果、日本側からの提案(資料1)で合意した。
 - 1-1 working seed lot の作製を1991年11月から開始するが、製造に使用するS P Fニワトリ胎児は(株)阪大微研のS P F種卵を日本側が供給する(資料2)。working seed lotの確立は1992年7月に完了する予定。
 - 1-2 S P Fニワトリコロニーの確立については、派遣専門家及び日本で研修を受けたカウ

ンターパート等の熱心な努力により、現在既に少量ではあるが、S P Fニワトリ種卵を生産するに至っている（資料3）。さらにその品質も Bio Farma、(財)阪大微研の両者の試験で保証されている。現場を視察したが、良好な状態でニワトリが飼育されていて、これは、賞讃に値する。さらにワクチン製造に必要な数量の確保も計画（資料4）されており、高い確率で成功するものと思われる。ただし、品質保証のための検査用試薬の供給やコロニーの継続維持に関しては、今後多少の支援が必要である。

- 1-3 working seed lotからのワクチン製造は、1992年6月頃より開始して、1992年8～9月には、製品ができる予定である。このためには、working seed lotの調製の進行状況と、分注から凍結乾燥までの検討をすることが重要なポイントとなる。

working seed lotの調製は、既に少量でのウイルス培養及びそのウイルス液の品質管理に成功しており、大方の技術移転は終了しているものと思われるので予定どおり進むであろう。

分注から凍結乾燥までの検討は、既に研修を終えたカウンターパートによる試験運転を繰返し実行して習熟することが第一で、その結果により多少の検討が必要である。

- 1-4 ワクチン製造に必要な牛血清の供給は、インドネシア国内で牛血液を入手し、牛血清を調製することが、このプロジェクトの大きなポイントの一つであるが、既に少量ではあるが調製に成功しており、必要量を確保する目途はついているものと思われる。ただし、その品質保証についても可能と思われるが多少の支援を必要とする。

2. 専門家の派遣は、1の技術移転計画に基づき、取敢えず資料5とする。

Bio Farma 側から、もっと多くの専門家の派遣希望があったが、重要なポイントの研修は既に終了しており、自習の時期に来ていると考え、各カウンターパートが Bio Farmaの施設に馴れることが必要で、既に、作業員の教育のための試験製造が実施されており、問題点が整理されることにより、長期専門家を通して Bio Farma、微研両者で検討の上、解決して行く。問題点によっては、検討の上、短期専門家を派遣する。

3. 研修員の受入れは、麻疹ワクチン製造に関する限りほぼ完了しているものと思われることから、本プロジェクトの進行状況を見ながら必要な点があれば検討の上決定する。

4. 機材の供与は、必要なものがあれば、J I C Aの予算内でこれを供与するが、製品としての麻疹ワクチン製造のための資材は、インドネシア側で調達することを基本とする。

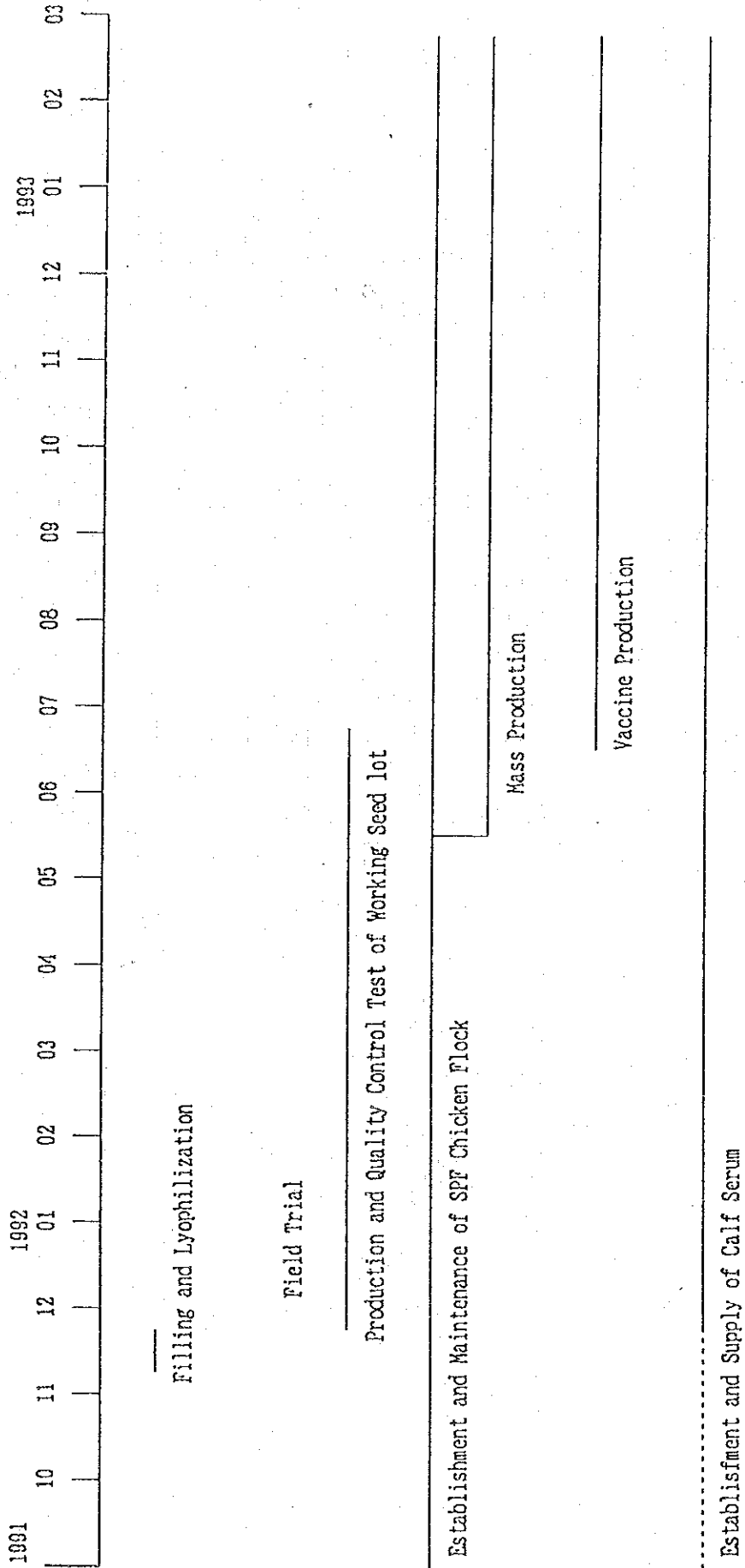
5. Field trial 用試作ワクチン

インドネシア側の強い要望により、基礎固めができていない状態でField trial 用試作ワクチンを試作したものの、凍結乾燥工程に些細なことではあるが異常を認めため、Field trial に使用すべきではないとの結論に達し、早急に、前回の試作ワクチン原液を使用して、凍結乾燥を再度行なうことにした。

前述の問題点は①(財)阪大微研にない新型のコンピューター制御によるオートクレーブである

ために、多少条件が異なったこと、②凍結乾燥機が新しく、馴らし運転が不十分であったことが原因であったと考えられ、検討の上直ちにその確認及び解決のための行動を開始したので、数週間で解決すると思われる。

THE SCHEDULE OF PRODUCTION (MEASLES VACCINE)



種ウイルス(Working seed)製造及び検定用卵使用予定 (案)

資料 2

区 分	送付個数	予定年月日			使用予定数	備 考
		観音寺発	シヤカ峠着	入 卵		
SPF卵 (製造用)	100個	91.11.11	91.11.14	91.11.16	60個	
	100個	91.11.18	91.11.21	91.11.23	60個	
	100個	91.11.25	91.11.28	91.11.30	60個	
SPF卵 (検定用)	150個	92. 1.13	92. 1.16	92. 1.17	100個	卵黄嚢内接種
	150個	92. 1.20	92. 1.23	92. 1.24	100個	尿膜腔内接種
C/O卵 (検定用)	30個	92. 1.13	92. 1.16	92. 1.17	10個	RIF, COFAL, REV
	30個	92. 1.20	92. 1.23	92. 1.28	10個	RIF, COFAL, REV

THE INCUBATION RESULT OF BIKEN SPF EGGS AND C/O TYPE EGGS

Type of Egg	Date of Received	Number of Eggs	Broken	Not Embryo-nated	Embryo-nated	Used for Bulk Production (11days)	Used for QC Test (5days)	Used for QC Test (11days)	Hatched	Died before Hatching	Died after Hatched	Use for QC Test (1day Chick)	Breeding now (3.Oct.'91)
SPF	June 4	75	8 (10.7)	52 (77.6)	15 (22.4)	9 (13.4)	-	-	-	-	-	-	-
	June 12	79	4 (5.1)	34 (45.3)	41 (54.7)	29 (37.7)	-	-	-	-	-	-	-
	Sub-Total	154	12 (7.8)	86 (59.3)	56 (38.6)	38 (26.2)	-	-	-	-	-	-	-
	July 17	210	2 (1.0)	45 (21.6)	163 (78.4)	30	-	30	90 (87.4)	13	7	-	83
	July 25	208	7 (3.4)	37 (18.4)	164 (81.6)	30	30	30	64 (86.5)	10	6	5	53
	Sub-Total	418	9 (2.2)	82 (20.0)	327 (80.0)	60	30	60	154 (87.0)	23	13	5	136 (872, ♀84)
C/O	July 17	23	1 (4.0)	5 (22.7)	17 (77.3)	-	-	7	10 (100)	0	0	-	10
	July 25	36	1 (3.0)	7 (20.0)	28 (80.0)	-	-	20	8 (100)	0	0	-	8
	Sub-Total	59	2 (3.0)	12 (21.0)	45 (79.0)	-	-	27	18 (100)	0	0	-	18 (♂ 5, ♀13)

TENDENCY OF EMBRYONATED EGGS PRODUCTION PER WEEK IN 1922

	JAN.	FEB.	MARCH	APRIL	MAY	JUNE	JULY	AUGUST	SEPT.	OCT.	NOV.	DEC.	REMARKS
PRODUCTION (%)													
VAKSINDO SEED	50	70	70	70	70	60	60	60	60	60	60	50	
BIKEN SEED	20	60	60+50	60+60	60+60	60+70	50+70	50+70	50+70	50+60	50+60	50+60	
FERTILITY (%)													
VAKSINDO SEED	60	70	80	80	80	80	80	80	70	70	70	70	
BIKEN SEED	80	80	80+50	70+60	70+70	70+80	70+80	70+80	70+80	70+80	70+80	70+80	
EMBRYONATED EGGS													
VAKSINDO SEED	15	24	27	27	27	23	23	23	20	20	20	20	NUMBER OF SEED
BIKEN SEED	10	10	10+105	8+151	8+176	8+235	7+235	7+235	7+235	7+201	7+201	7+201	VAKSINDO ♀ : 7 BIKEN ♀ : 3
TOTAL	25	34	143	186	211	266	265	265	262	228	228	228	♂ : 60 TOTAL : 13 ISOLATORS
C/O TYPE													
PRODUCTION (%)	-	-	40	50	60	70	70	70	70	60	60	60	NUMBER OF SEED
FERTILITY (%)	-	-	20	30	40	50	50	50	50	50	50	50	♀ : 12 ♂ : 3
EMBRYONATED EGGS	-	-	7	12	20	29	29	29	29	25	25	25	TOTAL : 3 ISOLATORS

	Name and his discipline	Main workes
1991/09	Mr.MIYATAKE	
10		
11	Mr.MIYAKE 11/6	
12	Filling and Lyophilization.	Filling and Lyophilization for Field Trial.
1992/01	Production of Working Seed lot and Quality Cntrol.	Production of Working Seed lot and Quality Control Test.
02	2/5	
03		
04		
05	Mr.MIYAKE	
06	Quality Control Test for Working seed lot.	Vaccine Production.
07		Filling and Lyophilization
08		Preparation of materials for Quality Control.
09	Quality Control	
10		
11		
12		
1993/01		
02		
03		

附 属 資 料

1. 計画打合せに係るミニッツ
 - A. ポリオワクチン
 - B. 麻疹ワクチン
2. ポリオワクチンに関する資料
3. Bio Farma 組織図

1. 計画打合せに係るミニッツ

A. ポリオワクチン

B. 麻疹ワクチン

1. 計画打合わせに係るミニッツ

A. ポリオワクチン

MINUTES OF THE MEETING
JPRI - BIO FARMA - JICA
AUGUST 7-15, 1991

I. The Technology for Production of Oral Poliomyelitis Vaccine

1. Dr. Doi gives a presentation regarding cell substrate derived from cynomolgus monkey kidney, green monkey kidney and continuous cell line (vero cell).

2. Drs. Darodjatun expresses his concern if cynomolgus monkey kidney will be used as cell substrate since no data available yet to confirm percentage of the contamination rate of the cell substrate.

According to experimental data contamination rate could be between 70 - 90 % but no assurance about this, as the contamination rate might be more than 90 % He also raises the issue whether the polio seeds provided by JPRI could also be used in green monkey kidney and the equipment will be sufficient to produce OPV if contamination rate in the high level.

3. Dr. Doi understands his concern and explains that if contamination rate is too high he recommends to use cynomolgus monkey of less than two years old and also use pregnant monkey to get the baby monkeys and make from primary passage to secondary, tertiary and quaternary passage.

4. Bio Farma explained that according to the experience obtaining babies monkey (less than 2 years old) would be easier compared with pregnant monkey moreover keeping pregnant monkeys would lead to prepare more animal facilities for breeding.
5. Drs. Darodjatun has the opinion that final decision on the choice of technology should be decided by the provider of the technology (JPRI). This technology should be in line with the availability of facilities of project to be capable of resulting 20 million doses OPV per year.
6. After having evaluated all possibilities, it seems that the use of cynomolgus would be given as the priority.

II. Tentative Schedule for Production Training

1. Dr. Doi describes JPRI's plan for Fundamental Transfer Technology (enclosed).
2. Drs. Darodjatun has strongly suggested that schedule should be more in line with the program of Government of Indonesia in self sufficiency for OPV around 1993.
3. JPRI mentioned that because of the variety of works to be prepared, limited equipment and material and moreover because of JICA's budget limited only for fundamental transfer of technology which is the amount not known yet.

4. Bio Farma and JPRI agree due to limited of technical cooperation budget to compromise that in 1992 the trial production (transfer of technology) start to use few monkeys per week, and would be progressively increased every year to reach the production target of 20 million doses per year.
5. Bio Farma is questioning about the available budget of technical cooperation only for very small amount of trial production. The budget should be in line with the objective of project (exchange of notes). If the budget of technical cooperation is too small the first full production capacity of 20 million doses will be reached too slow.

III. Estimation Budget for technical cooperation

1. According to Dr. Yoshida budget of JICA is divided by :

	Local supply	JICA	Note
Equipment (monkey cage/rack, freezer, microscope, etc.)	-	?	For production 20 million doses OPV
reagent	-	?	
Media	-	?	
Glassware	-	?	
Box for sterilization	-	?	
Animals (monkeys, etc.)	Bio Farma (cynomolgus)		
Others	X (if available locally and quality meets requirements)	?	
Seed, frozen kidney cell		V	
Reference virus from JPRI			

2. Each division needs about US \$ 1 million, totalling about US \$ 3 million.

3. Technical cooperation can provide only US\$ 1 million.

4. JICA requests that Bio Farma makes an effort to provide US \$ 2 million.

5. Drs. Darodjatun has stated that Bio Farma is unable to finance due to limited budget, Bio Farma is only able to

provide cynomolgus and some other materials available locally if quality meets requirements.

6. All parties having the same opinion that if the budget is not sufficient, this would be difficult to produce OPV in accordance with the objective of Exchange of Notes.
7. Drs. Darodjatun repeated his explanation regarding the position of Government of Indonesia that equipment and technical cooperation should be matching with the purpose of Exchange of Notes that is to produce 20 million OPV. This means the role of technical cooperation should match with grant aid and fill the gap in many places where grant aid cannot cover.
8. JPRI also said that the seed will only be enough to produce 100 million doses and after the Technical cooperation is completed Bio Farma should negotiate with JPRI regarding additional seed virus.
9. Drs. Darodjatun explains the situation regarding technical cooperation for measles in which supply of seed is sufficient for long period of time, this help to secure the shelf life of the project. Bio Farma in principle would like to get the same treatment for OPV project.
10. Bio Farma, JPRI and JICA agree to see following actions :
 - 10.1. Continue Transfer of technology to enable Bio Farma to produce own seed virus.

10.2. Review the latest situation of the project around one year before Technical Cooperation is finished, among others :

10.2.1. To evaluate the capability of Bio Farma with regards to the objective of the project.

10.2.2. The capability of Bio Farma to produce own seed virus before the Technical Cooperation finished.

10.2.3. Others.

V. Personnel for the project

Bio Farma has fulfilled the needs for personnel in 1991, additional personnel will depend on the progress of the project. In principle there is no difficulty to add technician to support the project.

After results of contamination rate is known and the progress of project needs additional personnel, technologist and technical assistant will be increased accordingly.

v. JICA Experts for OPV Production

Due to limited staff at JPRI, there is no possibility to send a long term permanent expert to Bio Farma.

JPRI however confirms his commitment to send experts to succeed the technical cooperation in accordance with the objective of the project.

VI. Training

For 1992, it is scheduled to send 2 (two) more staff members from Bio Farma (Drs. Dori and Drh. Samiarso) to JPRI for training.

VII. Hand over of the Project

Both parties agree that only after sufficient testing by the Contractor, Bio Farma, JICA Expert to prove that all equipment fulfills the requirements, the project can be handed over.

VIII. Field Clinical Trial

Upon released the first batch of OPV by JPRI, Bio Farma should take care to perform limited field clinical trial. JICA Expert will give technical assistance.

Present :

JPRI	Dr. S. Hashizume Dr. Y. Doi Dr. T. Karazawa
JICA/Medical Cooperation Dept.	: Dr. H. Yoshida
JICA Project Coordinator	: Ms. T. Shimamoto
Bio Farma	: Drs. Darodjatun Drs. J. Sutaryo Drh. Thamrin Poeloengan Drs. Djoharsyah Dr. Ina Madiadipura Dr. Benny Kaligis Dr. Kartini

MEETING REPORT

Date : August 8, 1991
Time : 2 - 4 p.m.
Place : Bio Farma JICA office
Members : DR. Hashizume
DR. Y. Doi
DR. Karasawa
Mr. Yoshida
Dr. Ina Hadiadipura
Dr. H. Kartini
Mrs. Itjeu
Notulist : Dr. H. Kartini

Result of meeting

1. In February 1992 there will be inspection by WHO who will check :
 1. Man power
 2. Document
 3. Facilities : no problem
2. Man power :
 - It is possible to produce OPV in 1993 if :
 - a. there is enough man power (well trained)
 - b. with the help of JICA (equipment) and JPRI
 - Good relation is important. To be success, work in one team is good, like Japanese custom that have a very good system.
 - All members (technician and scientist) must work in the laboratory and do all thing themselves. Working only behind the table is not good.
 - It is need time to get the skill working with tissue culture. So everybody must work hard.
3. DR. Doi inform that the very important point in this project are especially monkey, monkey cage and so many material that cannot arrive soon.
He will discuss with JICA about this.
4. Next year, a number of expert will come to Bio Farma.
After Mr. Abe, MR. Yamamoto will come for 6 months (for production and validation of equipment). Dr. Kartini and Mrs. Itjeu will joint him.
Afterwards a team consisting of Mr. Ohyama, Mr. Takeuchi and Mr. Satoh will come to help us (for medium preparation, washing and bulk preparation). Mr. Basit and Mr. Gaos will joint Mr. Ohyama and Mr. Takeuchi.
5. During Mr. Abe stay at Bio Farma, he will demonstrate Neurovirulence test. Depend on the number of monkey available, he will test type 1, type 2 and type 3. Please order the monkey. Drh. Samiarso and Drh. Agus will joint him.
6. Schedule from JPRI: Start with 2 monkeys/ week. After technical grown up and enough material it will be increase become 4 monkeys/ week.
DR. Hashizume confirmed that the very important point are:
 1. substrate
 2. training.He worried in using cynomolgus monkey because of:
 1. the contamination of foamy virus
 2. the titer
7. Dr. Ina informed that already in 1984, make experimental bulk with the purpose for training the polio section members. So far we have no problem with the titer. maybe because we use very high MOI.
8. Dr. Ina explained the history of buying monkey from Palembang.

9. According to DR.DoI, please train the polio group until able to work with 4 monkey/ week (in 1 day),but please don't forget to continue the antiserum preparation because this is very important for the future.
- 10.It is important to check calf serum before use.
- 11.DR. Doi suggested to arrange 2 weekly meeting and make report to Drs.Sutaryo.

B. 麻疹ワクチン

MINUTES OF DISCUSSIONS
BETWEEN THE JAPANESE PLANNING AND CONSULTATION TEAM
AND THE AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF
THE REPUBLIC OF INDONESIA
ON THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION
FOR THE FUNDAMENTAL TECHNOLOGY TRANSFER PROJECT
FOR PRODUCTION OF LIVE ATTENUATED MEASLES AND POLIOMYELITIS VACCINE

The Japanese Planning and Consultation Team (hereinafter referred to as "the Team") organized by the Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "JICA") and headed by Dr. Takeo Konobe, Vice Director, Kanonji Institute, the Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University, visited the Republic of Indonesia from 21st October to 30th October, 1991, for the purpose of working out the details of the Transfer Project for Production of Live Attenuated Measles Vaccine.

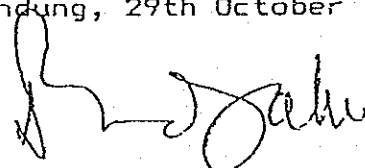
During its stay in Bandung, Indonesia, the Team exchanged views and had a series of discussions with the Indonesian authorities concerned in respect of the desirable measures to be taken by both Governments for the successful implementation of the above-mentioned Project.

As a result of the discussions, both parties agreed to recommend to their respective Governments the matters referred to in the document attached hereto.

Bandung, 29th October 1991



Dr. Takeo Konobe
Team Leader
Planning and Consultation
J I C A



Drs. Darodjatun
President Director
Perum Bio Farma

I. The purpose of the Planning and Consulting Team

The Team reviewed the Technical transfer of the production and quality control for measles vaccine from the beginning of the project which was started on September 1st, 1989 up to present.

Another Team will be dispatched to discuss various cooperative activities, regarding production and quality control of polio vaccine for fiscal year of 1991/1992.

II. The Tentative Schedule of Implementation

The Team established the new Tentative Schedule of Implementation covering various aspects of activities based on the Records of Discussions and planned from now on.

1. The Cooperative Activities

As a result of reviewing the activities from the beginning up to present, the programme below will be expected to make progress (reference Table I).

- a. Establishment and maintenance of SPF chicken Flock.
- b. Filling and lyophilization.
- c. Production of working seed lot and quality control test.
- d. The large scale production for measles vaccine.
- e. Establishment of local calf serum.

2. Japanese Expert

The Experts will be dispatched based on the cooperative activities for the following field (reference Table II).

↓
↓
↓
K

- a. Filling and lyophilization.
- b. Production of working seed lot and quality control.
- c. Quality Control for the vaccine.
- d. Maintenance for the machinery and equipment.
- e. Other relevant fields mutually agreed upon as necessary.

3. Counterpart Training in Japan

Training in the field of maintenance of machinery, equipment and others.

4. Goods and Materials

The machinery, equipment and others will be provided through JICA under the limited budget of the Government of Japan.

On the other hand, materials necessary for the routine vaccine production will be provided by the Indonesian side.

5. Clinical Trial

Indonesian side will carry out field clinical trial of measles vaccine produced by Bio Farma after having approved by Japanese Experts.

↓
K

Table 1

THE SCHEDULE OF PRODUCTION (MEASLES VACCINE)

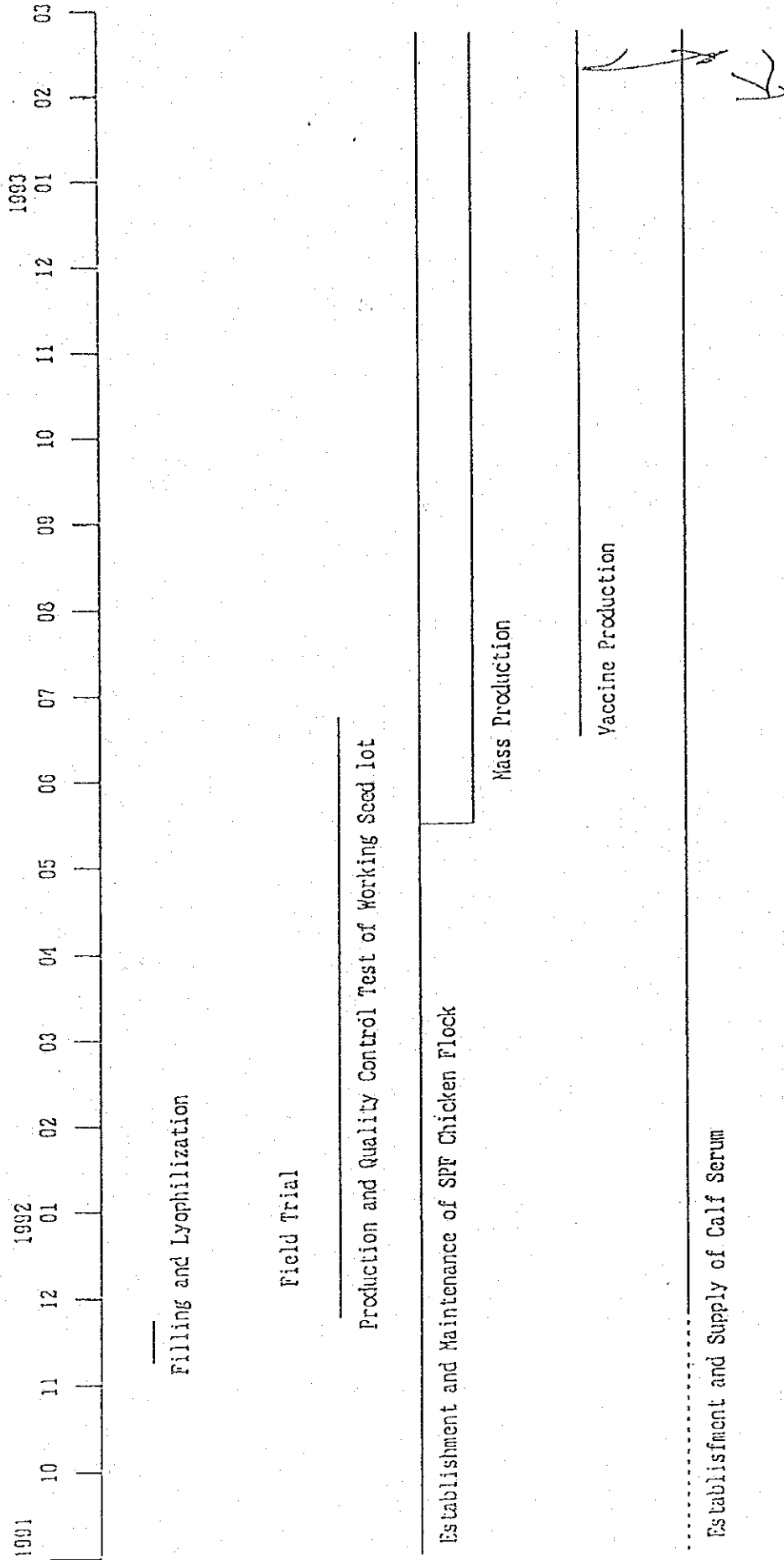


Table II

A Tentative Plan to Dispatch Expert from BIKEN(KANONJI)

	Name and his discipline	Main works
1991/09	Mr. MIYATAKE	
10		
11		
12	Filling and Lyophilization.	Filling and Lyophilization for Field Trial.
1992/01	Production of Working Seed lot and Quality Control.	Production of Working Seed lot and Quality Control Test.
02	2/5	
03		
04		
05		
06	Quality Control Test for Working seed lot.	Vaccine Production.
07		
08		Preparation of materials for Quality Control.
09	Quality Control	
10		
11		
12		
1993/01		
02		
03		

2. ポリオワクチンに関する資料

Incidence of Antibodies to SIV and STLV-1
in Various Non-human Primates

Monkeys	Plaaces captured	Antibodies against	
		SIV*1	STLV-1*2
Green monkey (Cercopithecus aethiops)	Africa	90/343 (26.2%)	21/ 44 (47.7%)
Cynomolgus monkey	Indonesia	0/427 (0 %)	39/394 (9.9%)
	Malaysia		
	Philippines		
Rhesus monkey (Macaca mulata)	China	0/ 99)	20/98
	India	(0 %)	(20.4%)

*1 SIV =Simian Immunodeficiency Virus
Ref.,Ohta,Y.,et al.,Int.J.Cancer 41:115-122,1988

*2 STLV-1=Simian T-cell Leukemia Virus
Ref.,Hayami,M.,Cancer Rev.1:35-63,1986

Virus Serology of Wild-caught Cynomolgus Monkeys

Virus	Percentages of seropositive animals		
	At arrival in the Netherlands	After quarantine (\geq 3 monthes)	Tests*2
1. Herpes simplex (B)	37% (453)*1	34% (416)	SN \geq 2
2. Simian adeno	67% (625)	41% (420)	CF \geq 4
3. SV40	0% (898)	n.d.*3	SN \geq 4
4. Rota	31% (61)	24% (34)	ELISA \geq 4
5. Rubella	0% (657)	0% (452)	HAI \geq 8
6. Parainfluenza 1 (HAV 2)	0% (240)	0% (124)	HAI \geq 2
7. Sendai	4% (741)	5% (483)	HAI \geq 12
8. Parainfluenza 2	3% (238)	3% (216)	HAI \geq 12
9. SV5	82% (715)	59% (573)	HAI \geq 12
10. SV41	5% (572)	1% (667)	HAI \geq 12
11. Parainfluenza 3	16% (777)	77% (620)	HAI \geq 2
12. Mumps	0% (691)	0% (480)	HAI \geq 12
13. Measles	15% (1127)	53% (801)	HAI \geq 8
14. LCM	0% (1123)	0% (815)	CF \geq 4
15. Poliomyelitis 1,2,3	0% (148)	0% (1190)	SN \geq 2
16. Foamy	50% (117)	60% (281)	IF \geq 4
		95% (61)*4	IF \geq 4

*1 () =number of sera tested *2 n.d.=not done

*3 SN =serum neutralization

CF =complement fixzation

ELISA=enzyme linked immunosorbent assay

HAI =haemagglutination inhibition

IF =indirect immunofluorescence

*4 From one of the other papers of van Steenis

Ref. Osterhaus, A.D.M.E., & van Steenis, G., Deverop. biol.
Standard. 47:157-161, 1981

Incidence of Antibodies against Foamy and Some of
Other Viruses in Green monkeys in JPRI

Green monkey	Foamy (type 3) (IF)*1	Measles (SN)*2	SV 5 (SN)	HSV (SN)	SIV (IF)	STLV-1 (IF)
Wild-caught adult monkey	18/50 (36%)	0/49 (0%)	15/49 (31%)	28/49 (57%)	14/50 (28%)	10/50 (20%)
Captive-bred monkey*3						
Younger age	3 ^{*4} /25 (12%)	n.d. ^{*5}	n.d.	n.d.	7/103 (7%)	2/103 (2%)
Elder age	4/25 (16%)	n.d.	n.d.	n.d.		

*1 Indirect immunofluorescence test

*2 Serum neutralization test

*3 Serum samples were taken as a paired serum from each baby monkey. One is younger age (89-190 days av. 115 days after birth) and the other is elder age (128-789 days av. 583 days after birth).

*4 All of three monkey sera were positive in younger and elder age sere.

*5 Not done

Loss of Green Monkey Kidney Cultures Used for the
 OPV Production Due to Simian CPE Agents in JPRI

1. Wild-caught adult green monkey

Year	Number of monkey
	Rejected/Sacrificed
1975	58/ 89 (65.2%)
1976	31/ 69 (44.9%)
1977	48/102 (47.1%)
1978	4/ 9 (44.4%)
1979	4/ 4 (100 %)
1980	8/ 17 (41.2%)
1981	42/ 65 (64.6%)
1982	20/ 34 (58.9%)
1983	- -
1984	21/ 44 (47.4%)
Total	236/433 (54.5%)

2. Captive bred baby green monkey

1984-1990 10/120 (8.3%)

Back Ground to Reject CCLs as Cell Substrate for OPV production
in the Project

Merits of CCLs

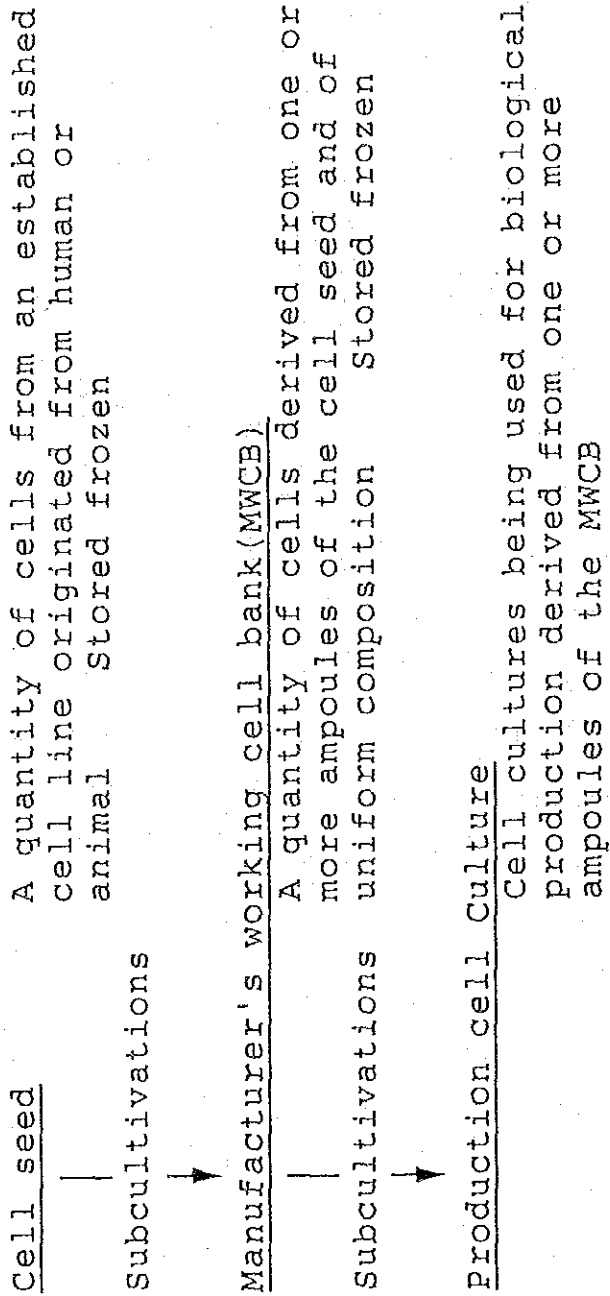
1. Primary monkey kidney cells are contaminated frequently with simian viruses
2. Conservation of natural monkey resources
3. CCLs can provide standardized, well controlled and large amount cells
4. CCLs make possible industrial scale micro-carrier culture
5. Progress of concentration purification technology ^{and} make possible to eliminate cellular DNA and calf serum from the virus fluid

Demerits of CCLs

1. Revertants or higher neurovirulent mutants appear in Vero cell cultures, especially type 2 and 3. It is not sure whether ordinary Sabin seed viruses can be used for safe OPV production or not.
2. We have never been experienced to administrate a vaccine prepared with CCLs.

Principle of CCL Cultures for the

Production of Biologicals



Characterization of Vero-MWCB and its Cultured Cells
for Poliovaccine Production

(According to WHO manufacturing requirements to establish MWCB
for biological substances)

1. Cell growth character tests
2. Cell morphological observation - HE stained
3. Sterility tests
 - 1) Bacteria
 - 2) Fungi
 - 3) Mycoplasma
- 4) Tests for adventitious agents
 - 1) Tests in green monkey kidney, rabbit kidney and human cells
 - (1) For cell culture fluid
 - (2) For intact cells
 - (3) For disrupted cells
 - 2) Tests in animals inoculating intact cells
 - (1) In suckling mouse i.m. 10^6 cells/animal x 10
 - (2) In adult mouse i.m. 10^6 cells/animal x 10
 - (3) In guinea pig i.m. 2×10^6 cells/animal x 5
 - (4) In rabbit i.m. 2×10^6 cells/animal x 5
 - (5) In adult mouse i.c. 10^6 cells /animal x 10
 - 3) Tests in embryonated egg
 - (1) In allantoic cavity 10^6 cells/egg x 10
 - (2) On chorioallantoic membrane 10^6 cells/egg x 10
 - (3) In yolk sack 10^6 cells/egg x 10
 - 4) Observation of stained cells by light microscopy
 - 5) Observation of the cells by electron microscopy
 - 6) Detection tests for reverse transcriptase from retrovirus infection

5. Identity test

Isoenzyme analysis

6. Tests for tumorigenicity

1) In vivo tests

Inoculation of intact cells to immuno-supressed new
born mouse i.m. 10^7 cells/animal x 10

2) In vitro tests

Coloney formation in soft agar gells

7. Chromosome monitoring tests

1) Exact counts

2) Karyotype analysis

8. Susceptibility to Sabin strains

1) Comparative virus titration with conventional cells

2) Virus cultivation - virus yield from a cell

(1) In ordinary monolayer culture

(2) In microcarrier culture

9. Genetic consistency tests for cultured viruses

Comparisons between viruses cultured in Vero and
primary monkey kidney cells

(1) Temperature marker test

(2) D marker test

(3) Neurovirulence tests in monkeys

Production of Poliovaccine on Vero Cells*

1. Microcarrier culture

Reconstitution of banked cell	137	Manufacturer's Working Cell Bank (MWCB) 100 x 10 ⁶ cells/ampoule
	138	↓ 1 liter
Cell passage level	139	↓ 5 liters
on the microcarrier	140	↓ 20 liters
cultures	141	↓ 150 liters
	142	↓ 1,000 liters + 500 ml (control cells)

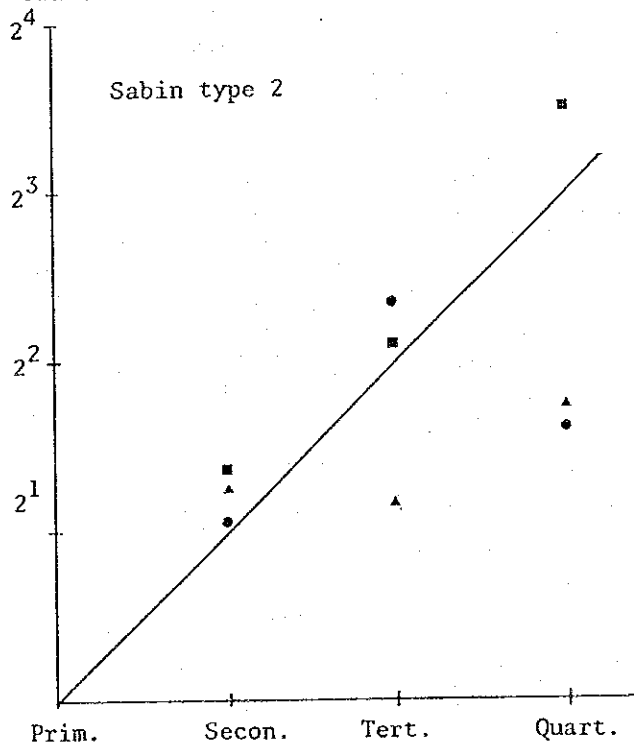
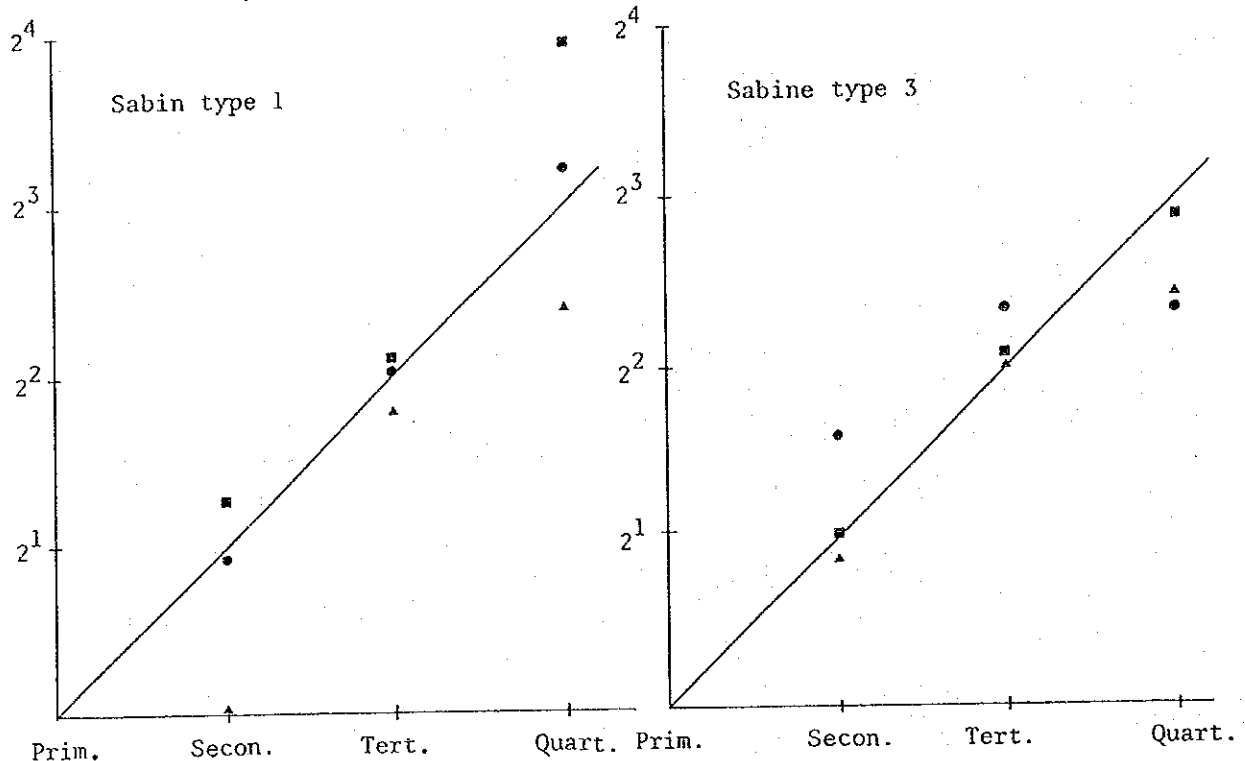
* From Montagnon, J.B.: Rev. Infect. Dis., 6 (suppl. 2), S341-344, 1984
 Develop. Biol. Standard., 70, 27-47, 1989

Plaque forming character of Sabin type I and 2
 viruses prepared in primary cynomolgus monkey kidney

	P P E T PFU / out.									
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<Type I>										
I-WHO / PMK	<0.39		2.70						7.80	Seed level (SO+2)
1-B-1 (High moi)	<0.39		3.40						7.88	} Vaccine level (SO+3) (VC/pMK)
1-B-2 (Intermediate moi)	<0.39		3.24						7.93	
1-B-3 (Low moi)	<0.39		3.00						7.90	
I-WHO / pVK (PF-I-WHO-85d)	<0.89		3.24						7.80	Seed level (SO+2)
1-C-1 (High moi)	<0.89		3.48						7.92	} Vaccine level (SO+3) (VC/pMK)
1-C-2 (Intermediate moi)	<0.89		2.70						7.92	
1-C-3 (Low moi)	<0.89		3.40						7.88	
F 116	<0.39		3.40						7.90	Vaccine level
<Type II>										
II-WHO / pMK	<0.39	1.40							7.18	Seed level (SO+2)
2-D-1 (High moi)	<0.39	<0.89							6.88	} Vaccine level (SO+3) (VC/pMK)
2-D-2 (Intermediate moi)	<0.39	<0.89							6.40	
2-D-3 (Low moi)	<0.39	0.90							7.10	
II-WHO / pVK (II-WHO-J/1a-2)	<0.39	<0.89							7.40	Seed level (SO+2)
2-F-1 (High moi)	<0.39	<0.89							7.18	} Vaccine level (SO+3) (VC/pMK)
2-F-2 (Intermediate moi)	<0.39	0.90							7.35	
2-F-3 (Low moi)	<0.39	<0.89							7.00	
F 209	<0.39	1.40							6.90	Vaccine level

↑ 39.5°C ↑ 39.0°C ↑ 36.0°C

Comparison of Virus Yield in Subcultivated Baby Green Monkey
Kisney Cells for the Production of Poliovirus in JPRI



— Theoretical total cell and virus yield

Primary cult. 1 Roux btl.
 Secondary cult. 2 Roux btls
 Tertiary cult. 4 Roux btls.
 Quarternary cult. 8 Roux btls

● Baby No. 68
 ▲ Baby No. 73
 ■ Baby No. 74

Expected doses of TOPV produced in 1993

Fundamental factors

	Type 1	Type2	Type 3
Content in Vaccine	6 10 /dose	5 10 /dose	5.8 10 /dose
Virus yield	8 10 /ml	7.7 10 /ml	7.9 10 /ml
Virus culture fluid	4 l/head	4 l/head	4 l/head
Doses produced per head(Million)	0.4 (5)	2.0 (1)	0.50 (4.0)

Monkeys used for vaccine production in 1992

	2 head/week x 40 weeks = 80 monkeys	20% Ok	Doses(Million)
Type 1	80 x 5/10 = 40	40	8
Type 2	80 x 1/10 = 8	10	2
Type 3	80 x 4/10 = 32	30	6

year	Total Loss (15%)		N.T. Disperse Test Prod.		OK	type 1		type 2		type 3						
	A	B	(A-B)	C		D+E	D	E	0.2x E	Monkey Prod.*	Remain. Monkey Prod.	Remain. Monkey Prod.				
1992	401	60	341	224	117	37	80	16	8	2	2	4.00	2.8	6	3.06	1.86
1993	554	83	471	248	223	63	160	32	16	3	3	6.00	2.8	13	6.63	2.49
1994	522	78	444	112	332	52	280	56	28	6	6	12.00	4.8	22	11.22	3.71
1995	725	109	616	112	504	64	440	88	45	9	9	18.00	7.8	34	17.34	6.05
1996	825	124	701	112	589	69	520	104	53	11	11	22.00	9.8	40	20.40	6.45
1997	825	124	701	112	589	69	520	104	53	11	11	22.00	11.8	40	20.40	6.85

(A-B)=C+D+E

* Million doses

1 0.40 1 2.00 1 0.51

Clean No. of monkeys	gross (A)	TCST (B)	N.T. (C)	Total=D (A+B+C)	D/.85
10%	100	1000	74	112	1186
30%	100	333	74	112	519
50%	100	200	74	112	386
70%	100	143	74	112	329
90%	100	111	74	112	297

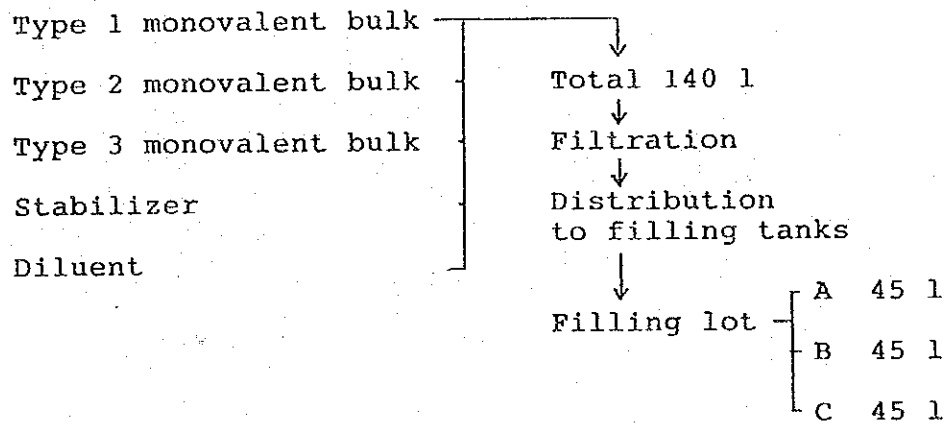
D: (A+B+C)+Loss in quarantine= Total necessary monkeys

A Scheme of Blending and Filling Works
to Produce TOPV in Bio Farma

1. A cycle of blending, filling and vial inspection works
(for 120,000 vials 1.2 million doses)

- 4th day # Preparation of tanks, filters and tubing systems
Air leak test for the tanks
- 3rd day # 1st sterilization for the tanks and other materials
- 2nd day # 2nd sterilization for the tanks and other materials
- 1st day # Filling of nitrogen, carbon dioxide gas mixture to the sterilized empty tanks
Thawing of monovalent bulks frozen in plastic bottles

0 day Blending



1st day Filling lot A

45,000 ml	1.1 ml/vial	
	120 vials/min	
	120 vials x 60 min = 7,200 vials/hr	
	7,200 vials x 5.6 hr = 40,000 vials/day	
	40,000 vials x 10 doses = 400,000 doses	

2nd day Filling lot B

45,000 ml	40,000 vials	400,000 doses
-----------	--------------	---------------

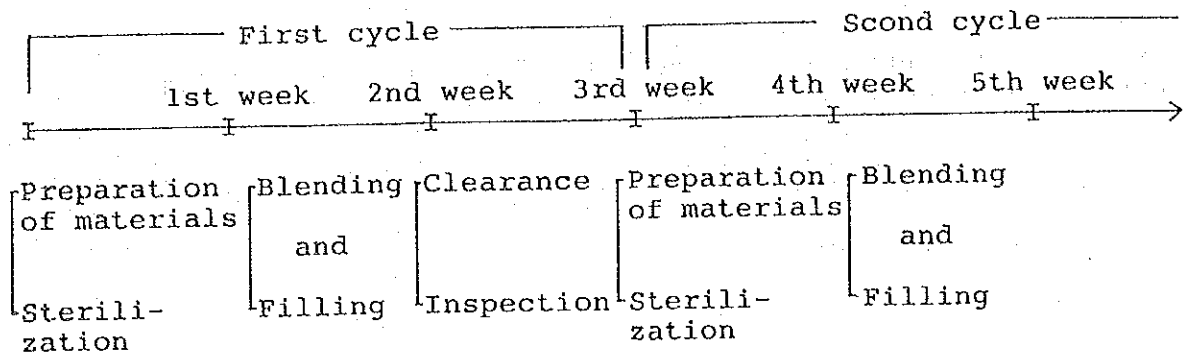
3rd day Filling lot C

45,000 ml	40,000 vials	400,000 doses
-----------	--------------	---------------

Total 120,000 vials

1.2 million doses

2. A scheme of full scale production



To produce 20,000,000 doses annually, it takes about 17 cycles (3 weeks x 17 cycles = 51 weeks/year)

3. Bio Farma 組織図

