

業 務 報 告 書

(59年12月分)

59年 12月 27 日

国際協力事業団
総 裁 殿

第 号

氏 名	山口俊明
指 導 科 目	仁木国日本昭栄ワケン製造プロジェクト(バルク作成)
現 住 所	山口県大島郡大島町小松 鶴岡四郎方
通 信 連 絡 先	〃
勤務機関名および住所	武田薬品光工場 生物製剤部 山口県光市光井字武田4丁目20

全般的に工事の遅れ、1983年技協の供与機材の未到着などにより設備的には満足できる状態ではなかったが C.R.I 側の精一杯の努力もあり、バルクの製造をなんとか開始できた事を御報告致します。

1. 仕入、生産実績

Batch No.	接種日	又注入数	ウイルス遊液	
			調製日	ZD Brain%量
1	12/3	1000匹	12/7	1000 ml*
2	/6	1000	/11	1000*
3	/7	1000	/12	1000
4	/10	1000	/14	1000
5	/11	1000		
6	/13	1000		
7	/14	2000		

*アロタミン調整不良廃棄予定

(6 |)

Z. 準備状況及び今後の予定

① Seed Virus

予研より分与された 中山株 アンソル 2本中 1本を 0.5ml 溶解. その 0.1ml を使用し (残り 0.4ml は凍結保存) アダルト マウスに継代し. 乳剤を調製. アンソルに凍結されていた. 又 titration 中であつた.

さらにもう一匹継代したものを 脳の状態に保存してあつた.

いづれも -20°C 保存のため. -170°C に移した.

12/3 日接種時点に調製後 -20°C で一週間経過して

おり titer の drop が予想されるため retitration の指示.

その結果 調製時の titer は 10^7 以上. 一週後は $1/10$ 位の

低下であつた. さらに継代 1 回目のもので凍結乾燥を

指示した.

② 真空ポンプ

採脳用 真空については 日本から借与された 真空ポンプ

と マウス焼却炉 工事終了後 (12 月中に終了予定) 据付け

るとのこと. 一時的に小型の移動可能なポンプが用意

されていた.

③ コンプレッサー

コンプレッサーについては インド製であるが 真空ポンプと

並べて設置する予定. 今回は ミリボア製の ハンディタイプの

コンプレッサーを使用した. (品管部内の借与機器借用)

尚 真空 圧空については 配管工事は終了しており

リークテストを実施中であつた.

④ MF-filtration

Membrane filter unit についてはバルク1割係は1983年授協で5台(φ293mm)供与されることになっており、まだ未到着のため品管の1台をDr. Bhanuより借用して使用。

⑤ 溶液調製

P.B.S, 1% プロタミン溶液等は調製後、滅菌されており良好であったが、結果として1% プロタミン溶液の調製ミスがあり、Batch No. 1, 2は廃棄せざるを得ない。

Batch No. 1については通常添加量の0.07%の不純物沈澱せず、除菌し過ぎなどそのままホルマリン添加。

Batch No. 2は添加量を2倍量の0.18%にして何とか除菌し過ぎは可能であった。Batch No. 3よりプロタミン溶液再調製、0.07%で特に問題なし。

⑥ Cold room

Cold roomは内装工事は終了し氷室用クーラーの入荷待ちの状態であり(12月末完成の予定)今回は他部材の冷蔵庫を一時的に借用。但しDr. BhanuのCold roomも故障し修理に午間どつており、早くなおさないとスペースがなくなる。

⑦ 日立大容量冷却遠心機

遠心機については所定の場所に配置されており配線も終了。バランスもとっており特に問題なし。ただローターの固定ネジの止め忘れがあった。

⑧ 製氷機

製氷機については当初の予定と違う Purification room
に設置されたばかりであったが生ウイルスを取扱う area Z
の使用が多いため 予定通り遠心機室に移動する旨を提
案、了解の回答を得た。

我々の滞在中に試運転を開始していた。

⑨ その他

今回の製造には直接関係ないが pHメーター、分光光度計
屈折計については梱包がとられたまま使用された形跡も
ない。屈折計については差し込みのコードがなかったこと。
超音波超音波スパーカーについても専用の工具が送付されて
おらず、次回派遣される専門家に伝える必要あり。

3. Dr. Saxena への要望事項

- ① 1階の接種・採卵室のペンキ塗装、二重窓、又飼育室の排気ファンの設置。2階は廊下も含めて全体のペンキ塗装、二重窓、できればブラインド設置。

ペンキ塗装については12月後半に着工するとのことであるが天井、壁だけ予定しており、床については紺色を示した。

- ② 今後の計画として週二回、5000匹/Wのマウス仕込みを継続すること。不活化が終了し、ウイルス汚染後の試験に合格した材料が確保されれば1K工遠心機、選卵機を試みる。さらに生産実績を毎月報告すること。

- ③ プロタミンについては YUKI GOSEI KOGYO CO. LTD のものが借りられており（計画では Nutritional Biochemical Corp. 指定）我々の経験より条件が変わってくる可能性がありサンプルを持ち帰り 武田でチェックしてできるだけ早く回答する旨伝えた。これについては NBC 並みの条件で進めよう。

- ④ バルク関係では主体作業と研修修生として派遣された Mr. Misra, Mehta, Kumar, Gupta と他2人計6人が補助作業を7人で進めているがピーク時には（40,000匹/W）少なくとも1K工運転も含めて訓練教育を受けた人が22人位は必要になる。さらに1K工運転については長時間となるため shift 制度の採用を考える。

22人の概要は下記の通り

9:30	Harvest (16)			KII
13:00	Inoculation	QC Preparation	Purification	9:30-4:30 (3)
16:30	(10)	(2)	(4)	4:30-11:30 (3)

⑤ 天井も高く、配管、照明等直接表に出ており、無菌性確保が困難が予想されるので、生ウイルス、不活化ウイルス用に2台のラベーターボックスの設置を提案した。

⑥ 次のExpert が来るまでに残された工事を完成させること。又10,000馬力/Wの仕込み可能な体制をととのえること。マウス供給については現時点で冬場のせいもあり3-4組マウスはイ本量も小さく、又繁殖力も衰え5,000馬力/Wが限度である。尚マウス舎(日本産炎ワクチン専用)も工事が進行中である。

以上

(No. 4)

業 務 報 告 書

(年 月 分) 昭和59年 12 月 日

国際協力事業団
総 裁 殿

第 号

氏 名	相沢 光 親
指 導 科 目	日本販売ワケン製造 (品質管理)
現 住 所	神奈川県横須賀市湘岸鷹取3-21-10
通 信 連 絡 先	同上
勤務機関名および住所	(社)北星研究所 港3日会5-9-1

期 間 昭和59年11月30日～12月18日

場 所 日本 Central Research Institute (CRI)

目 的 日本販売ワケン品質管理指導

到着時の状況

Central Research Institute (CRI) の日本販売ワケン製造施設の完成と搬入機器の試運転終了と条件に今回の専門家派遣のためと伝えられたため、到着時の現地の状況は電気工事、上下水道工事の完成にほぼおらず、壁の塗装工事も行われていない状態であった。

また、品質管理部門 (最上階) の工事の遅れのため、搬入機器は未開梱のため倉庫の埃の多い中で被覆の状態であった。また、搬入予定機器、消耗品も未購入の状態で、
 搬入習練

まず、品質管理のため要員を、帰国研修員の Dr. Rao Bhauri と Mr. Gupel Singh (12月24日未帰日) と除いては決っていない状態であった。

品質管理技術習練のためには本館の専攻研究室で行わなければならない。このため、このままでは停留の頻繁にあり、時には昼間2時間程度の

(左))

送電のない状態の状態で、テストに使用するための培養細胞の作製
は困難な状態であった。

指導項目

1. 施設について

1) 実験動物飼育室

感染動物室の作業室の仕切りが未完成であった。排棄物の
投入場所の^{かわ}隣り合っており、当初の計画を変更したいの件側の
要望もあり、CRIの実験動物専門家 Dr. Gowal, QC責任者
Dr. Rao Bhanu 執行担当者 Mr. Wangneo と交話し合ひ、別紙の
ような仕切りに変更した。この件に關しては所長の Dr. Saxena
に伝え、Mr. Wangneo に執行指示が出された。また、この作業に
件側の既に用意したマウス用架台が大き過ぎ使用不可に
なるので、小型のものを取替えるよう要請した。また、換気3ヶ所への
設置も指示した。

2) 無菌室

同仕切りは完成したが、天井が著しく高く、電気用配管が露
出しており埃が溜まり、天井の上の部分に天井を^張る要請
また窓の木材が腐蝕し、気密性が保てない。この二重窓又は窓用
材を伝え、この件に關しては Dr. Saxena に報告し、メモした。
一方、無菌室の扉が狭く、クリーンベンチが入らなかつた。同仕切り
の一部を外す必要があったので、位置の指示と外した部分を簡易工事
(ハンマ板程度)で再度取外しはくつに記したことを要請した。

3) 作業室について

窓枠の腐蝕がひどく、修理の必要があり、取替えずに風の通り
抜けの程度に急ぎ処置を行う Dr. Rao Bhanu に伝え、床下の
水道を行えば使用できると思わしむ。

4) コンセント、上下水道 (流す)

(No.)

当初指示した位置、数値の相違があったが、電気に関する容量は
大抵分岐板を使うのでインポートの通割というところの差を交えると思
われる。又緊急時(停電時)切替え用コンセントも各室に取付けら
れるという問題があると思われる。流しの位置については、Dr. Rao Bhau
と話し合ひ、当初の位置と多少変更した。滞在中に工事を始めた。
又、機器・消耗品について

機器については、小型オートクレーブなど一部既に使用しているものもあ
るが、大部分のものについてテストランを行なう必要があるので、臨時に
2ヶ所配電線を通電し、テストランを行った。超高温槽、冷却水の
機、炭酸ガスフランジ(TE用、ワウフランジの1台余分に在り)、
製氷機、乾熱滅菌器など異常なものが、フリンパツのガラス
板の一面破損した。これはインポート側の修理が必要であった。

消耗品、薬品については、ペンシリンの油圧注射用20ccのみ
使用不可のものが、リスト通り入荷、管理された。ペンシリンにつ
いてはインポートの調達できるところに、また、ニトリ脂見破砕用ステ
ンレス製シリンジの一部にクローキエド鉄が使われていたため、錆
のあと使用できず、1985年度換新協力機材に再度加える
必要がある。

3. テストについて

日本の研修もあり、技術的には現在のところ問題なく、インポート
での手技については自信がある。しかし、器具の未調達や停
電の激しいから、現状では各種試験、特に培養細胞の使用や
テストの負調に行うのは困難である。

又、製造工程の品質管理(QC in process)はBulk部門で行う
ことと日本側Dr. Iwashita(北里研究所)とDr. Tannaka(武田薬
品)の間の合意により、お茶時伝達されたので、Bulk部門の責任者
Mr. Misu と Mr. Yamaguchi (武田薬品、Bulk専門家)、QCの責任者
Dr. Rao Bhau にその旨伝え、Aizawa を含む4名の話し合いを行った。

(No.)

その結果、テストを行う場所や器具、日本での研究の困難もあり、Bulk
部門のテストを行うのは困難である。このため、ワイルド金量試験、無菌試験に
よって22℃を際(際)。染色試験を行うための意見の一致をみた。帰国後、
Dr. Yashioaka, Dr. Tsuchihara に報告して決めるべきであろうと伝えた。この件
に關しては Dr. Saxena にも伝えた。

一般試験については当初日本側の方式で行うことになっていたが、
無菌試験(細菌、真菌否定試験)については CRI のほかのワグソンに於ける
方法(WHO基準)のことも、なるべく統一して行うべきと考え
た。CRI の QC 責任者は Dr. Ahuja (副所長) と話し合いを遂行
した。担当者 Mrs. Shalman, Dr. Rao Bhanu と話し合った結果、

この方式で行うことになり、帰国後、Dr. Yashioaka
Dr. Oya に報告する旨を伝えた。Dr. Saxena にもこの件に關して伝え、
向 Dr. Oya の、日本に連絡の如く思われるので、その折話し合ひを促す旨を伝えた。

各個の主要テストについて

力価試験については、中和試験のためのストックワイルド(感染源孔2つ
2眼)の作製のワイルド定量を行った。(ストックワイルドは、小瓶7-40本に
小分けの Bulk 部門の Recco に入っている。QC 部門の Recco の重なり
算移動の如く云々) 鶏卵の状態は良好の試験は問題な
いと思われる。しかし、現状では(本館の研究室)停電の頻繁に
完全な形の結果を得ることは難しい。又、日本から借り出した CO₂
タンク等の CO₂ 供給の自動制御装置の長時間の停電
により培養細胞の増殖に影響を及ぼすことがある。力価試験に
ついては Dr. Rao Bhanu, Mr. Gupel Singh の週2回訪問、1ヶ月毎に当方
(Aizawa) に結果を知らせることにしている。実験動物(2匹)に
ついては供給上問題はない。

無菌試験については、培養の未調達が原因で Bulk 部門の既に
作製したワイルド培養液については -70℃に保存しておく。培養地
の適当な次等を行うことになっている。

(No.)

不行の試験等について、Dr. Rao Bhanu の日本から持帰った BHK-21 細胞の復元、1397 を 42 方向に培養し、ウシ以定量の行うこと、紙を車載し指針の指標。一方、今側側の人又と暫初代培養及び VERO 細胞について日本側より感測を在りて又したといふことができた。結果を見れば、今側側のやり易い方法の行い差をえなと思われる。

蛋白質含量測定等、化学試験については今側側の独自に行うことになり、施設担当者等に見れば同じ問題なく行われると思われる。

附記

1. 今側方式に代り差をえなものはなくへに代えた方がよいと思われる。

2. 機械等に消耗品(カミ器具等)は今側側調達可能な範囲に於て、資金の許す限り供給すべきこと(発注から受取りまでの時間のかり過ぎず)

3. 機器については今側側事情に合った V 型の機器を供給すべきこと。

4. 次期専門家派遣時期について Dr. Saxena の予定は Bulk 部門の 3, 4, 5 月, QC 部門の 4, 5, 6 月, 最終製品部門の 5, 6 月とあることと見られる。作業の上から見た場合 QC に同じ今側側の程度、独自に執行し、問題点の程度判明した時期に派遣してよいと思われる。少くともウチノ製造施設が完成し電力供給の安定が必須である。又 Kanuli 滞在期間中は現在の諸状況から 1 週間程度の滞りと思われる。

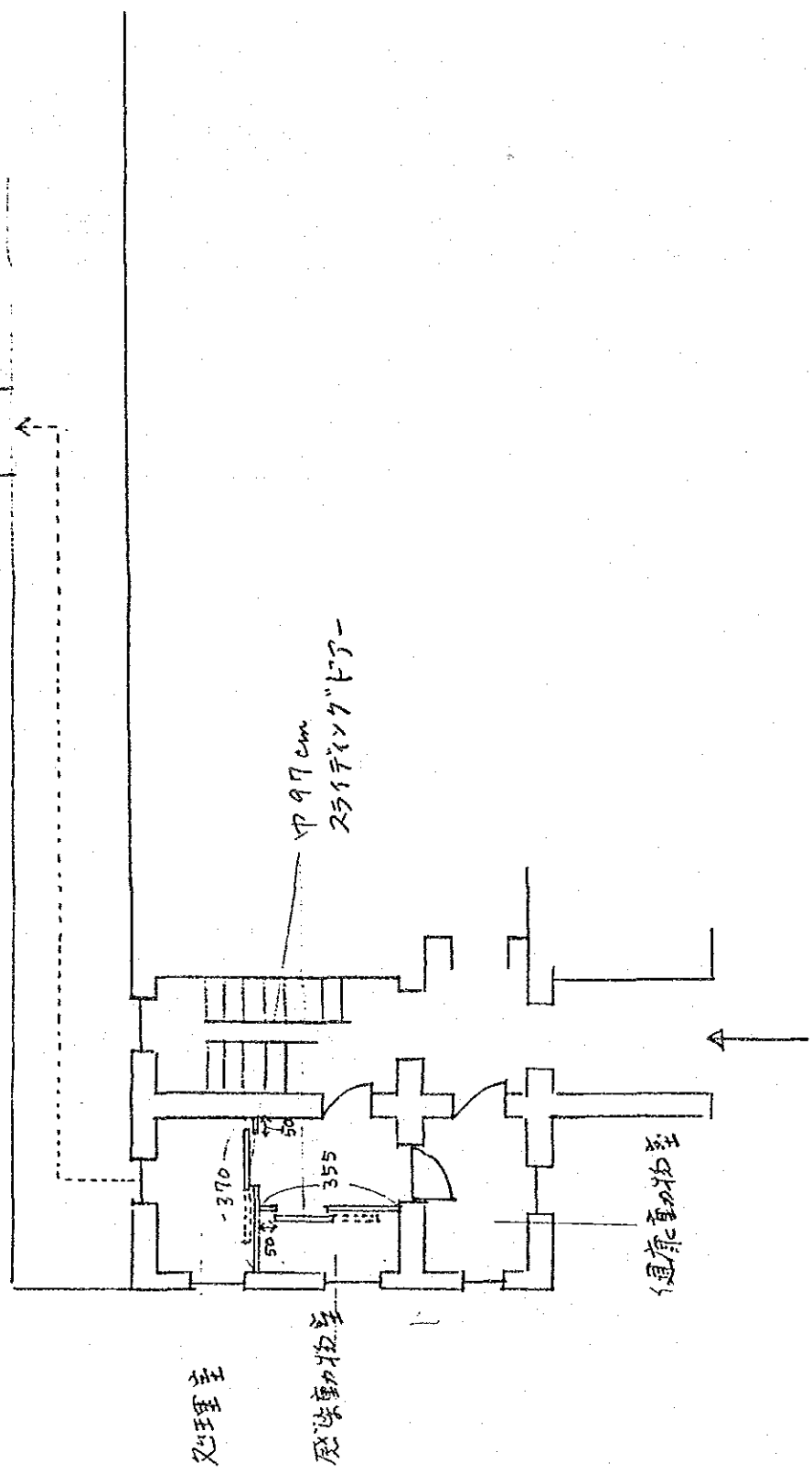
(No.)

以上

ワクチン製造工程
QC部門 (最上階)

スタート

仁科倒りニホから
廃棄希望



業 務 日 誌

昭和59年 12月 19日

氏名 相沢克幸

月 日	曜日	内 容
11.30	金	取田参 17:45, A2787便
12.1	土	Delhi 着, JICA テレ-事務所平井所長と日程打合せ。
2	日	Kasauli 着 12:00, Central Research Institute (CRI) 施設見学。
3	月	CRI 勤務。品質管理 (QC) 担当者 Dr. Rao Bhau さんと QC 部門準備状況聴く。日程打合せ。機器の点検等。工程品質管理分担について当事者と話し合う。
4	火	牛乳人血清HI抗体の検出保有調子。不活化細胞の復元。1982年度技術協力点検等。
5	水	カシ試験用ウシ乳液作製等。牛乳側参往機材点検。
6	木	カシ試験等。夕方に Roscommon へ帰国研修生到着パーティー。
7	金	カシ試験 不活化細胞培養等。夕方に Alasia へロウリークラブ出席。所長 Dr. Saxena 夕食招待。
8	土	中和試験等。牛乳側品質管理方法検討。QC 実験動物室同任切り検討。
9	日	休養
10	月	機器試運転。CRI 本部副所長 Dr. Ahuja, 担当者 Mrs. Shalman と QC (日本側) 方式について話し合う。設備見学。Dr. Saxena と討会上記の件について話し合う。
11	火	中和試験 実験動物部門見学 (製造用ウシ乳液等) 責任者 Dr. Gawal と QC 実験動物室同任切り上同検討。
12	水	所長 Dr. Saxena へ経過報告 (所長は 12/13 Delhi へ会議のため不在)。CRI 本部見学。夕 CRI 本部研究会にて日本側の方針について Dr. Saxena 要請)
13	木	牛乳側参往器具点検 不活化細胞の補給について 担当者 Dr. Rao Bhau と話し合う。副所長 Dr. Ahuja 夕食会。

(No.)

業 務 報 告 書

(年 月分) 昭和60年 1 月 11 日

国際協力事業団
総 裁 殿

第 号

氏 名	今川 栄次
指 導 科 目	日本脳炎ワクチン製造プロジェクトに係る技術指導
現 住 所	香川県三豊郡仁尾町丁223
通 信 連 絡 先	現住所に同じ 電話 0875-82-3469
勤務機関名および住所	(財) 阪大微生物病研究会 観音寺研究所 香川県観音寺市八幡町乙17番地

インド日本脳炎ワクチン製造プロジェクトにおける最終製品製造工程に設置した機械の試運転を、インドカサウリ中央研究所にて行いましたので報告致します。

- 出張期間：昭和59年11月30日～昭和59年12月18日
- 場所：インドカサウリ中央研究所
- 目的：最終製品製造工程におけるドライオープン・オートクレーブ、分注機ラインの試運転。

内 容

- 最終製品製造工程における現況。
- 各機器の試運転
- 各機器設置に伴う追加工事内容
- 各機器設置見取図
- その他
- 総括

(16 |)

1. 最終製品製造工程における現況

1) 電気事情

現在最終製品製造工程の建屋において電気の供給がままならぬ状態にあり、午前中は停電もしくは単相送電などがたびたび発生し、又415Vであるべき電圧も約15%ダウンの350V前後で送電されているのが実情で、オートクレーブの真空度などに影響がでている。

尚イート側の説明によると電気の負荷が多すぎる為に発生するとのことであり、この解決策に現在新規の送電線工事が行われており、1985年1月中に工事を終了し送電開始の予定。

2) ユーティリティ関係

蒸気

オートクレーブ関係で最も心配されていた、古いタイプのホイラーからの蒸気配管もすでに仕上っており、蒸気の供給も充分に行われている。又洗浄室での蒸気配管も現在工事中であった。

給水

オートクレーブは真空乾燥用に水封式ポンプを使用しているので、水を必要とするがこの配管もすでに終っており供給がなされていた。しかしその他各部屋への配管は現在工事中。

排水

オートクレーブ関係の元蒸気に1ヶ所、オートクレーブ本体に1ヶ所、計2ヶ所よりオートクレーブと平行に2本窓側に向って配管され床に埋設している。その他各部屋についてはまだ工事が行われていない。

3) 建屋の改修工事

ほとんど前回10月の調査時とかわらないが、今回各機密の試運転に必要な関係箇所のみ工事を行っているがまだ全体的には仕上がっていない。

2. 各機器の試運転

1) ドライオーブン (日東理料社製)

最初、日東理料見辺、川津氏により機器の操作説明を受けた後、ドライオーブンに負荷をかけず、空運転にて12月6、7日にかけて2回試運転を実施した結果、仕様書通りの性能を発揮し、トラブルもなく予定通り試運転を終えた。尚、滅菌効果については乾熱用インジケータを用い検査した結果、十分にその効果を得た。

2) オートクレーブ (日東理料社製)

ドライオーブンと同様に機器の操作説明を受けた後、実際にオートクレーブ内部に各種の滅菌物を入れて、12月6、7日にかけて滅菌温度121℃タイプ3モードで試運転を実施した結果、ほとんど仕様書通りの性能を発揮し試運転を終了した。滅菌効果についても3種類のインジケータと、実際にバクテリアを含んだ濾紙にて検査した結果、完全に滅菌されていた。

3) 分注機ライン (ケーター社製)

試運転は12月11日より12月14日にかけて実施した。最初に分注機ラインを凍結乾燥用にセットして、空瓶にて運転を行い、その後液状用にチェンジし、同様に運転を行い、最後は充填機にポンプをセットして、10cc用瓶に3ccの水を充填しながら全体で約5000本のバイアル瓶を流して試運転を行った。

その結果機械的にはほとんど問題なく仕様書通りの性能を発揮したが、資材面(ゴム栓、アルミキャップ、バイアル瓶)において、カット不良、寸法不良などがありトラブルの原因となった。

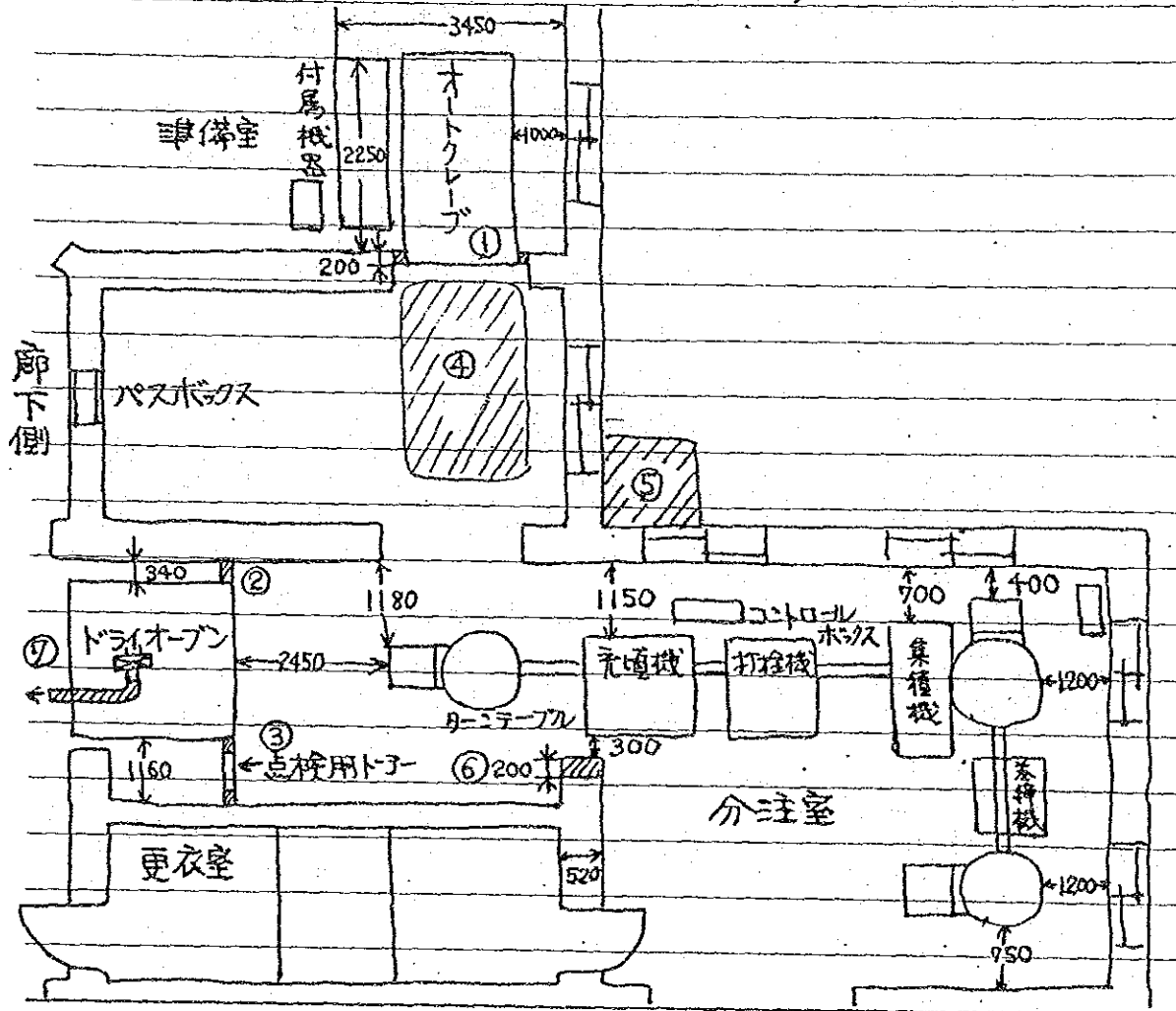
試運転としては完全ではなかったものの、今後インド側において資材面での十分な検討を行い改良を重ね、機械の機能をより発揮するものと考えます。

3. 各機器設置に伴う追加工事内容

- 1) オートクレーブの間仕切。
- 2) ドライオーブの間仕切。
- 3) ドライオーブ点検用ドアの設置。
- 4) オートクレーブ無菌室側床の水平出し。
- 5) 分注機ライン用コンプレッサー及び真空ポンプの設置。
- 6) 充填機ポンプ横の壁撤去(約200mm)
- 7) ドライオーブ排気用配管の設置。

※ 下記各機器設置見取図に工事箇所を示す。

4. 各機器設置見取図 (寸法単位: mm)



(No. 4)

5 その他

1) ドライオープン用パイロットランプカバー、及びオートクレーブ用台車調整ホルトを日東理科 見迎氏に依頼。

2) 分注機ラインにおいてニュータイプのバイアル瓶、ゴム栓を使用して試運転を実施した結果、寸法、材質等に問題があり使用できなかった。

※ ニュータイプのバイアル瓶：従来の瓶に比べて高さ 3mm 胴径 1mm 大
ゴム栓：液状用 プチル 材質

6. 総括

今回インド日本脳炎ワクチン製造プロジェクト最終製品製造工程のドライオープン、オートクレーブ、及び分注機ラインの試運転を実施した結果、機械関係についてはほとんどトラブルなく順調に終了した。

今後インド側において実際に日本脳炎ワクチンを生産してゆく前の準備作業として、次の点があげられる。

1) 資材の品質向上 (ゴム栓、ポリキヤップ、バイアル瓶)

現在の資材は寸法的にバラツキが多く、シュート部、ガイド等でつまりトラブルの原因となりやすい。

2) 分注関連作業に必要な器具機材の製作。

バイアル、ゴム栓滅菌缶、製品用パレット等

3) 分注機ライン設置無菌室のレベルアップ。

空調設備の設置及び床、壁、天井など建屋の仕上。

4) 技術者の養成

機械保守管理者、オペレーター等

上記準備作業は、次回予定されている日本脳炎ワクチンの大量生産を行う上にとって、必要不可欠なものであり、今後この内容を充分把握し、インド側の努力と日本側の協力により、これに対処し円滑に行えるものと考えます。

以上

業 務 報 告 書

(60年4月分)

60年5月15日

国際協力事業団
総 裁 殿

第 号

氏 名	渡 辺 浩 志
指 導 科 目	インド国日本脳炎ワクチン製造プロジェクト(品質管理)
現 住 所	横浜市旭区中沢町33-14, 201
通 信 連 絡 先	(社) 北里研究所 第1技術部日本脳炎部門
勤務機関名および住所	(社) 北里研究所

Q.C.の工事に關しては、Potency用マウス舎の除きほぼ完了しており、一部温水の配管、緊急用電気配線等を残すのみのように見られた。しかし、必要な機材は不十分であり、特に1984年度供与機材の未到着は大きく、また、インド側機材等の品質に若干問題があるように思われた。

Q.C.は、Mycoplasmaの試験の除き本来の業務はなく、予備的予備Potency試験を除き他の作業のトレーニングを中心に機材、技術的なチェックを行なった。技術的にはほとんど問題はなく、唯一の課題はインドの国状に合せたマニュアルの部分的変更のみと考えられた。しかし、資材面からの制約は大きく、この方面の充実・整備が、今後停電問題とつながりインドでのワクチン製造の重要なポイントとなることが予想される。

以下、これらの概要を報告する。

1. 設備・機材に關する現状

(1) CO₂ 孵卵器

Potency用2基のみ緊急用電源が接続されていた。(他のものは、通常電源のみ) 作働性は良好で、何んらの補修等の必要は認められないが、ホリによるAir filterが目づまりが日本よりも早いことが予想された。なお1基のCO₂コントロールノックがずれていたが、インド側で

(6 /)

補正するとのことであった。(3~4 mmの(-)ドライバーで可)

(2) 37°C と 25°C 用 孵卵器

どちらもインド側の機材で、37°C 用のものはドアの密閉性がややあまい点があり、25°C 用のものはまだ使用していないかった。

(3) デューフ°フリーザー

-80°C 用は Revco 社製、-20°C 用はインド製であった。どちらも正常に作働しており、機械的にはなんら問題を認めなかった。ただし、Revco の自記温度計用紙は日時・温度がずれていることが多く、停電、特に長時間の停電後は補正が必要であった。

(4) 乾燥滅菌器・オートクレーブ

正常に可働中。ただし、オートクレーブは水質(水道水)に問題があるため、水交換水もしくはスチーム蒸留水を使用し、1~2ヶ月に1度洗浄するを提案して来た。

(5) 卵用孵卵器 (ハッチャー)

正常に可働中。ただし停電問題あり。

(6) 製氷器

4月20日から使用開始。なおインド側で電圧安定器をこちらに接続していた。(Dr. Rao Bhanu によると Bulk の製氷器は停電等による電圧変動により、一時不調となっていたとのこと。この為安定器を付けたい。なお、フリーザー、孵卵器、及びハッチャーには安定器が接続されていた。)

(7) 遠心器

(No. 2)

Bulkで使用しているものと同型(日立大容量冷却型)が設置されており、付属の各種ローターとモーターに正常に作働した。

もう一台、インド製卓上遠心器もあるが、その品質は若干悪い。

(8) ラミナフロー (クリーンベンチ)

正常に作働するものの、フロパンガスの品質に問題があった。ガスと空気の調節、ロ火の調整が難しく、すすの発生が多い。また、ホコリによるFilterの目づまりが早くくることが予想された。

(9) メンブレンフィルター及びミリポアポンプ

Bulkに貸し出し中。なお、別に陰圧ポンプは一台あるものの、圧力調節は容易でなく、ホースの接点を手であてることで調整していた。

(10) pHメーター

pH電極からの液もれがひどく、洗浄の後KOHを補充した。作働のチェックは試みたものの、停電等のトラブル等の為調整は不十分であった。しかし機能上のトラブルはないものと考えられる。

(11) 化学天秤

正常。ただし、実験台が事務机の為その安定性に問題があるように思われた。また、薬包紙がなく、便箋様の紙を切ったものを使用していた。

(12) 顕微鏡

正常。なお、光軸調節を行なってきた。

(13) ハンディー・クーラー

正常に作働。なお、夏期の室温は 30°C 以上が考えられ、不活化試験の透析をどのように行なうかが、若干不安であった。

(14) 冷蔵庫

インド製中型(約150ℓ程度と推測された)1台設置してあるが、培地・試薬の保存のみならず、初代培養のトリプシン処理、Potency用検体の保存等にも使用しており、容量が不足していた。実際、トリプシン処理中は、培地類を外へ出して行なっており、室温が $25\sim 29^{\circ}\text{C}$ もあることから、夏期には問題となることから考えられた。この件につき、Dr. Saxenaへあと数台の冷蔵庫、もしくは小形の氷室(もしくはBulkの氷室の使用)を検討するよう提案した。

(15) ガラス器具

日本からの供与品はすべて良好であり、インド側のものもほぼ満足できる品質であった。どちらも新品は細胞の付着性が良いものの、反復使用の際に付着性低下をきたした。調査の結果、洗剤のpHは 8.5 くらいあり、水質の問題と相まって洗浄法が悪いことが判明した。この旨、これを相談の上改良した。

(16) 培地・試薬

供与された培地はMEM等を除き、あまり使用していないから下(フィルターが貸出し中の為)。LE培地、Hanks, Earle液は、HI-MEDIA社(インド製)のものを利用しており、Dr. Rao Bhauc によれば、同社は原末を輸出していることから、亦リオ等の他部門でも使用していることから、特に問題はないようである。

(No. 4)

同社の培地は 1 vial 1 日分 となり使い易かったが、
比較用培地の作製ができていなかったこと、及び BHK が不良な
為 十分な試験はできていなかった。

Mycoplasma 用培地は、陽性対照が十分に発育すること
から問題は無いものと考えられた。なお、他の Mycoplasma と
あつかっている部門からも入手できるものごとであった。

試薬のうち供与した寒天、中性赤等には毒性等の問題は
なく、十分に使用できるものと思われた。しかしインド側で
調達したその、特に重曹は同じ分析用グレードでもメーカー
による品質のバラツキが大きく、何社か検討した上、LOBA社
(LOBHA?) が最も良好であった。他のインド製試薬は検討
できなかったが、B.C. の方ができるものごとであった。なお、これら
試薬は入手まで数週間、そのによるとそれ以上の日数がか
かるとのことである。

(17) 蒸留装置・イオン交換装置

インド製 ガラス蒸留器 2 基 を使用していた。

イオン交換装置は、3ヶ月程使用しているものごとであったが、
2ヶ月程度の使用と推測された。しかし樹脂の劣化は著しく、
Back washing を行なうと白濁した水が出てくる状態であり、
イオン交換水中に白色微粒子様汚濁物が多数認められたため、
再生するよう指示して来た。このイオン交換水を蒸留すると、
1基目の内側に3日で結晶様のものが付着し、このDWを
BHKの培養に使用すると2日目から細胞の剥離を認め、
継代に使用すると付着性、生存率ともに低下し、2日目以降剥離
するものが増加して来た。4月中旬から、スチーム蒸留水を用い
使用を初めたが、これにも少いながら微粒子様汚濁物が存在
しているようであった。この蒸留水をさらに蒸留するものに

(No. 5)

してからは、以前と比較すると良好であった。しかし、良い細胞を用いての比較ができていなかったため、十分な判定には至らなかった。

この水質の問題は、培地調整のみならず、洗浄等にも用いている水道等から、停電問題に次いで大きな問題となるであろう。なお、スチーム蒸留水を再生したイオン交換樹脂にかけ、2回蒸留する水道を提案したが、今後検討することとなった。

(18) 電気・配線

配線は完了しているものの、インド用プラグに改修していないものが多く、日本用プラグにコードを付け、それをソケットに差し込むものが大部分であった。この件は、順次交換していくとの話である。

停電が最大の問題であった。今回滞在中昼間平均3~4回/日の停電があり、Reccoの自記温度計を調べた結果、4月19日~28日までに計約57回の停電を認めた。(内訳:室温まで温度上昇;2回(19日と28日), 10~20℃の温度上昇(-70~-60℃);2回, 3~4℃の上昇(-70℃以下を維持);22回, 2℃以下の上昇;30回以上) また、停電時間も数分間のものから数十分程度が多いもの、しばしば数時間以上のものもあり、しかも緊急用回線の停電もままあった。また、停電前後に電圧変動が大きく、これに伴ってヒューズ切断による停電に至ったケースもあった。これら停電による作業の遅延のみならず、フリーザーの温度上昇による Stock Virus のカ価値下(4~5 logの低下), CO₂コントロール不良や温度降下による培養細胞の死滅, 胎児の発育中止や遅延は重大な問題となっている。停電問題についてはC.R.I側を認めであり、ハッチャーを含めすべての孵卵器
(No. 6)

フリーザー、冷蔵庫等主要機器へ緊急用回線を接続する
よう Dr. Saxena へ要望して来た。

2. 技術に関する現状と向題点

(1) Potency 試験

本試験に関しては、(a) Primary CEF (b) LACA系マウスの免疫
応答性の二点が向題と考えられた。

(a) Primary CEF

この向題は鶏胎児の状態が最大のポイントであり、これは
さらに二つに分けられ、一つは停電による胎児の發育不良・死亡
である。他方は入手経路によるもので、冬期は州のフロリ
ダから入手しており、この頃はマウスの良好な胎児(生残率98%)
で細胞も良好であったとのことである。その後入手先を変更
し、さらに外気温の上昇に伴ない胎児の状態は悪化し、
最低生残率50%にまで到達している。ただし、この点は
停電による相乗効果も大きいと思われる。調査の結果、
この業者は各所から回収し、バスで届けるまでの日数程
かかることが判明し、入手するまでに死卵等の増加等が
おきているらしい。この結果は、9~10日卵の胎児に毛の
はえていないものが多い(約半分)ことから、正しいものと思われる。
これらの胎児をトリフロン処理すると、最も悪いとまでは
15分間ですべて消化されることあり、平均的には45±15分
程度が良い成績であった。なお、これらの各点につき、
(入手経路、鶏系統、トリフロン処理)5月中に再度詳細な検討を
行なうとのことであった。

その他、インド製スターラーは温度上昇をきたし、トリフロン
処理中に液温がかなり上昇するため、木箱中にコルベンを入れ
て消化するよう改めた。また、回熟数が速すぎる点も

(No. 7)

あったが、JICAからの荷物が到着したので解決されるものと考えている。

遠心用ボトルの容量は1ℓであるため、60ヶ以下の卵では沈渣カリング状になり、デカンテーション等では上清がかなり残る回程度の遠心が必要であった。この点も他のボトルが到着するまで解決されるであろう。

b) LACA系マウスの免疫応答性

この系統のJEウイルスに対する感受性は、Bulk作製時の発症等(市来氏談)、及びStock VirusのLD₅₀値等から脳内での増殖には問題はないものと考えられた。しかし、このマウスをPotency試験に用いた場合、どの程度の抗体産生があるかを知る必要を感じた。滞在中に予備的予備Potency試験を始めたばかりであるうえ、Plaque形成がPrimary CEFの不調から十分に行なえず、目安すら調べることもできなかった。この件につき、今後種々のBatchで予備Potency試験等を反復して行なうことで、ある程度は判明してくるものと思われる。Dr. Rao Bhauらは標準ワクチンとして予研参照ワクチンを用いて、この点を十分に調べたいとの希望を持っているが、参照ワクチンは4本しかなく、予備的予備Potency試験に使用するには不足しているような状況である。なお、冷蔵庫が停電で温度上昇をきたすため、一度溶解したワクチンの安定性を考え、予備的予備Potency試験(2検体)には1・2回目とを使用しなかった。ただし、その後検体が増えているので5検体くらい集まった段階で使用するようになっていく。個人的意見としては、軌道に乗るまでの2〜3年間は、予備的予備Potency試験用を含め毎年10本以上の参照

(No. 8)

ワクチンを供与するに必要ではないかと考えている。

(2) Mycoplasma 試験

C.R.I. では WHO 方式を使用しており、日本方式と比較検討した結果 WHO 方式で十分であったため、Dr. Rao Bhallらと相談の上、以後この方式で行なうことになった。(ただし、もしも日本側でクレームがあった場合は、後日連絡することになっている) この件は、Dr. Saxena との会談でも合意された。方法は下記の雑誌に記載されている。

Manual for the Production and Control of Rabies Vaccine in VERO Cell Cultures.

WHO, BLG/RA/ST.1 Rev. 1
WHO Health Organization.

(3) 不活化試験

BHK の継代が不調であった為、ほとんどの検討が中止された。インド側は初代ハムスター腎細胞を複製することを提案して来たが、Primary CEF, BHK とともに不良であったことから、これらの諸問題をある程度解決され、少なくとも BHK の培養が十分に行なえるようになるまで新たな細胞を作らぬよう指示して来た。

3. その他

(1) インド側の自助努力も必要ではあるが、本プロジェクトが軌道に乗るまでの二、三～二年間は必要な器具・試薬類はできるだけ多く供与することが良いのではないかと

(No. 9)

考えられる。その後除々にインド製のものと交換していけば、個々の検討も必ず不必要なトラブルが少なくなるものと思われる。

(2) インド側の技術、特に日本へ来た研修生の技術は基本的に十分であり、残された問題は経験を積み重ねの自己トレーニングと、インドの国状に合わせた技術の変更であると考えられた。この件は、Dr. Rao Bhanuらも同意見であった。

(3) C.R.J.でのマウス生産は、種々の問題はあるものの、飼料環境ともかなり良くなるあの程度の施設ではよくやっていると感じた。

(4) 十分な資材が未到着・未調達である現在、しかも、停電断水等のトラブルの中、Q.C.はかなり努力しているように感じた。しかし、このような段階で日本から専門家を派遣するのは適切な時期であるか疑問もある。ただ、ワクチン製造の基礎作りで行くのであれば十分に意義のあることと思われるが、現状、特に具体的な状況、及び各々の問題点を掌握するまでに2週間程かかり、さらに対策を講ずるには1ヶ月間(実質3週間)ではやや短かく、この70日プロジェクトのみを考えるならばあと1~2週間くらいは延長が必要ではないかと感じた。

以上

(No. 10)

業 務 報 告 書

(60年4月分)

5.60年 5月 8日

国際協力事業団

総 裁 殿

第 号

氏 名	市 來 健 元 助
指 導 科 目	インド国日本暖房ワグマン製造プロジェクト(バルク作成)
現 住 所	山口県光市虹ヶ丘 三丁目五-七
通 信 連 絡 先	同 上
勤務機関名および住所	武田薬品工業株式会社 光工場 生物製副節 山口県光市光井字武田 4720

全般的に工事は遅小ながら若干進行している状態であり、
1983年換機の暖房機材の未到者を中心より満足な状態で
対応ができません。

しかし、C.R.I側の努力により、マシンの通 10,000匹以内
の生産体制が確保されました。

今回の出張による専門家が必要と認め、K-IIの理用材料を目標量に
達致するように推進の確保がとられています。

さらに付帯品のマシンの修理について検討の結果、解決が
見込まれます。

なお、概要については以下のとおり報告いたします。

1. 設備進行状況

1) 月並大容量冷却送風機

4台の準備が完了した(RF:精製室)が2台は通電しており
本機は2台は常時稼働状態にあり、1台は精製室の
(注)

から、電流、電圧の計測から使用中のトラブルが度々であった。

2) 冷蔵庫

2) シェルス側の冷蔵庫は4月10日より製造搬入に入り4月27日に借用冷蔵庫より保管品を移動した。しかし、電源供給のトラブルから規定温度(4℃±2℃)を常に保つのが難しい状態である。

また、不活化側の冷蔵庫用クーラーも4月29日に搬入され取付工事が進行中であり完了予定は5月中旬頃と見られている。

3) 高圧乾燥減圧機

設置が遅々としていたようであり、生産業務に多大に支障をきたしており、高圧減圧機については4月終(8月末)に、乾燥減圧機については5月終(6月末)に各自の回答を得た。

4) 真空ポンプ及び陽圧ポンプ

真空ポンプ及びエアーポンプの取付及び配管は完了しているもののあれあれの滞在中に稼働に至らず、真空ポンプは5月4日(土)の稼働時より、使用可能と見られている。

なお、現在別の小型真空ポンプを急用稼働している状態である。

5) その他

① 車庫内の水浸塗装(壁)及び車庫内窓のガラスに代るガラスの設置は大部分が完了している。

また、床の塗装(主として原液調製室、精製室等)の提案に対し難題と承った後の検討を要請した。(既:リ)リラムの検査時と)

② 製氷機の設置場所の移動の提案に前回は了承したが、再度確認したところ配管工事(水道、電気)等の問題から
(No. 8)

斡色を示す。

① 前日投票のFIM取付(運山_{2H}, 創首_{1H})は未着手である。

② 硝子器具及びのび線管に噴射式装置)ガルの設置及び5月
1日付入庫の海運品(1983年技術協成車品)のメンテナンスを要請
す。

2. 原材料関係

1) フォタシン

結論的にはY, K, K及びN, B, C フォタシンは河川条件
で使用可能である。

ホウリン添加物の規制物の禁止については、日本での実績
は除く。このほかフォタシンの添加濃度を変更することによ
り、インドでも至適条件を殺菌することになった。

それぞれの経験ではメーカーの違い、ロットの違いによる、条
件が変わるためロットが変わる前後至適濃度を決めるに
ついて指導が行った。

2) マリス

マリス供給計画を遅れ気味のところがあり、新設備の工事
現在進行中ではあるが完成まで一ヶ月以上はかかるであろう
ことである。現在の供給数日額は10,000~12,000元程度である。
原価は「モリ」より大きい。Mリス(3~4W:13~17g)が望ましい
ことである。

3) 糖コリス

現在それぞれの感するところの特長は、糖コリスは水質が使用
しているコリスが大きい。糖コリスはTE-SECTIONが修整

(No. 3)

手動のため別の保形庫に保管してあるため管理が大変なようである。

なお、前回繰代一代目のものの凍結乾燥の指示に対して、未着手であり、とりあえず繰代が多く(5代以上)遊回による管理に依頼した。

3. 生産状況

1) 労務

総勢、5名でババの製造と行っているが、設備、物資等の運搬等の面から見て、10,000円/2,000円のは込み、処理が適当と思われる。

ババの対応は研修終了者4名

シニアババ 27-IV 5名

シニアババ 27-IV 3名

シニアババ 27-IV 2名 である。

2) 半製品 (別紙(1)参照)

別紙(1)に示すところであるが、今後の生産予定について打ち合わせが行った。

3) 作業方法

器具の準備方法、作業性、及び操作につき若干の問題があるため指導を行っており、徹底するため日本へ派遣した研修生に対して on-the-job-training を行ったよう要請した。

4) その他

作業の開始スケジュールが早く作業の進捗は申し込まれた。そのためにも早期に解決策を講じたよう強く

(No. 4)

要請を行ひ、二週間後迄には解消される見通しがある回答を得。

4. 次期東内家派遣のための準備

1) 生産計画の材料の確保

別紙(1)に示すようにおれおれ滞在中に精炭の在庫約40t、4/29(月)5,000tの購入予約が追加で追加し、総量130tに及び、5月分のもので6月中旬に不足見込みの予約約30tを見込め、全量約130tのK-II用材料が確保できると見込。

2) K-II運搬機

支障なく運搬可能かあるか WANGNEC社より確認済み。(試運転後使用済み)

3) その他

60%厚精炭の調製を試みた。(10t:HF後 試運転後
終了)

また、再度 T-PHA の件について催促を受けた。

5. 生活環境

4月～6月はバスターシーズンらしく快適な毎日であった。特にホウソウの給備は申し分なく、また、JF-SECTIONの各家庭の料理も好評なようであり、日本食への郷愁は全くわかれなかった。

また、おれおれの片言合話も充分に対応でき、異文化が通じ合う環境が実現し、遂にこれ大福なく重宝を果すことになった。

(No. 5)

これこそは JE-SECTION の一人一人の心温む配慮の
おかげと感謝の気持ちがある。

いかに人の都合は心と心のきずなの等々身と心で感ずる
ことには言葉の障害の不安は全くわがわがである。

また、日本の情報から遠くから来るため、同僚や家族の石の
壁りが一層ひどいのである。

なお、滞在期間については 業務の進行上 一ヶ月は中途半
端であり、さらに三〜四週間の余裕がほしいのである。

以て

生産実績及び計画概要

別紙(1)

60. 5. 9

Batch NO	接種		精製		不活化完了	摘要
	日付	接種数	日付	出来高		
1/84	84.12.3	1,100	84.12.7	- L	-	
2/84	84.12.6	1,100	84.12.10	1.1	85. 1.14	合併, MFろ過検討 → 17.0 (L)
3/84	84.12.7	1,100	84.12.11	-	85. 1.15	
4/84	84.12.10	1,100	84.12.14	0.8	85. 1.18	
5/84	84.12.11	1,000	84.12.15	0.9	85. 1.19	
6/84	84.12.14	1,000	84.12.18	2.6	85. 1.22	
1/85	85. 1. 5	5,300	85. 1. 9	6.8	85. 2.13	
2/85	85. 1.10	5,300	85. 1.14	7.4	85. 2.18	
3/85	85. 1.15	5,500	85. 1.19	8.2	85. 2.23	MFろ過検討 → 6.0 (L)
4/85	85. 1.18	5,250	85. 1.22	8.0	85. 2.26	MFろ過検討(Preのみ) → 7.7 (L)
5/85	85. 1.24	5,300	85. 1.28	8.3	85. 3. 5	MFろ過検討(絹布+Pre) → 8.2 (L)
6/85	85. 1.31	5,300	85. 2. 4	7.5	85. 3.11	絹布ろ過 → 7.4 (L)
7/85	85. 2. 7	5,300	85. 2.11	8.2	85. 3.18	
8/85	85. 2.16	2,900	85. 2.20	4.7	85. 3.27	
9/85	85. 2.23	10,500	85. 2.27	15.0	85. 4. 4	
10/85	85. 3. 8	5,350	85. 3.12	7.6	85. 4.15	
11/85	85. 4. 4	5,150	85. 4. 8	5.0	85. 5.13	
12/85	85. 4.12	7,250	85. 4.16	8.4	85. 5.21	
13/85	85. 4.15	5,700	85. 4.19	8.95	85. 5.24	
14/85	85. 4.20	4,900	85. 4.24	7.1	85. 5.29	
15/85	85. 4.22	4,900	85. 4.26	6.7	85. 5.31	
16/85	85. 4.27	4,850	85. 5. 1	6.5	85. 6. 5	
17/85	85. 4.29	4,850	85. 5. 3		85. 6. 7	
18/85	85. 5. 4		85. 5. 7		85. 6.11	↓
19/85	85. 5. 6		85. 5.10		85. 6.14	予定
20/85	85. 5.10		85. 5.14		85. 6.18	
21/85	85. 5.13		85. 5.17		85. 6.21	K-II 可能 (計約 160L)
22/85	85. 5.18		85. 5.22		85. 6.26	↑
23/85	85. 5.20		85. 5.24		85. 6.29	
24/85	85. 5.25		85. 5.29		85. 7. 3	
25/85	85. 5.27		85. 5.31		85. 7. 5	
↓		↓	↓	↓	↓	

業 務 日 誌

60年5月11日

氏名 市原 健之助

月 日	曜日	内 容
4. 4	木	東京：成田発 JL 465便(13=60) DELHI 着 (20=45(現地時差)着) JICA 本井所長の長机と食卓 HOTEL-KANISHKA A
5	金	行前手配の打ち合せ
6	土	DELHI 発 IC-47便(06=15) Chandigarh 着(06=55) Rajinderpal 氏と食卓 Kasauli A → ALASIA HOTEL 着 10=55 午後 C.R.I センター SU-JE-Section 新所 Sasana 所長と打ち合せ 各氏と面会、現場視察(JE-Section)
7	日	休日
8	月	検眼 → 精製(技術指導) No.11/85
9	火	機巻の検眼状況の確認(意匠誌 記号付付、71-9-1、PH-1-9-等) 生産部と調整打ち合せ 精製用溶媒(アセトン)調製指導
10	水	洗濯実験(汚染物除去の速さ)計量打ち合せ(少量実験)
11	木	精製用溶媒(PBS)調製指導、分析計の確認
12	金	生産計量(今月の生産計量4月~6月)打ち合せ
13	土	C.R.I 休日
14	日	休日
15	月	アクリル接種・指導：7,500匹 (No.12/85) SU 創育に加工指導 アクリル品質に加工 FOWAL の確認
16	火	検眼 → 精製(技術指導：無菌操作) No.12/85 アクリル製造環境の検討
17	水	製造使用容器、器具等の準備方法の現場指導
18	木	洗濯実験(再洗濯：1/84~2/85 合成品) - I
19	金	検眼 → 精製(技術指導：操作全般) No.13/85
20	土	アクリル接種・指導：4,900匹 (No.14/85) 使用器具準備方法の指導
21	日	休日
22	月	アクリル接種・指導：4,900匹 (No.15/85) 汚染物除去洗濯実験 - II (No.14/85)

(No.)

業 務 日 誌

60年 7月 11日

氏名 市來 健太郎

月 日	曜 日	内 容
4 23	火	C.R.Iセンター見学 浮遊実験用器具準備等の説明 1号生産設備及び2号設備(工機)の見学 冷感庫(器)の稼働、心臓交換手法の指導
24	水	操盤→精製(技術指導) No.14/85
25	木	汚染物除去浮遊実験-III (No.5/85) K-II連10日程打合せ 最終心臓工程設備見送
26	金	操盤→精製(技術指導) No.15/85
27	土	1号生産設備指導(4,850匹) No.16/85 5月、6月の生産計画、及び浮遊実験K-717打合せ
28	日	休日
29	月	汚染物除去浮遊実験-IV (No.6/85) 1号生産設備指導(4,850匹) No.17/85 状況報告及び心臓問題に7117 SAXENA氏と相談
30	火	心臓交換手法の指導 産婦人科室での指導
5.1	水	操盤→精製(非常全般指導) No.18/85 各種実験器の外観及び心臓性能の再確認
2	木	帰国のため CHANDIGARH CHANDIGARH発 IC-484便(72=30=1.5 ^時 遅小) DELHI着 13=15着 JICA在印所長へ業務報告
3	金	業務内容に7117号機交換心臓打合せ(飛田、市來) 業務総理報告(JICA)
4	土	DELHI発 JL-466便(04=00) 東京/成田着 (18=00) 東京都内泊
5	日	東京発 10=00 徳島着 16=01

以々

(No.)

業 務 報 告 書

(60年 6月分) 昭和60年 7 月 16 日

国際協力事業団
総 裁 殿

第 号

氏 名	吾沢重克 井上孝夫
指 導 科 目	日本脳炎 ワクチン製造 (バルブ作成B)
現 住 所	千葉県船橋市海神3丁目27-1-508号
通 信 連 絡 先	千葉県血清研究所
勤務機関名および住所	千葉県血清研究所 千葉縣市川市国府台2-6-1

バルブB、ゾーナル遠心工程を機械操作、管理以外の
ワクチン製造の観点から報告する。なお、操作及び維持管理について
後述する。

1. ゾーナル遠心に関する設備

i) ゾーナル室： ゾーナル遠心機室は広く、機械操作、維持の
点からは特に問題がなく、操作はやり易い。しかし床がコン
クリート（そのものであり、又窓を通過してクーラ室に入ること
のため、ワクチン製造に十分に適した状態とは言えない。近々のうちに、床にリリウム
をけるとのことなので、そのように改善できれば埃の問題はある
程度解決できるが、窓から入ってくる虫等の問題は依然残っ
ている。K-IIゾーナルに窓から直射日光が当たることについては、窓に
カーテンを取り付けたので、一応この問題は解決した。

ii) 冷蔵室： 私達が6月1日着いた時、2~3日で完成した冷蔵室
として使用できるようにするとWagneo氏は言っていたが、その後1ヶ月間
うちに作動しなかった。従ってゾーナル遠心後のバルブワクチンは不活化
に用いられる冷蔵室に保存している。しかしこれは最近のうちに解決
されると思われる。

iii) 洗滌室： エンブーアセンブリーの洗滌には問題はなかった。

(60 ())

2. 器材

i) サンプル フード システム : 当初 サンプル用大型 927 (30~500) がなかったため、全て 2027 を使用した。1 回分のゾーナル運転に用いられるランの数が多いので、フードラインとの接続が十分スムーズにいかなかった。現地に行く前、ある程度考えていたが、シリコンチューブの不足等、完全にフードシステムにすることができなかった。しかしこれは以後現地でも十分改善できるものと考えた。

ii) 分画びん : ゾーナル停止後蔗糖分画を集める分画びんに目盛りがなく 100 ml ずつ正確に注ぐことが出来なかった。このため、密度勾配曲線に氷が原因と思われる歪みが生じていた。又その分画びんに付るゴム栓がびんに適合せず、滅菌液のろがしもあり、栓をする操作がスムーズに進まなかった。

iii) 分光光度計 : 日立製の最新機器が入っていたが、未使用の予りであった。Wagneo 氏にすると、テリーの代理店に人を派遣してくれるよう再三手紙を出したが、全く返事がなかった。このため、Instruction 通りに使用を試みることも考えたが、時間が取れないので行わなかった。尚代理店から人が来た場合、Wagneo 氏が、おかせてみるこのことであった。従って今回のゾーナル分画について蛋白測定は行わなかった。

3. 技術面

i) 機械操作 : これに用いた後述のごとく Wagneo 氏が、ほぼ完全であるが、更にもう一人知識が深い操作ができるスタッフが育ってほしい。

ii) 無菌作業 : 日本に来た研修員が中心になって作業しており、基本的には一応問題は無いと思われる。しかし無菌室が無菌室としての機能に欠けており、滅菌物の準備、

無菌室への出入り等において少なからず問題点があり不安は残る。工程が進めば進む程慎重さが要求されるが、安心して作業のできる無菌室がないのが現状である。そのため、ゾーナル分画を集めるにあたって、QCセクションのグリーンベンチを借用し、そこで行った。このグリーンベンチはバルブセクションでも必要と思われる。Misra氏に購入するよう求めた。彼は2台購入すると話していた。

ゾーナル部門は機械操作がメインであるため、どうしてもengineerが主役と果すことになる。microbiologistとengineerとの賢的差があまり、ゾーナル部門が、ワフチン製造の一環であることが、engineerにはまだよく理解されていない点があり、多少問題がある。しかし、ゾーナル遠心が、ルーティン化されれば、徐々に改善されていくものと考えられる。

4. ワフチン原液 (Bulk material)

今回の滞在中、3回(3 bulk)ゾーナル遠心を行った。4ラーに短時間のトラブルはあったものの何れの運転もスムーズに済み、ゾーナル遠心工程としては、一応の成功をおさめた。ゾーナル室に置かれている Refractometer による分画域と測定し、又、r-PHA で日産抗原量の測定を行った。(資料-1) ゾーナル初回運転 (Bulk No. 85001) について述べる。若干蔗糖密度勾配曲線に乱れはあったものの、蔗糖濃度と、抗原領域は、期待どおりの一致をみた。(尚、r-PHAは Bulk-A 藤田氏の協力と得て行った)

今回のゾーナル遠心は、Bulk-A と相談し、回転数は 32000 rpm で行った。抗原測定は r-PHA で行ったが、得られた成績は、生ウレタのまゝゾーナル遠心する干葉血清の方法とよく一致しており、この遠心工程が成功したことが確認している。

このゾーナルフラクションを集め、ホルマリン、チメロサルと添加し、3 bulksをついた。これらのバルブの試験成績(資料-2)

については、無菌試験、蛋白質含量測定、カ価試験を行うよう指示してきたが、初回ゾーナル運転分 (Run No. 1) については、サンプルを日本に持ち帰り、凍結乾燥テストと阪大徹研で行ってもらう予定である。又蛋白質含量、その他化学試験についてインド側との比較のため、干葉血清でも行った。その結果、蛋白質含量に相当のひらきがあることがわかった。(資料-2)

5. まとめ及び同題点

今回行った3回の本番運転と4回の試運転は、小さいトラブルはあったものの、ゾーナル遠心機は順調に作動した。又それにより出来上がった3 bulkも、無菌試験、蛋白質含量及びカ価試験の結果が出ていた。最終的には判断できないが、ゾーナル後の分画測定値から見ると一応の成功と考えられる。

同題点としては、

1. ゾーナル室の環境をもう少し改善する。
2. ゾーナル遠心後の bulk materials 保存用冷蔵庫を早急に作動させる
3. 目盛付分画びんを用意する。
4. 分光光度計を早急につかえるようにする。
5. 運転中にゾーナル室への出入りをある程度厳にする
6. bulk materials の処理のための無菌室、あるいは clean bench を整備する
7. 化学試験、特に蛋白質含量測定を正確に行えるようにする。必要なら日本での研修も考慮する。

以上

バルクBのKIIゾーナルの操作及び維持管理について
報告いたします。

まず始めに、従来より心配されていた電源の供給
ですが、KIIゾーナル運転中は、発電機(ジェネレーター)より
供給する事が確認いたしました。この事により、研究所内
にたびたび停電がありました。KIIゾーナル関係器機
については、順調に運転する事ができました。

1. KIIゾーナル遠心機の運転及び保存状態

○ 保存状態

前回液遣、おいた専門家の指示通り、オイル漫げにタビンが
されており、オイルが多少減ってはいましたが保存は、良い
状態であった。

○ 運転状態

今回の液遣中に7回の運転を行いました。運転データに
ついては別紙の通りであります。

リストドロップとベアリングオイルプレッシャーについては、少し多めで
あったので、適正值になるよう調整いたしました。

又、6月2日にENI技師のケル・カルソン氏が来印された際
にリストエアプレッシャーと再度ベアリングオイルプレッシャーの調整を行い、合
せてサービスメンテナンスも行いました。そしてアッパーベアリングの内かまどに
ゆるみがあったので交換をしました。以上により、7回の運転は、
ほとんど異状なく行なう事ができました。

2. KIIゾーナルの運転操作について

CRIに着いて、最初の討議を行い、KIIゾーナルの運転操作に
ついては、ワケネ氏を含め5人で行なうという事であった。

それゆえ、テスト運転とサンプル運転に全員が参加できる

ような計画を立てなければならなくなり、大変苦心した。

しかし6月6日のサンプル運転後に再度討議をし、常に全員参加の運転計画は不可能であると判断し、主にワグネ氏とメーサー氏に対して、集中的に教える事とした。

テスト運転4回とサンプル運転3回、合計7回の運転操作の結果、ワグネ氏については、日本でのトレーニングが済んでいる事もあり、充分今後の運転操作は可能であると思われる。

メーサー氏については、CRIでの7回の運転操作だけで、しかも主に、ワグネ氏が操作を行なったので、充分理解されたとは思われない、今後経験を増やす必要がある。

又、運転操作に関して、ワグネ氏1人では今後問題があると思われるので、もう1人運転操作のできる技術者を養成する必要があると、Dr.サセナ及びワグネ氏に言いおいてきました。

3. KIIゾーンの維持管理 (メンテナンス) について

KIIのメンテナンスについては、ワグネ氏に対して集中的に教えてきました。これについては、経験とその人のセンスに負うところが大きく、又それを必要とする所が何ヶ所があるため、しかし短い期間に経験回数を多くさせるために、このような方法を行ないました。その結果、回数を重ねるたびに疑問点が解消され、技術もマスターしていった。ENI技師のケレカルソン氏も、

ワグネ氏の技術なら充分維持管理は可能であると言った意見であったが、私も同意見である。しかしワグネ氏の仕事の範囲が広いため、今後メンテナンスのできる技術者を養成する事が必要だと思われる。ワグネ氏もこの事について理解を示していました。

4. 今回派遣時における問題点

- 千レーポンプが、1時間に1回の割合でストップする。その度にリセットボタンを押しに千レー室まで行かねばならない。
- ※ 保土谷技研の横山氏と相談し、対処の方法を手紙でワタネ氏に連絡する。
- シリコンプラグ(斜に $9\text{mm} \times 6\text{mm}$)が足りなく、サンプルロードシステムを作成するのに苦労した。
- ※ $10\text{mm} \times 6\text{mm}$ を加工して現在使用しているが、至急CRIに送る必要があります。
- センサリゲスプラグがない。
- ※ テフロンでスプレックを作成した。充分使用できる。
- 特殊インジェクター台が個定式で調整が難しい。
- ※ 鉄板で、クビンブロックに個定式の台を作成させているので、調整がやりやすくなると思われる。
- メンテナンス等を行う時に、油拭きクーパーセ布が無い。現在、シズペーパーで行っている。
- ※ キムワイプなどの上質ティッシュを送る事が望ましい。
- シリコンエアゾール
ローター組立に際し現在グリズを使用しているが、シリコンエアゾールの方がすみやかに行なえるし、使用後の洗浄も簡単である。
- リフプログリース
シカグリスには、現在千葉血清研究所で試験的に使用中です。

(5 7)

○ CRC-556

ゾーナル工具の維持管理に使用すれば、便利である。

○ オイルサイホン

現在、K1ゾーナルにオイル補給するにおいて、ゴム管でしかと口で吸って行なっている。

* 現地で購入するのだが、日本式と比べて使用しにくい型といている。

○ 消毒用アルコール

ローター消毒用にビビデンアルコールを作成したが、70%アルコールが無く、無水アルコールにDPEをプラスしたもので作った。

* 無水では高価であるし、しかと18L入りの瓶には入っているのでビビデンアルコールを作成するには不適當である、18L入りの消毒用アルコール(70%)があれば便利である。

○ 懐中電灯

現在、大型しかなく、タービンのメンテナンスを行なう際、小型の物があれば便利である。

* 大型と小型の二種(小型は長さ20cm、直径5cm)で、220Vの充電式の物が良いと思います。

○ 千葉県血清研究所で、オシムラシステムに使用しているガラス玉(ニックス式)とフローレート管。

* オシムラシステムは、簡単な方がミスが少なく誰でも取扱いが楽に行なえる。

5. 水質検査

6月12日と15日の両日、GCにおいて、DW₁及びDW₂を
コンダクティビティメーターにより測定した。

- 6月12日の測定については、GCでガラス蒸留器によるDW₁の
採取を行っていたため、ポリ容器中のDW₂とDW₃の
測定を行った。結果は以下の通りです。

Raw water	410	ms/cm
DW ₁	1.87	µs/cm
DW ₂	1.7	µs/cm

- 6月15日は、10:40頃より、ガラス蒸留器により、DW₁の
採取を始めて以来、以下の測定結果を得た。

(0:45 (07:00))	11:00	11:05	11:12	11:18	11:24	11:31	11:37
DW ₁	1.87(24)						
DW ₂	6.56(42)	3.95(37)	2.52(40)	1.82(41)	1.42(43)	1.36(43)	1.07(43-9)
DW ₃				1.23(49)	0.97(49.7)		0.94(47)

*単位は $\mu\text{s}/\text{cm}$ ()内は℃

以上の結果より、DW₃を使用せず、どの程度問題はないと思われる。
(他の化学的検査は行っておりません)

ただし、採取方法等に問題があったので、採水係に以下の点を申し渡した。
ガラス蒸留器のスケールを除去し、採取開始後20分経過後からのDW₁を目的
にあわせて使用してほしい。また、ポリ容器に筒める場合は必ず密封栓をする
事。そしてなるべく新しいDW₃を使用する事などである。

ワグネン氏との日程調整がうまくいかず、ついにIon exchangerを運転する
事ができなかった。現在はまだ使用しておらず、そしてその操作もワグネン氏
だけが知っていて、他のセクションの人が知らないと、この点にも問題が
あると思われます。

業 務 日 誌

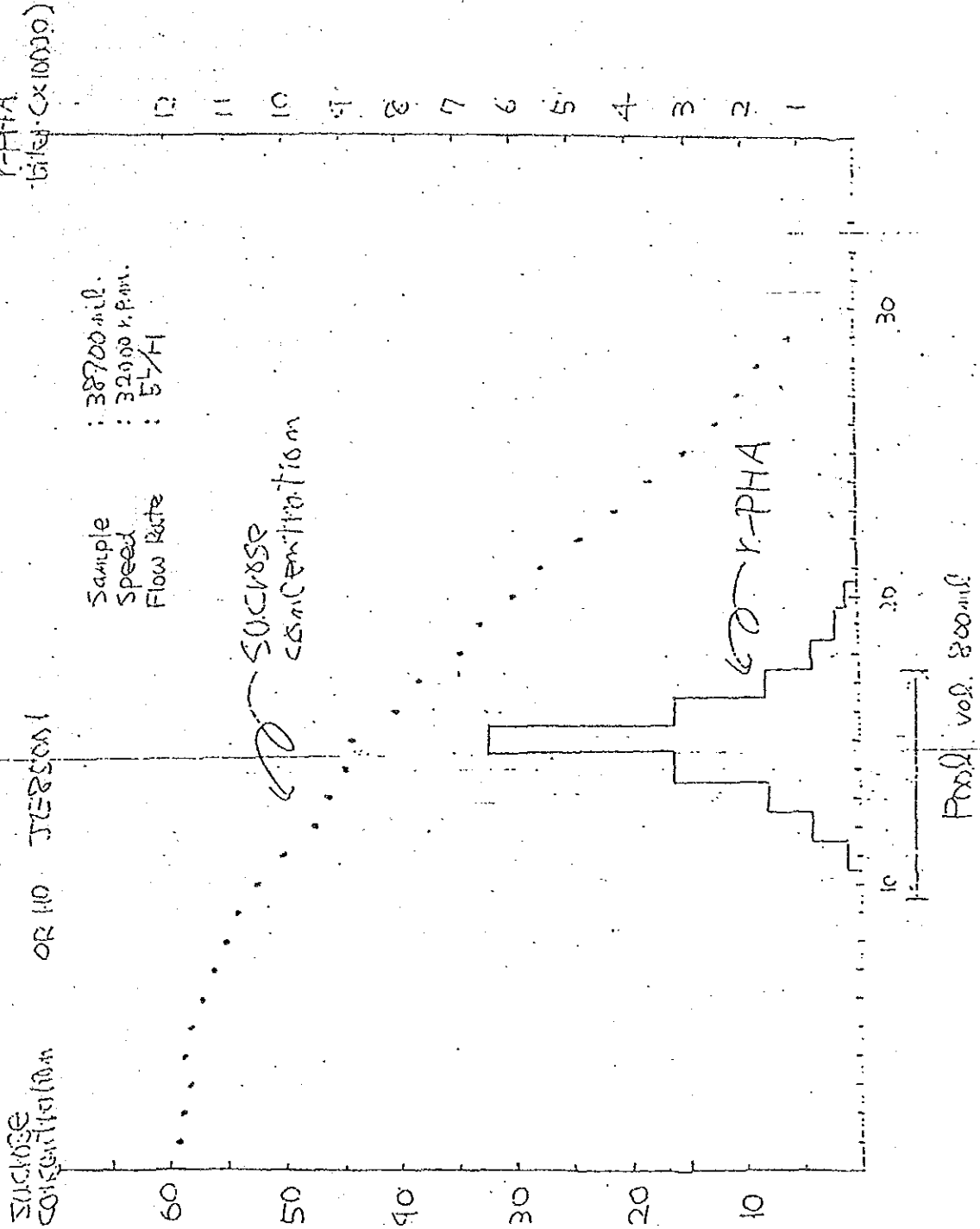
昭和60年 7月 11日

氏名 吉井 克夫
井上 孝文

月 日	曜 日	内 容
5月 30日	木	成田発(13:00) テリー着(20:25)
31日	金	JICA 平井 所長と業務打合せ
6月 1日	土	テリー発(6:20) 成田着(12:00) カリフォルニアへ、午後 0.5カセと打合せ
2日	日	休み
3日	月	JICA施設見学と打合せ、午後 0.5カセ、エンジン作動確認
4日	火	KI テスト運転 停電多く、タービン試運転に失敗
5日	水	KI テスト運転
6日	木	KI カリフォルニア運転 電源は 0.5カセより供給
7日	金	KI メンテナンス 777エンジン(JE85001)
8日	土	日本人エクスポートと打合せ
9日	日	吉沢 帰国 途中昼食打合せ
10日	月	KI テスト運転
11日	火	メンテナンス(KI) 吉沢 テリー発(6:50) 成田着(20:50)
12日	水	水質検査 午後 0.5カセより水質調査に洋行、ワグネル氏と共に立ち回
13日	木	KI テスト運転
14日	金	水質調査 KI メンテナンス
15日	土	水質検査
16日	日	
17日	月	KI テスト運転
18日	火	KI メンテナンス
19日	水	KI カリフォルニア運転
20日	木	カリフォルニアへ ソーカル消磁器購入に
21日	金	KI ENI 技師 ケン・カルソンによる メンテナンス 777エンジン(JE85002)
22日	土	カリフォルニアシステム作成 砂糖密度勾配測定
23日	日	
24日	月	KI カリフォルニア運転
25日	火	KI メンテナンス 0.5 オイル付、午後 0.5カセと打合せ 777エンジン(JE85003)
26日	水	JICAメンバーと打合せ
27日	木	カリフォルニア発(7:00) テリー着(12:00) 午後 JICA 平井 所長と打合せ
28日	金	JICA 平井 所長と打合せ 午後 帰国準備
29日	土	テリー発(9:40) 成田着(18:40)

(No.)

資料 - 1



資料 - 2

1. JE 85001 (Run No 1) 蛋白質測定 (Kasauli で測定)

サンプル	1回目測定値	2回目測定値
K II 前	92 $\mu\text{g}/\text{ml}$	630 $\mu\text{g}/\text{ml}$
K II 後 (10% 稀釈)	21 $\mu\text{g}/\text{ml}$	170 $\mu\text{g}/\text{ml}$
K II 後 (10% Brain 稀釈)	—	490 $\mu\text{g}/\text{ml}$

2. JE 85001 (Run No 1) 化学測定値 (干葉血清で測定)

サンプル

K II 後 (10% 稀釈)	蛋白質	105 $\mu\text{g}/\text{ml}$
	ホルムアルデヒド	0.005 %
	チロシン	0.0008 %
	pH	7.23
	Sucrose	4.82 %

(No.)

No. Test DW 1

Date 5. Jun. 85

Time 49.3

SIR NO. Centhi 253

Time	Number Vacuum	Robot Speed	Turbine Press	Sample Flow	Main air Press	CPC Press kPa	Oil Press PSI	Mist PSI Press	oil drop /hr	oil flow %	carbon flow gms/hr	
123	480	10000			7.5	1.3	80	20	30	1/2 130	4.5 gms/hr	
50	250	500	0.2		7	1.3	82	21	30	1/2 130	"	
56		800	9									
200	225	2300	10		6	1.3	81	21				
02	210	3500	11.8	water								THRU IN.
05	210	9000	47		6.5	1.3	83	21				
07	200	16000	48		"	"	"	"				
01	"	20000	"		"	"	"	"				
12	193	25000	"		"	"	"	"				
14	190	20000	106		"	"	"	"				
16	188	32000	16		"	"	"	"				
23	180	"	"		"	"	"	"				
36	160	"	4		5	"	82	"				Brake IN
39	159	24000	3									
41	155	19600	"									
47	150	8000	0		6.5							Brake off

No. Sample 2

Date 6 Jun 57

Time	Vacuum	Speed	Turbine Phass	Sample Flow	Main oil Phass	CPC Phass	oil Phass	MIST Phass	MIST drop	Beating oil Flow	Condens Flow
12 20	100	0	0		6	18	80	20	30	1/2 130	4-5
25	95	1600	11		6	"	"	"	"		
30	90	3100	12		6.5	"	78	"	"		
TI 32	"	3500	25		6.25	"	"	"	"		
Sp 41	85	32000	15	50%/h	"	1.3	84	"	"		
55	77	27000	15								
13 10	79	26000	46		6.25	1.3	80	20			
Sp 15	75	32000	16		"	"	"	"			
21	72	"	15				"	"			
14 00	70	"	14					"			
39	58	2:30L	7	7-7-7				"			
15 34	52	32000	14		6.25			"	24		
15	50	"	"	80%/min	"	19	80	"			
16 20	50	"	"		6.5	"	"	"			
45	47	"	"		6	1.3	78	"			
7 40	44	"	"		6.5	"	80	"			
8 45	40	"	"		"	"	84	"			
9 50	36	"	"		"	"	80	"			
0 20	36	"	"		"	"	"	"			
0 30	37	"	"		"	"	"	"			
1 04	36	23000	6		4.5	"	"	"			
2 13			0								
4 45	2538	267	10								
3 31	Rotor take off. - Turbine overhaul (break up)										

No. DW. 3

Date 10 Jun 85

Time	Vacuum	Speed	Turbine PRESS	Sample Flow	Main air PRESS	CPC PRESS	Oil PRESS	MIST PRESS	MIST drop	Baking oil flow	Control Flow
15.00	120	0	0	0	6.5	1.3	80	20	10	1/2 150	4-t
45	110	0	0.5	0	"	1.3	"	"	"	"	
55	100	3500	48	0	"	1.8	78	"	"	"	
57	93	9000	46	0	"	"	"	"	"	"	
16.06	90	30000	40	0	6.5	"	"	"	"	"	
10	"	32000	15	150 ml/min	6	19	80	"	"	"	
22	87	32000	"	"	6.5	"	"	"	"	"	
17.30											
7:15											
8.30	終了										

No. DVP 4

Date 13.6.85

no	vacuum	speed	Turbine press	Sample flow	Main air press	CPC press	oil press	Mist press	Mist drop	Bearing oil flow	Coolant flow
27	500	0	0	0	6	1.3	80	20	9	1/2 150	4-5
29	220	0	0-12	0	6.75	"	"	"	"	"	"
40	190	7000	48	0	-	"	"	"	"	"	"
50	160	32000	12.5	50/10	-	"	"	"	"	"	"
55	Brake		X		5						
										N/D	5
										Date	17.6.85
14.05	158	0	0	0	6.75	1.3	82	20	11	1/2 150	5
39	140	0	0-12	0	6.5	"	"	"	"	"	st
49	118	3500	46	0	6.25	"	80	"	"	"	TI
04	108	32000	14	50/10	"	"	"	"	"	"	
19	104	11	5	0	6.75	"	"	"	"	"	Bt.
20	98	8000	0	0	6.5	"	"	"	"	"	

No. Sample 6

Date 19.6.85

Time	Revolutions/min	Speed	Turbine Press	Sample Flow	Main oil	CFC	oil	MIST	MIST drop	Brining oil Flow	inlet flow
10:00	2000	0	0	0	6.5	1.3	80	20	11	1/2 150	KWS
10:26	140	0	0-12	0	"	"	"	"	"	"	"
10:30	"	10000	9	0	"	"	"	22	"	"	"
39	"	3500	46	0	"	"	"	"	"	"	"
46	130	25000	"	0	6	"	"	"	"	"	"
55	125	32000	15	50/h	"	"	"	20	"	"	"
11:45	90	"	"	"	6.5	"	"	"	"	"	"
12:45	65	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
14. '	55	"	"	"	6.25	"	"	"	"	"	"
15:00	50	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
16:00	47	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
18:00	40	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
19:22	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	Bail
19	36	"	4	0	9.5	"	"	"	"	"	Brake
20:03	35	8000	0	0	6.5	"	"	"	"	"	"
35		0									
40											

↓
Sample collection

業務報告書

(60年6月分)

S. 60年7月5日

国際協力事業団
総裁殿

第 号

氏名	藤田 典敬
指導科目	インド国 日本脳炎ワクチン製造プロジェクト(バルク作製)
現住所	山口県下松市花田戎町
通信連絡先	同上
勤務機関名および住所	武田薬品工業株式会社工場 山口県光市光井字武田 4720番地

バルクA製造に際して今回感じた大きな問題点は

- 1) マウス安定的供給の確保
- 2) 無菌室の無菌化・無塵化の早期着手
- 3) 停電等に伴う生ウイルス用冷蔵庫の故障であった。

バルクAについてはほぼ順調な稼働であったが安定稼働のためには上記問題点の解決が必要である。

又、今回限り武田より凍結感作赤血球を持ち込み、K15遠心後画分の逆受身赤血球凝集反応を行なった。

凍結結果については武田が経験している値とまったく同様な成績が得られた。

なお概要については、以下の様に報告する。

1. 設備進行状況

1) 日立大容量冷却遠心機

4台とも常時使用状態にある。

2) 冷蔵庫

(60年6月分)

生ウイルス飼養冷蔵庫については、温度チェックは1日2回行なっていた。停電、室温の上昇等により規定温度(4℃±2℃)を常に保つのは難しい状態である。普通で7℃~8℃に保たれており時々20℃前後まで上昇する。
不活化側冷蔵庫は今月中(7月中)に運転可能である。

3) 高圧・乾熱滅菌機

まだ未設置であり、これから二期に入り生産業務にも支障を来すと考えられる。CRI側の説明によると発注済みであり現品の到着待ちとの事である。

4) 真空ポンプ・コンプレッサー

設置済みではあるが未稼働である。ドリーから技術者が来ないので稼働出来ないとの解答を得た。
現在は小型の真空ポンプ・コンプレッサーを使用して作業している。

5) 無菌室

UVランプの設置、床の塗装とも未着手であった。

UVランプ、リリウムは発注済みであり2ヶ月後(8月末)までには完了するとの解答を得た。

6) その他

① 製氷機の移転については不活化側無菌室から廊下に出す事を了承した。(早期着工予定)

② 不活化側無菌室の遮光は今迄に未着手なので早期着工を要請した。

③ 前回提案のファン取付け(遠心室・飼育室)は未着手であった。
午後3時遠心室・飼育室の温度測定を行なった所両方32℃であった。

③ ガラス器具洗滌室の噴射式洗滌ノズルは未着手であった。

④ 生ウイルス側と不活化ウイルス側の無菌衣は完全に分けられている。

スリッパも分ける様を請じた。

⑤ 5月1日入庫 海送品(1983年支協供与品)の4エックを行なった。すべて到着していた。

2. 原材料関係

1) 硫酸プロタミン

現在はY.G.K. プロタミンを使用している。0.08%処理でホリマリン添加後残渣物は発生せず透明度のある粗原液を調製している。メーカー添加濃度の問題は解決済みである。

2) マウス

日本人専門家滞在中は安定的に供給されるが帰国と戻り気味の様である。現在の供給数は週8000匹位である。200万人分製造の為に週25000匹位必要であると説明したところ、来年(56年)度より週25000匹供給体制を確立するとの事であった。マウスの平均体重は8.5gであり若干の小目である。CRI側としても飼料及び投与飼料量を精査中であり、速やかに努力している様である。

3) 種ウイルス

本部の-80℃超低温冷蔵庫に保存している為、管理作業負担は大変であるが、特に肉題はなし。早く日本防疫専用の-80℃超低温冷蔵庫が使える様を請じた。

3. 生産状況

1) 労務

総勢 15名でバルクAを製造している。

真空ポンプが稼働し、もう少し慣れれば15名体制で週2500

匹の製造は可能である。

しかし、時外労働を遅出、早退、休暇で処理する為相原液

製造とKII遠心精製を同時に行なうは無理であろう。

2) 半製品 (別紙-1) 参照)

別紙-1)に示すとおりである。今後の生産予定についても系統的
に生産する様指示した。

3) 作業方法

① ガラス器具の準備 滅菌

準備はあらいながらまあまあである。乾熱滅菌については
大部分が過滅菌状態である

② 作業段取り

指示した事が下まで伝達されるのに大変時間がかかるがまあまあ
である。

③ 無菌操作

かなり厳しく指導したがまだ改善すべき点がある。

日本で研修した人達より以上の指導を希望する。

4) 不透過曲線 (別紙-2) 参照)

別紙-2)に示すとおりである。内題はない。

5) KII画分の逆受身赤血球凝集反応判定 (別紙-3)、(4) 参照)

KII 3画分の検体について逆受身赤血球凝集反応を行なった。

別紙-3)、(4)に示すとおりである。結果については内題はない。

(No 4)

6) KII遠心後有効画分のプール、保存希釈方法

KII遠心後画分のシュ糖濃度 35%~51%を有効画分としてプールの。

現在はシュ糖濃度 45%位、容量 800ml 位にホルマリン 0.05%
4×ロサ-10.01% 添加して保存してある。希釈方法については干葉
血清が手紙で知らせまでまっぴく様にと指示した。

JE85002、JE85003のタンパク質含量試験は分析室に検体を
提出し、無菌試験は7/9に行なう様指示した。

4. 生活環境

幻想の世界を現している様なシムラーの灯、手に取れずらに感じられる星
等、最高の環境である。我輩専門家の生活環境として問題点は認
められなかった。日本人専門家とCRI側の人間関係は大変良く、数多く
インド家庭を訪問する機会を得、インド家庭料理を味わう事が出来た。

お互いの文化の違いも理解出来るようになった。

私の片言英語でも充分対応出来、意志が通い合い業務が円滑に遂行
され、大體なく結果を出す事が出来た。この事は同行者にめぐまれた事
はもちろし、CRI側の心からの配慮のたまものと深謝お次第である。

なお、滞在期間については業務遂行上1ヶ月では不足であり2~3

ヶ月がよりベターであると考えます。

以上

生産実績及び計画概要

Batch No.	生産		検査			粗取量 kg	検査 日付	無菌試験			抽出液 濃度 %	抽出液 量 ml	抽出液 濃度 %	抽出液 量 ml	抽出液 濃度 %
	日付	量	日付	量	日付			(1)	(2)	(3)					
1/84	12/3	1100	12/7	200	64.0	230	0.32	-	-	-	7.45	0.09%	7.45	0.09%	
2/84	12/6	1100	12/10	800	73.0	250	0.313	OK	OK	OK	7.85	"	7.85	"	
3/84	12/7	1100	12/11	800	73.0	250	0.313	OK	OK	OK	7.80	"	7.80	"	
4/84	12/10	1100	12/14	800	73.0	265	0.331	OK	OK	OK	7.86	"	7.86	"	
5/84	12/11	1000	12/15	750	75.0	235	0.313	OK	OK	OK	7.63	"	7.63	"	
6/84	12/14	2000	12/18	1650	82.5	554	0.336	OK	OK	OK	7.80	"	7.80	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
1/85	1/5	5300	1/9	4508	85.0	430	0.317	OK	OK	OK	8.29	"	8.29	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
2/85	1/10	5300	1/14	4703	92.5	1546	0.315	OK	OK	OK	7.57	"	7.57	"	37000 ml
3/85	1/15	5500	1/19	4787	87.0	1639	0.342	OK	OK	OK	7.10	"	7.10	"	
4/85	1/18	5250	1/22	4866	92.7	1691	0.347	OK	OK	OK	7.16	"	7.16	"	
5/85	1/24	5300	1/28	4850	91.5	1678	0.346	OK	OK	OK	6.65	"	6.65	"	
6/85	1/31	5300	2/4	4627	87.3	1535	0.332	OK	OK	OK	7.0	"	7.0	"	
7/85	2/7	5300	2/11	4860	91.7	1683	0.316	OK	OK	OK	7.46	"	7.46	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
8/85	2/16	2900	2/20	2695	92.9	953	0.353	OK	OK	OK	8.28	"	8.28	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
9/85	2/23	10500	2/27	8740	83.2	2876	0.331	OK	OK	OK	7.14	"	7.14	"	45400 ml
10/85	2/28	5350	3/4	4499	84.1	1490	0.331	OK	OK	OK	7.0	"	7.0	"	
11/85	3/4	5150	3/8	3400	66.1	2153	0.312	OK	OK	OK	B: 2.20 A: 2.85	"	B: 2.20 A: 2.85	"	
12/85	3/12	7250	3/16	5816	80.2	1952	0.333	OK	OK	OK	8.42	"	8.42	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
13/85	3/15	5700	3/19	5211	91.4	1807	0.347	OK	OK	OK	7.88	"	7.88	"	7.10 x 1000 ml 抽出後
14/85	3/20	4900	3/24	4530	92.4	489	0.329	OK	OK	OK	7.5	"	7.5	"	40300 ml

Batell	検査		検査		検査		検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	検査	
	日付	検査	日付	検査	日付	検査															
110,																					
15/85	4/22	4/24	4/26	4/21	90.2	1528	0395	6700	5/6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
16/85	4/27	"	5/1	4310	88.9	1432	0332	6500	5/6	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
17/85	4/29	"	5/3	4105	84.6	1440	0351	6700	5/8	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
18/85	5/3	"	5/7	3890	81.0	1285	0330	6300	5/21	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
19/85	5/6																				
20/85	5/10																				
21/85	5/13																				
22/85	5/18																				
23/85	5/20																				
24/85	5/25																				
25/85	5/27																				
26/85	6/1																				
19/85	5/10	4/24	5/14	3924	80.2	1372	0350	6500	5/24	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
20/85	5/1	"	6/5	8021	84.4	2660	0311	13500	5/24	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
21/85	6/7	"	6/11	4290	90.3	1492	0350	7400		OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
22/85	6/10	"	6/14	2577	72.7	774	0300	3590		OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
23/85	6/14	"	6/18	3895	88.5	1295	0330	6360													
24/85	6/17	"	6/21	2347	95.4	773	0329	3690													
25/85	6/21	"	6/25	4202	92.4	1385	0330	6770													
26/85	6/24	"	6/30																		

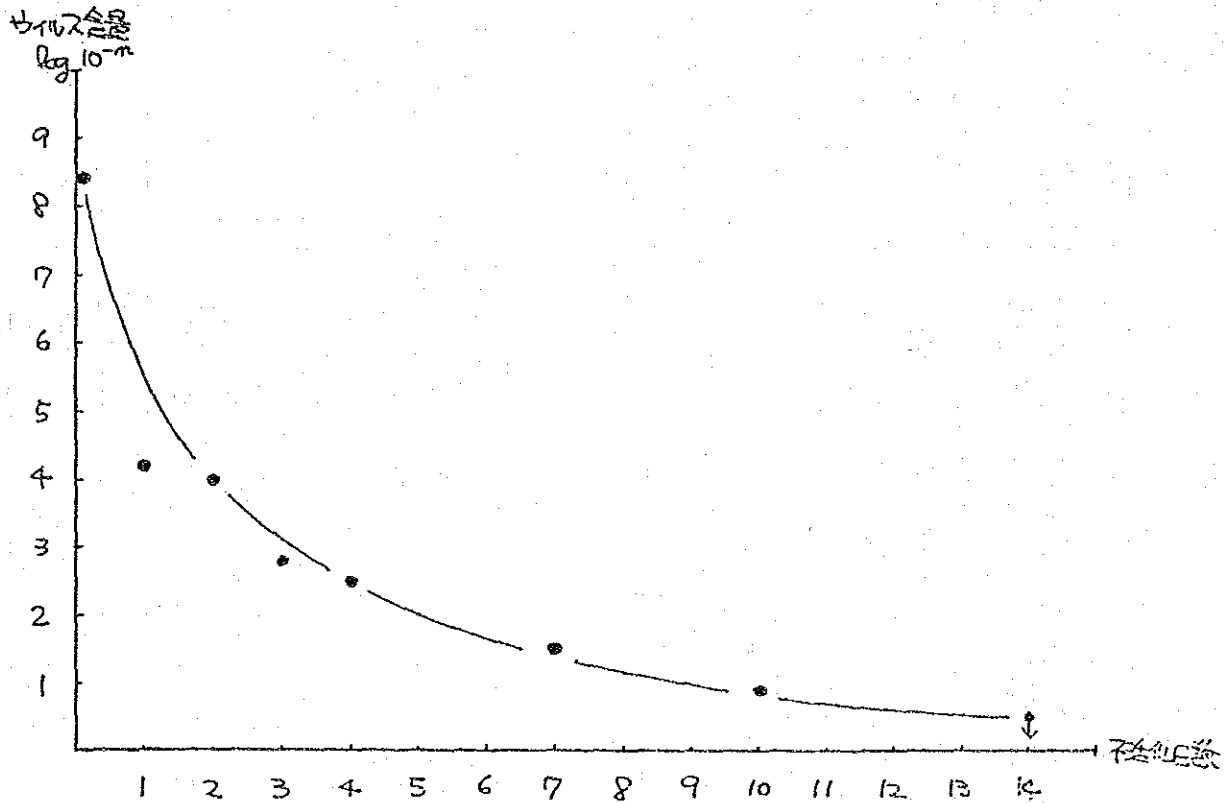
* 検査済みのLD50は 20910 / 0.03ml

** ワイルド検査は 20210 "

不活化曲線

Batch NO. 12/85

不活化後	培養期間	不活化率
0日	4/6 ~ 4/30	$10^{-8.45}$
1日	4/7 ~ 5/1	$10^{-7.2}$
2日	4/8 ~ 5/2	$10^{-7.0}$
3日	4/9 ~ 5/3	$10^{-6.8}$
4日	4/20 ~ 5/4	$10^{-6.5}$
7日	4/23 ~ 5/7	$10^{-5.5}$
10日	4/26 ~ 5/10	$10^{-5.0}$
14日	4/30 ~ 5/14	$10^{-4.5}$



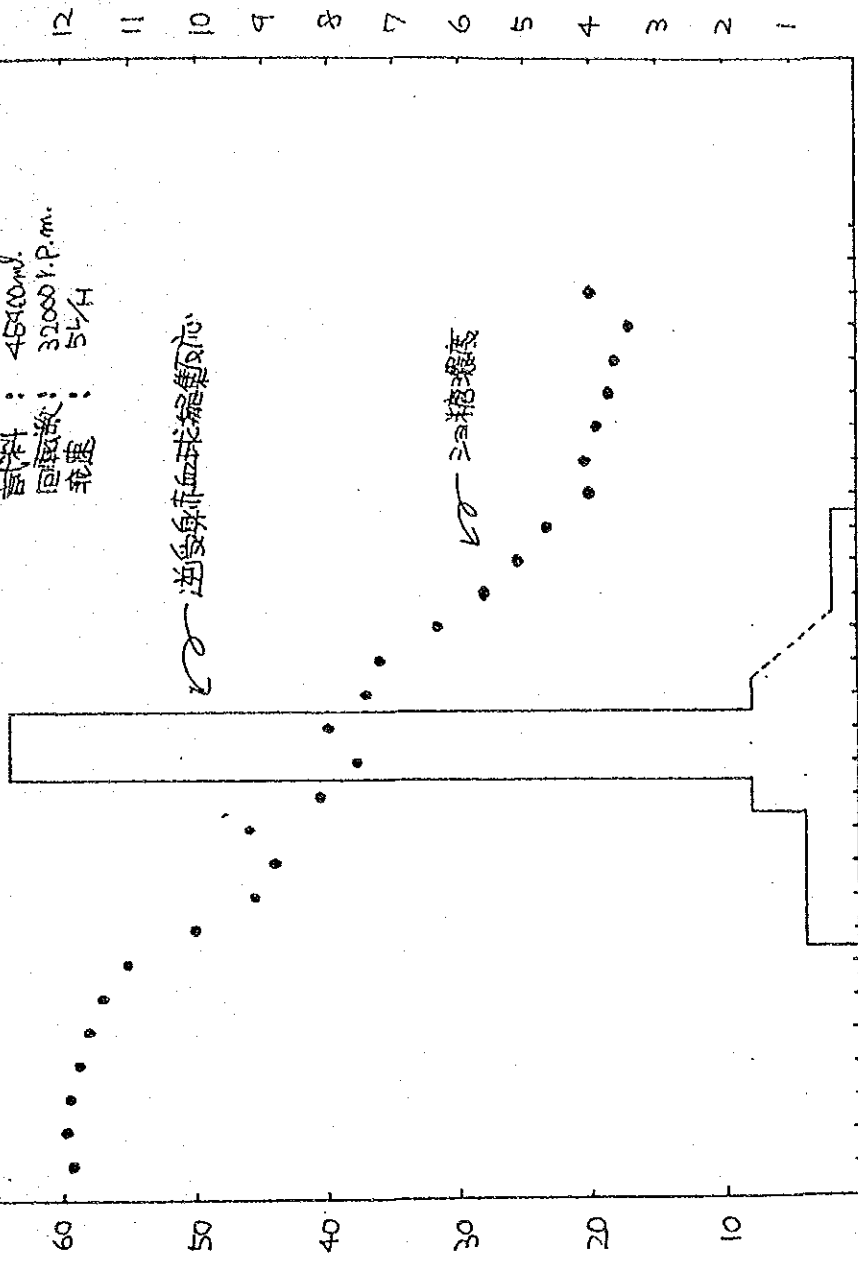
別紙-(3)

バ107 NO. JE 85002

逆受身血球凝集度
反価(西 510°)

試料 : 45100ml.
同感数 : 32000 Y.P.m.
飛塵 : 5 1/4

逆受身血球凝集度(%)



百分No.

20

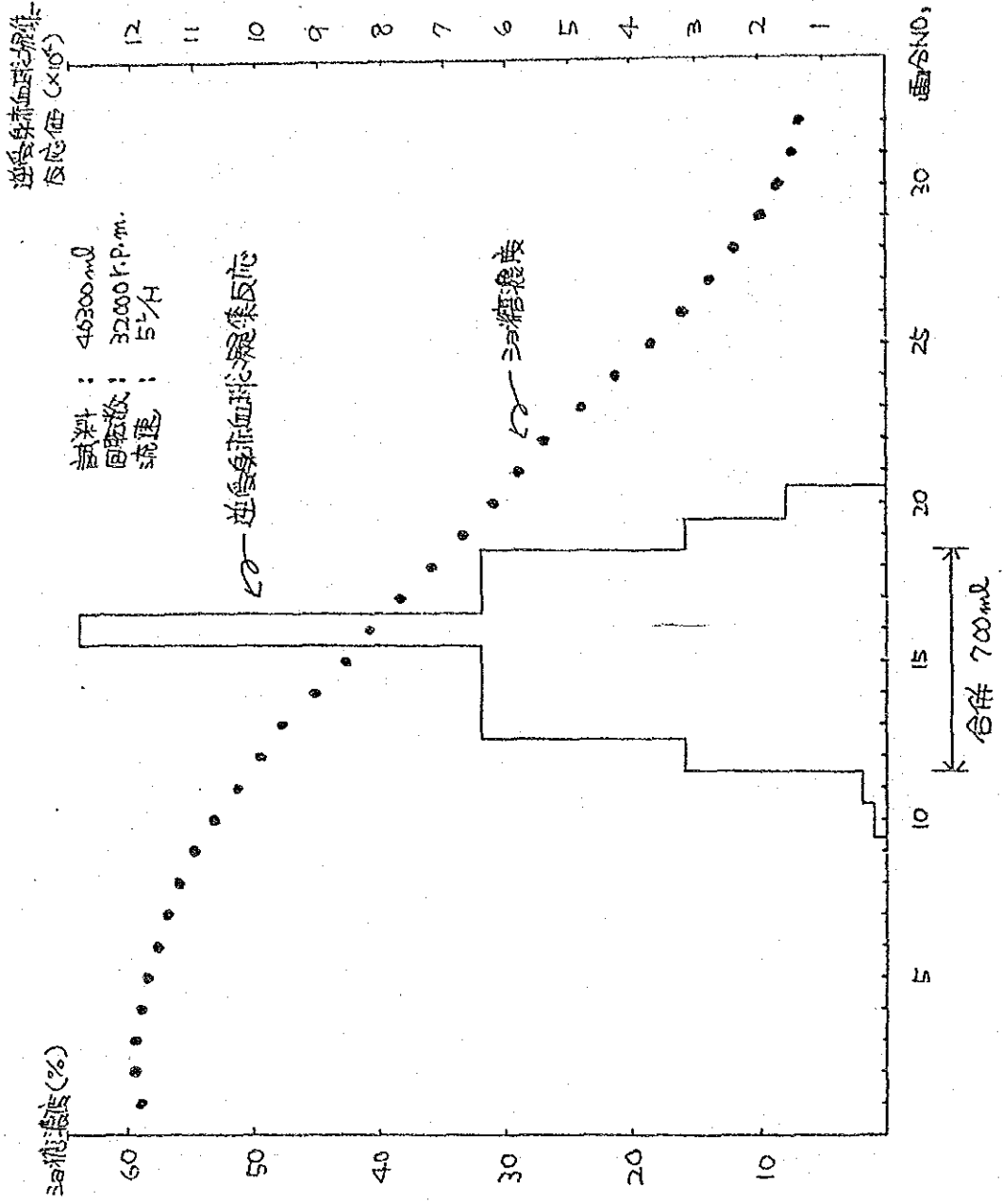
5

合併 940ml

百分No.	逆受身血球凝集度	Y.P.H.A
1	59.3%	—
2	59.8	—
3	59.6	—
4	58.7	—
5	58.1	—
6	57.1	—
7	55.3	2000*
8	50.2	8000*
9	45.6	8000*
10	44.0	8000*
11	46.1	8000*
12	40.5	16000*
13	37.8	128000*
14	37.8	128000*
15	36.9	16000*
16	35.9	—
17	31.6	—
18	27.9	4000*
19	25.5	4000*
20	23.2	4000*
21	20.0	—
22	20.3	—
23	19.5	—
24	18.6	—
25	17.9	—
26	17.1	—
27	20.0	—
28	—	8000*
29	—	1000*

試料No.	糖濃度(%)	r-PHA
1	59.0	—
2	59.6	—
3	59.5	—
4	58.9	—
5	58.5	—
6	57.8	—
7	56.9	2000*
8	56.0	2000*
9	55.7	2000*
10	53.2	2000*
11	51.3	4000*
12	47.5	32000*
13	47.7	64000*
14	45.2	64000*
15	42.8	64000*
16	40.7	128000*
17	38.6	64000*
18	36.1	64000*
19	33.4	32000*
20	31.0	16000*
21	28.9	—
22	26.9	—
23	24.0	—
24	21.3	—
25	18.6	—
26	16.0	—
27	13.9	—
28	12.0	—
29	9.9	—
30	8.5	—
31	7.4	—
32	6.9	—
濃縮液	—	32000*
上清	—	8000*

18117 NO, JE85003



業 務 日 誌

S.60年 7 月 5 日

氏名 藤田 典敬

月 日	曜 日	内 容
5.30	木	成田発 13:00 JL-465便 デリ-着 20:30(現地時間) JICA平井所長の 出迎えを受けホテルへ
31	金	行動予定 注意事項等打ち合せ
6.1	土	デリ-発 06:15 IC-42便 仙台が-ル着 06:55 夕方の出迎えを受けホテルへ アソシアホテル着 12:00 午後 Dr.サワターと会談 その後日曜現場訪問
2	日	休日 バルクBとKII安心条件について打ち合せ
3	月	生産計画確認 バルクBとKII安心日 数量について打ち合せ ナロンメッシュ濾過 方法 濾過日について打ち合せ 生産計画概要打ち合せ
4	火	前任者との引き継ぎ事項確認(設備関係) ナロンメッシュ濾過 指導
5	水	採膜精製 NO.20/85 技術指導 無菌操作技術指導
6	木	昨日精製品の外観 7-7シートのチェック 各室の温度測定 前任者との引き継ぎ事項確認(溶剤関係)
7	金	接種 NO.21/85 技術指導 ト-PHA技術指導 Dr.サワターにマウスの定期的供給を 依頼
8	土	休日 バルクBとKII後原液の保存方法 試験について打ち合せ
9	日	休日
10	月	接種 NO.22/85 技術指導 Dr.ゴ-ワルとマウスの品質 定期的供給について話し合 方面 タンパク質含量試験サンプルについて説明 サンプル提出 (KII前後)
11	火	採膜精製 NO.21/85 技術指導 無菌操作技術指導 マウス繁殖設備の見学
12	水	バルクA 必要物品 チェックシートの作成 凍結設備見学
13	木	バルクA 必要物品 チェックシートの説明
14	金	採膜精製 NO.23/85 技術指導 無菌操作技術指導 接種 NO.23/85 技術指導
15	土	KII前サンプル用 50 ⁺ ステンタンの装置説明
16	日	休日
17	月	接種 NO.24/85 技術指導 ナロンメッシュ濾過技術指導 接種設備見学
18	火	採膜精製 NO.23/85 技術指導 無菌操作技術指導
19	水	相原液生産室が 生産予定をバルクBに説明 マウス体重測定のためのニンギムサ ンプリング法の説明
20	木	休日(インド祭日)
21	金	採膜精製 NO.24/85 技術指導 接種 NO.25/85 技術指導 接種用 マウス体重測定 実施

(No. 1)

業務報告書

(60年6月分)

60年7月3日

国際協力事業団
総裁殿

第 号

氏名	坂本 昭
指導科目	インド国 日本脳炎ワクチン製造プロジェクト (品質管理)
現住所	熊本市御幸菅田町 160-5
通信連絡先	(財)化学及血清療法研究所 米製造部 才二課
勤務機関名および住所	(財)化学及血清療法研究所 熊本市清水西大差 668

派遣期間 昭和60年5月30日～6月29日

派遣先 インド Central Research Institute

本報告中、専門家派遣才二陣といたし、特に技術面
に於ける問題点、並に指導を中心に述べた。

QCセッションに於ける滞在中の作業及び調査内容

- 1) ウイルス PFU 測定 及び 中和試験の確立
- 2) Trypsin 消化法の検討
- 3) 使用卵小体状況
- 4) 初代ハムスター腎細胞培養; BHK 細胞継代
- 5) マウス免疫 - 採血 - 血清分離
- 6) マイコプラズマ否定試験
- 7) 中和試験用改質ウイルス調製
- 8) 水質検査
- 9) クリーンベンチ フルーム調整, クリーンベンチ稼働
- 10) 培地調製
- 11) 機材及び施設の確認

(60 /)

12) 表示確認試験についての説明

13) 人員構成

1. ウイルスPFU測定及び中和試験の確立

氷凍等の問題点

Plaque が出ない

従って、早急に対応の問題を解決し、PCRセクションの仕事を軌道にのせよう原因究明に入る。以下、PFU測定、中和試験確立までの過程について述べてたい。

当初、この話しを聞いた時、停電によるクーラーの故障によるウイルス活性の低下ではないかと思われたが、マウスLD₅₀は 10^9 /ml程度を測っており、その後の追試でも非常に良い発症を測っており、この点に関しては問題ない判断。とにかく細胞培養から判定までの作業を依頼した。

その結果、1st Agar overlay 後の細胞が何らかの影響で死滅していることが判明、この細胞死滅の原因追求に向け実験をくり返す。

培地のpH、トリプシン、細胞洗浄液、室温、ニュートラムレットの細胞毒性、使用蒸留水、またまた停電によるCO₂フラスコの不調かなど、おおよそ考えられる点の検討を行ったが、依然として細胞の死滅は免れない。

そこで、時間のかかりすぎが、部屋、高温(39℃)低湿(30%)と相まって細胞の乾燥を来たし、死滅させているのではないかと考え、クリーンベンチを従来の片側使用から両側使用に切換え、流水作業による時間の短縮を指示、15時間から約30分に短縮させることにより、細胞の死滅を防止することに成功、Plaqueを確認するに至る。

他に真の原因があるかもしれないが、とにかくこの方法

(42)

を比較し、ウイルスPFU 及び中和試験を確立させた
ことが出来た。

成績

1) PFU測定

材料	Titer
Virus ① (27-4-'85)	$10^{-9.00}/\text{ml}$, $10^{-7.96}/\text{ml}$
Virus ② (15-6-'85)	$10^{-9.01}/\text{ml}$, $10^{-8.00}/\text{ml}$

2) 中和試験

材料	Ab Titer
① 4/85 評価済	2.99
② " 評価済	2.84
③ 8500/ $\begin{matrix} Pz+R1+HA+R1 \\ 5\mu \quad 1.2\mu \quad 0.95 \quad 0.7\mu \end{matrix}$ 評価済	2.91
④ 8500/ 再評価 (Pz+HA) 0.45 μ	3.16

2. Trypsin 消化法、検討

Trypsin 濃度 0.05%, Trypsin 処理時間 室温 15分 の条件
にて好成績を得た。

この方と比べ、外部環境が著しく変化している。
環境に依りた工夫をいくつかの指示。

3. 使用剤、小体状況

受精率 約 40~50%、死亡率 約 5% 2" 入巢時
を 100% とした場合、最終有効率は 約 50% 2" あり。

4. 初代HAST4層細胞培養, BHK細胞継代

- ・技術的なポイントとして、Trypsin消化前の管を小さくカットするのと、よく洗浄するのと、消化の度とくに遠慮して細胞の調製を行うとを指示。
- ・Trypsinは小瓶に保存し、1回の培養に1本単位のTrypsinを使用するとを指示。
- ・BHK細胞継代

特に問題なし

5. マウス免疫 - 採血 - 血清分離

特に問題なし

6. マイクラスマ否定試験

WHO試法で実施、特に問題なし。バルクAの材料に
ついでに試験で、いずれもマイクスであった。

7. 中和試験用攻撃ウイルス調製

ウイルス活性低下を防止工夫が随所に見られ、注意
に関する問題なし。

8. 水質検査

井上氏(千葉血清研)の測定により、Bの使用水の
チェックを行った。

成績の次の通りであり、細胞への水の影響は
なさそうである。

(No 4)

第1回

材料	conductivity
(1) Raw H ₂ O	410.0 $\mu\text{S/cm}$ (東京の水... 175 $\mu\text{S/cm}$)
(2) DW ₁	1.87 $\mu\text{S/cm}$ (" ... 1.40 $\mu\text{S/cm}$)
(3) DW ₃	1.70 $\mu\text{S/cm}$

第2回

材料	Conductivity
DW ₂ 0分	6.56 $\mu\text{S/cm}$
" 5分	3.95 $\mu\text{S/cm}$
" 12分	2.52 $\mu\text{S/cm}$
" 18分	1.72 $\mu\text{S/cm}$ (DW ₃ 18分... 1.23 $\mu\text{S/cm}$)
" 25分	1.42 $\mu\text{S/cm}$ (DW ₃ 25分... 0.97 $\mu\text{S/cm}$)
" 31分	1.36 $\mu\text{S/cm}$ (DW ₃ 36分... 0.94 $\mu\text{S/cm}$)
" 38分	1.07 $\mu\text{S/cm}$

従い、switch on 後 約30分間に出来た蒸留水の
使用した... ことを指示。

9. クリーンベンチ フレーム調整、クリーンベンチ移動

- ・小フレームの調整がきかず、真黒なススを出していた
ため、フレーム調節部分を分解、その結果、小フレーム
調節つまみのネジのゆるみと判断、綿を少量

(4 5)

巻き、きつくさせることにより解決。

(現在、異常なく使用しているが、願わくはネジの交換が欲しいところ)。

- ・作業のスピードUPをはかるため、従来の片側使用から両側使用に切換えるためのフリンパンチの移動を行った。

10. 培地調製

ミシボア濾過器、オートクレーブ、乾熱滅菌等の機器類からデフエックまで、特に問題はない。

11. 機材及び施設の確認

細胞調製に他に用いる遠心機(日立のPR-22)の配線の不備、PHメーターの故障、検定用Animal roomが未だ完成していないこと、中和試験用の水平台を欠いていること以外、特に不自由と思わせる感じはなかった。

滅菌室の殺菌灯 完備

フィルター、CO₂フラスコの停電時の緊急配線完備

12. 表示確認試験について

Dr. Rao Bhau と 予言法論 意義 について Discussion.

特に Extraneous contaminated Antigen について。

13. 人員構成

Assistant Director 1名

Assistant Technical Officer 1名

Technical Supervisor 2名 (女性1名)

Technician 1名

Laboratory Assistant 2名

(計 6)

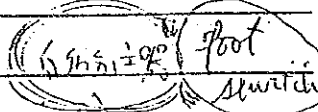
Washing Man	1名	
Animal Attendant	1名	計 9名

その他

1. Potency Test におけるその他の問題点

バルク A、バルク B のサンプルの マウス免疫を、当初
 蛋白質含量を $8\mu\text{g}/\text{ml}$ にして行うことと一致して
 いたが、CRI における測定値が信頼できず (例として
 1 回目の値 $21\mu\text{g}/\text{ml}$ 、同一サンプルの 2 回目の値 $170\mu\text{g}/\text{ml}$)、
 この点を断念、10% Brain suspension を行うことを
 決定している。

2. BC セクションの要望

- ① Clean Bench 1台 (ウツス社、)
- ② プラスチック製の Labeller 1台。
- ③ Chamber Anaerobic (Mycoplasma) 1台。
- ④ CASIO ホットコンピュータ (EX-720 P CASIO) の
 英文使用書が欲しいとの事。
 全 和文なので、無用の長物となっている。

3. Dr. Paxena 所長との Discussion

BC 関係における 苛酷な気象条件を克服する技術
 力の向上を、夏場の高温に対する処置として フライド スキ
 カーテンの設置等を下願した。

又 Clean-Bench への CRI の導入に英文が欲しいとの事であった。
 (Mr. Misra 談)

(6/7)

所感

とにかく、中和試験を確立し、Bulk Aのサンプルについて Potency を測定することが出来たこと。組織培養に関しては不安は残るものの、他の試験に関してはほぼ問題なく、これにより B.C.の作業は軌道に乗って行くものと思われる。今回の氷造の重責に少しも応えられたことが、何れも嬉しかった。

今後は、彼ら自身の技術をさらに向上させ、応用力を身に付けていくよう努力してほしいことを願うだけである。

～以上～

業 務 日 誌

60年7月3日

氏名 坂本 国昭

月 日	曜日	内 容
5 30	木	成田発 JL-465 (13:00) Delhi着 (現地時間 20:27) TICA 平井所長の出迎えを受けホテルへ。
31	金	TICA 平井所長と打合せ。
6 1	土	Delhi発 IC-421 (06:15) Chandigarh着 (06:45) Mr. Mahata 5の出迎えを受け Kasauliへ。 午後 Dr. Saxena 所長と会談, 午後 JE sectionへ。
2	日	休日
3	月	2nd Agar overlay, Dr. Rao Bhanu と WC の現状と問題点について Discussion.
4	火	判定, 2nd Agar overlay, 培地類の交換, 哺乳マウス採服 - 中和試験用 攻撃ウイルス調製, PPLO 寒天培地, PPLO プレイン培地調製
5	水	マイクロアッセイ不定試験, 初代 HUS9-腎細胞培養, 判定, 1st overlay Medium 調製
6	木	CE 細胞培養, BHK 細胞継代
7	金	ウイルス PFU 測定 - 1st Agar overlay, マイクロアッセイ不定試験 PBS(-) 調製
8	土	CRI 休日
9	日	休日 吉沢氏 帰国のため Chandigarh へ
10	月	2nd Agar overlay, 培地交換 (HUS9-腎細胞培養), キーンゲンチン掃除, 小プレート調整
11	火	判定, マウス免疫, PBS(+) 調製, LE 培地調製
12	水	CE 細胞培養, BHK 細胞継代, 水質検査
13	木	ウイルス PFU 測定 - 1st Agar overlay
14	金	CE 細胞培養, 血清非働化, 中和試験の術式について指導。
15	土	2nd Agar overlay, 中和試験 - 1st Agar overlay, 水質検査
16	日	休日 判定 (早期)
17	月	CE 細胞培養, ニュートリッド調製, BHK 細胞継代
18	火	中和試験, 2nd Agar overlay, マウス免疫, HK 細胞不溶化試験について説明

(No. 9)

業 務 日 誌

60年 7 月 3 日

氏名 坂本國昭

月 日	曜日	内 容
6 19	水	判定 CE細胞培養
20	木	休日 中和試験-1st Agar overlay 夜日本側室係H ² -E ² -
21	金	2nd Agar overlay CE細胞培養
22	土	判定, 2nd Agar overlay, 中和試験-1st Agar overlay, PBS(+)調製
23	日	休日
24	月	判定, 2nd Agar overlay, マイコプラズマ否定試験
25	火	初代H ₂ S ₄ -腎細胞培養, 判定, マウス採血-血清分離 午後, Dr. Saxena 所長と会談
26	水	判定
27	木	Chandigar 発 ^{IC-954} (11:10 40分遅れ) Delhi着 (12:00) JICA 平井所長と会談
28	金	JICA 平井所長と業務打合せ
29	土	Delhi 発 JL-466 (08:00) 成田着 (19:00)
		以上

(No. 10)