

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）  
（分担）研究報告書

痘そうワクチンの備蓄戦略の為の品質向上、生産性向上に関する研究

分担研究課題：LC16m8 の生産方法の検討

分担研究者：横手公幸 財団法人 化学及血清療法研究所  
協力研究者：橋爪 壯 財団法人 日本ポリオ研究所 理事  
協力研究者：船津昭信 財団法人 化学及血清療法研究所長・理事長  
協力研究者：岡 徹也 財団法人 化学及血清療法研究所 常務理事  
協力研究者：寺野 剛 財団法人 化学及血清療法研究所 品質管理部 部長  
協力研究者：介永雅彦 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部 第二課長  
協力研究者：金床陽二 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部長付  
協力研究者：熊丸哲也 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部第二課  
協力研究者：嶽本澄代 財団法人 化学及血清療法研究所 品質管理部第二課  
協力研究者：金原知美 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部長付  
協力研究者：嶋峨秀樹 財団法人 化学及血清療法研究所 製剤部第一課

研究要旨：天然痘ウイルスを用いた生物テロに対する対策を想定した場合、痘そうワクチンの国家備蓄の為に痘そうワクチンの生産方法の研究は大きな課題である。ワクチン製造においては、量的検討だけでなく、安定製造を行う為の品質管理に関する研究が重要である。本研究では、痘そうワクチン LC16m8 の品質向上に関して、マスターウイルスシード、ウサギコロニー、ウサギ腎細胞に関する外来性因子の検査を行った。また、生産性向上の予備的検討として継代細胞を用いた LC16m8 株の増殖性の評価を行った。

A. 研究目的

痘そうワクチン LC16m8 は、弱毒生ウイルスワクチンであることから、その品質を保証するためには、シードロットの品質管理、及び、細胞基材の品質管理システムが重要であり、今回外来性因子の否定を目的として、研究を実施した。また現在の幼若ウサギの腎細胞を用いた製造法は、生産効率の点で改善・改良すべき余地があることから、

継代細胞を用いた増殖性の研究を行った。

B. 研究方法

a) マスターウイルスシード品質評価

ウイルスマスターシードを英国 BioReliance 社にて、ヒト関連ウイルス (HIV-1 and 2, HTLV-1 and 2, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, Human HSV-1 and 2, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7, HHV-8、

Human Papilloma, Parainfluenza Type 1, 2, 3, Borna Disease Virus, SV-40, Enteroviruses, 計 16 種)、ウサギ関連ウイルス (Rabbit Papilloma, Herpes sylvilagus, Herpes cuniculi, Rabbit rotavirus, Shope Fibroma Virus, Myxomatosis, Rabbit Hemorrhagic Disease, Encephalomyocarditis, Sendai virus, SV5, Pneumonia Virus of Mice, 計 11 種)、ブタ関連ウイルス (Porcine circovirus, Porcine parvovirus, 計 2 種)、ウシ関連ウイルス (Reovirus, BVDV, Bovine parvovirus, Bovine adenovirus, Blue tongue virus, Rabies virus, Bovine respiratory syncytial virus, Bovine polyomavirus, Bovine herpes virus 1 & 4, 計 9 種) に関する PCR 測定を依頼した。また Mycoplasma を Cultivation で、Sterility Test を国内生物学的製剤基準 (Japanese Minimum Requirements for Biological Products (MRBP)) に従い測定を行った。

#### b) ウサギコロニー品質評価

約 3 ヶ月毎にウサギ血清(10羽分プール)を採取し、Adenovirus, Borna disease virus, Rabbit Papillomavirus, Herpes Sylvilagus, Herpes Cuniculi に関する PCR 5 種及び Rabbit hemorrhagic disease virus に関する ELISA 試験を英国 BioReliance 社に測定依頼した。

#### c) WHO ガイドライン

WHO ガイドライン (WHO RECOMMENDATIONS FOR PRODUCTION AND CONTROL OF SMALLPOX VACCINE REVISED 2003) と MRBP の各試験項目について比較検討した。

#### d) 各細胞株における増殖性実験

##### 【使用ウイルス】

LC16m8 株は、千葉県血清研究所より承継したマスターシードを財団法人 化学及血清療法研究所 (以下、化血研) で初代ウサギ腎細胞を用いて 1 継代培養したものを使用した。

##### 【使用細胞株】

RK-13 細胞は千葉県血清研究所から入手し 5%FBS 添加 MEM 培地で培養したものを使用した。MRC-5 細胞は American Type Culture Collection (ATCC) から購入し 10%FBS 添加 MEM 培地で培養したものを使用した。Vero E6 細胞は国立感染症研究所から入手し 5%FBS 添加 D' MEM 培地で培養したものを使用した。

##### 【ウイルス培養】

25 cm<sup>2</sup> カルチャーフラスコに各細胞を培養し、 $2 \times 10^5$  PFU/mL に調製した LC16m8 株を 1 mL ずつ接種した。37°C で約 1 時間吸着させた後、ウイルス維持培地 (3%FBS 添加 MEM 培地) で 3 回洗浄し、ウイルス維持培地を 6 mL 添加したものを 37°C で 4 日間培養した。培養後、凍結融解によりウイルスを回収した。

##### 【評価】

回収したウイルスは、RK-13 細胞を用いたブラックアッセイ法によりウイルス力価を測定した。

#### e) Vero 細胞増殖曲線

##### 【使用ウイルス】

LC16m8 株は、千葉県血清研究所より承継したマスターシードを化血研で初代ウサギ腎細胞を用いて 1 継代培養したものを使用した。

### 【使用細胞株】

Vero E6 細胞は国立感染症研究所から入手し5%FBS添加D' MEM培地で培養したものを使用した。

### 【ウイルス培養】

25 cm<sup>2</sup> カルチャーフラスコに培養した Vero E6 細胞に、 $2 \times 10^5$  PFU/mL に調製した LC16m8 株を 1 mL ずつ接種した。37°C で約 1 時間吸着させた後、ウイルス維持培地 (3%FBS 添加 MEM 培地) で 3 回洗浄し、ウイルス維持培地を 6 mL 添加したものを 37°C で 4 日間培養した。培養 4、8、16、24、48、96 時間後に、それぞれ凍結融解によりウイルスを回収した。

### 【評価】

回収したウイルスは、RK-13 細胞を用いたブラックアッセイ法によりウイルス力価を測定した。

## C. 研究結果

### a) マスターウイルスシード品質評価

ウイルスマスターシードを英国 BioReliance 社にて、ヒト関連ウイルス (HIV-1 and 2、HTLV-1 and 2、Hepatitis A、Hepatitis B、Hepatitis C、Human HSV-1 and 2、CMV、EBV、HHV-6、HHV-7、HHV-8、Human Papilloma、Parainfluenza Type 1, 2, 3、Borna Disease Virus、SV-40、Enteroviruses、計 16 種)、ウサギ関連ウイルス (Rabbit Papilloma、Herpes sylvilagus、Herpes cuniculi、Rabbit rotavirus、Shope Fibroma Virus、Myxomatosis、Rabbit Hemorrhagic Disease、Encephalomyocarditis、Sendai virus、SV5、Pneumonia Virus of Mice、計 11 種)、ブタ関連ウイルス (Porcine circovirus、Porcine parvovirus、計 2 種)、ウシ関連ウイルス (Reovirus、BVDV、Bovine

parvovirus、Bovine adenovirus、Blue tongue virus、Rabies virus、Bovine respiratory syncytial virus、Bovine polyomavirus、Bovine herpes virus 1 & 4、計 9 種) に関する PCR 測定を依頼した。また Mycoplasma を Cultivation にて測定し、Sterility Test を MRBP に従って測定を行った。結果は表 1 に示すように陰性または未検出であった。

### b) ウサギコロニー品質評価

CPMP ガイドライン (Note for Guidance on Production and Quality Control of Animal Immunoglobulins and Immunosera for Human Use (24 July 2002, CPMP/BWP/3354/99)) に記載されているウサギ個体感染の可能性のある外来性因子について検査を行った。ウサギ血清 (10 羽分プール) について、Adenovirus、Borna disease virus、Rabbit Papillomavirus、Herpes Sylvilagus、Herpes Cuniculi に関する PCR 5 種及び Rabbit hemorrhagic disease virus に関する ELISA 試験を英国 BioReliance 社にて測定した結果、いずれも陰性であることが確認された。(表 2、表 3)

### c) WHO ガイドライン

図 1、2 に WHO ガイドラインと国内生物学的製剤基準の各試験項目について特徴のある品質管理試験項目を示した。

WHO ガイドラインでは以下の様な品質管理試験を行うことが定められている。

- ・ 培養した細胞の上清をウイルス接種前にサンプリングし、Cultivation による外来性因子等否定試験を行う
- ・ 培養した細胞の 25% を対照細胞とし、細胞観察を 2 週間行う

- ・ 観察期間中にHAD試験及びCultivationによる外来性因子等否定試験を行う
- ・ 観察終了時にHAD試験及びCultivationによる外来性因子等否定試験を行う
- ・ 原液を中和した後、in vitro で外来性因子等否定試験を行う

これに対して、国内生物学的製剤基準では以下の様な品質管理試験を行うことが定められている。

- ・ 培養した細胞の10%を対照細胞とし、細胞観察を1週間行う
- ・ 観察終了時にin vitro 及びin vivo で外来性因子等否定試験を行う

比較した結果、生物学的製剤基準では対照細胞の観察期間が1週間であるのに対して、WHOガイドラインでは2週間である。また、生物学的製剤基準では対照細胞でのみ外来性ウイルス等否定試験を行うのに対して、WHOガイドラインでは対照細胞及び原液において外来性ウイルス等否定試験を行うことが定められている。化血研ではWHOガイドラインと生物学的製剤基準を参考に品質管理試験を行った。

#### d) 各細胞株における増殖性実験

図3に示すように、RK-13細胞で培養したウイルス力価は $10^{8.23}$  PFU/Flask、MRC-5細胞で培養したウイルス力価は $10^{7.42}$  PFU/Flask、Vero E6細胞で培養したウイルス力価は $10^{6.27}$  PFU/Flaskであった。Vero E6細胞における増殖性は他の細胞基質と比較して最も低く、RK-13細胞よりも約100倍低かった。

#### e) Vero細胞増殖曲線

図4に示すように、Vero E6細胞で培養したウイルス力価は培養4時間後で $10^{1.35}$

PFU/Flask、8時間後で $10^{4.02}$  PFU/Flask、16時間後で $10^{1.35}$  PFU/Flask、24時間後で $10^{6.09}$  PFU/Flask、48時間後で $6.58 \times 10^{6.58}$  PFU/Flask、96時間後で $10^{7.02}$  PFU/Flaskに達した。Vero E6細胞における増殖は、培養16～24時間後に急激に増加した。

#### D. 考察

痘そうワクチンLC16m8は約30年前に確立されたクローンである。当時の品質検査には、現在生物薬品で求められている多くの外来性因子否定に関する成績がなかった。今回、ウイルスマスターシード、ウサギコロニー、ウサギ腎細胞に関して、ヒト、ウシ、ブタ、ウサギに感染する多くのウイルスについてPCRを用いて検査を実施した結果、すべて陰性であった。

この外来性因子に関する品質管理項目について、国内基準である生物学製剤基準と最近公表されたWHOガイドラインを比較検討した結果、対照細胞の観察期間、検査項目など幾つかの相違が見られ、今後検討の課題が明らかとなった。

継代細胞(RK-13細胞、MRC-5細胞、Vero E6細胞)を用いて、LC16m8株の増殖性を評価した。ワクチンの大量培養及びタンク培養で広く用いられているVero細胞においては、RK-13細胞よりも約1/100のウイルス力価と低かった。今後より感受性の高い細胞の探索が必要である。

#### E. 結論

痘そうワクチンLC16m8のマスターウイルスシード、及びウサギコロニー、ウサギ腎細胞についてCPMPのガイドラインに基づき、外来性因子検査を行い、すべて陰性であった。WHOのガイドラインは国内の生

物製剤基準と検査項目が異なることが明らかとなった。継代細胞（RK-13 細胞、MRC-5 細胞、Vero E6 細胞）を用いて、LC16m8 株の増殖性を評価した。Vero E6 細胞は RK-13 細胞よりも約 1/100 のウイルス力価と低かった。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し。

H. 知的財産の出願・登録状況

特に無し。

以上

# 表1: マスターウイルスシード外来性因子否定試験

Test	Methodology	Results	Test	Methodology	Results
<b>Human Pathogens:</b>					
HIV-1 and 2	Proviral qPCR	No Sequences detected	Rabbit Hemorrhagic Disease	qRT-PCR	Negative
HTLV-1 and 2	Proviral qPCR	No Sequences detected	Encephalomyocarditis	qRT-PCR	Negative
Hepatitis A	qRT-PCR	Negative	Sendai virus	qRT-PCR	Negative
Hepatitis B	qPCR	No Sequences detected	SV5	qRT-PCR	Negative
Hepatitis C	qRT-PCR	No Sequences detected	Pneumonia Virus of Mice	qRT-PCR	Negative
Human HSV-1 and 2	Conventional PCR	No Sequences detected	<b>Porcine Pathogens:</b>		
CMV	qPCR	No Sequences detected	Porcine circovirus	PCR	Negative
EBV	qPCR	No Sequences detected	Porcine parvovirus	PCR	Negative
HHV-6	qPCR	No Sequences detected	<b>Bovine Pathogens:</b>		
HHV-7	qPCR	No Sequences detected	Reovirus	PCR	No Sequences detected
HHV-8	qPCR	No Sequences detected	BVDV	PCR	No Sequences detected
Human Papilloma	qPCR	Negative	Bovine parvovirus	PCR	No Sequences detected
Parainfluenza Type 1, 2, 3	qRT-PCR	Negative	Bovine adenovirus	PCR	No Sequences detected
Borneo Disease Virus	qRT-PCR	Negative	Blue tongue virus	PCR	No Sequences detected
SV-40	qPCR	No Sequences detected	Rabies virus	PCR	No Sequences detected
Enteroviruses	PCR	Negative	Bovine respiratory syncytial virus	PCR	No Sequences detected
<b>Rabbit Pathogens:</b>					
Rabbit Papilloma	qPCR	Negative	Bovine polyomavirus	PCR	No Sequences detected
Herpes sylvilagus	qPCR	Negative	Bovine herpes virus 1 & 4	PCR	No Sequences detected
Herpes cuniculi	qPCR	Negative	<b>Additional Tests:</b>		
Rabbit rotavirus	qRT-PCR	Negative	Mycoplasma	Cultivation	Not detected
Rabbitpox Viruses			Sterility Test	MRBP <sup>a</sup>	Not detected
Shope Fibroma Virus	qPCR	Negative			
Myxomatosis	qPCR	Negative			

<sup>a</sup> Japanese Minimum Requirements for Biological Products (MRBP)

**表2:ウサギコロナーの外来因子否定試験**

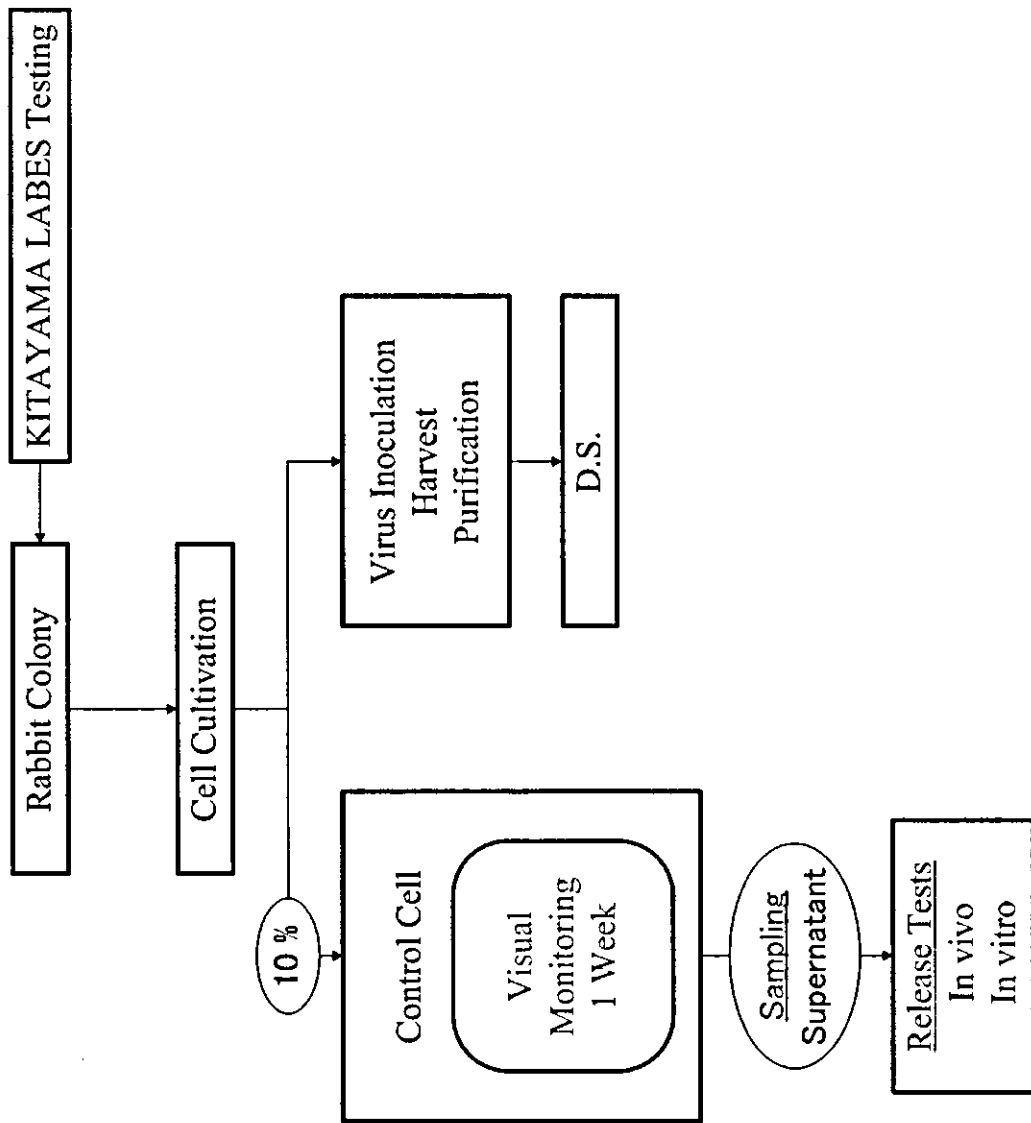
Test Category	Agent Name	Test Method	Time			
			July 2003	November 2003	April 2004	August 2004
Rabbit Pathogens	Rabbit hemorrhagic disease virus	ELISA	Negative	Negative	Negative	Negative
	Shope papillomavirus	qPCR	Negative	Negative	Negative	Negative
	Adenovirus	qPCR	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
	Herpes sylvilagus	qPCR	Negative	Negative	Negative	Negative
	Herpes cuniculi	qPCR	Negative	Negative	Negative	Negative
	Borna disease virus	qRT-PCR	Negative	Negative	Negative	Negative

### 表3:ウサギ腎細胞の外来因子否定試験

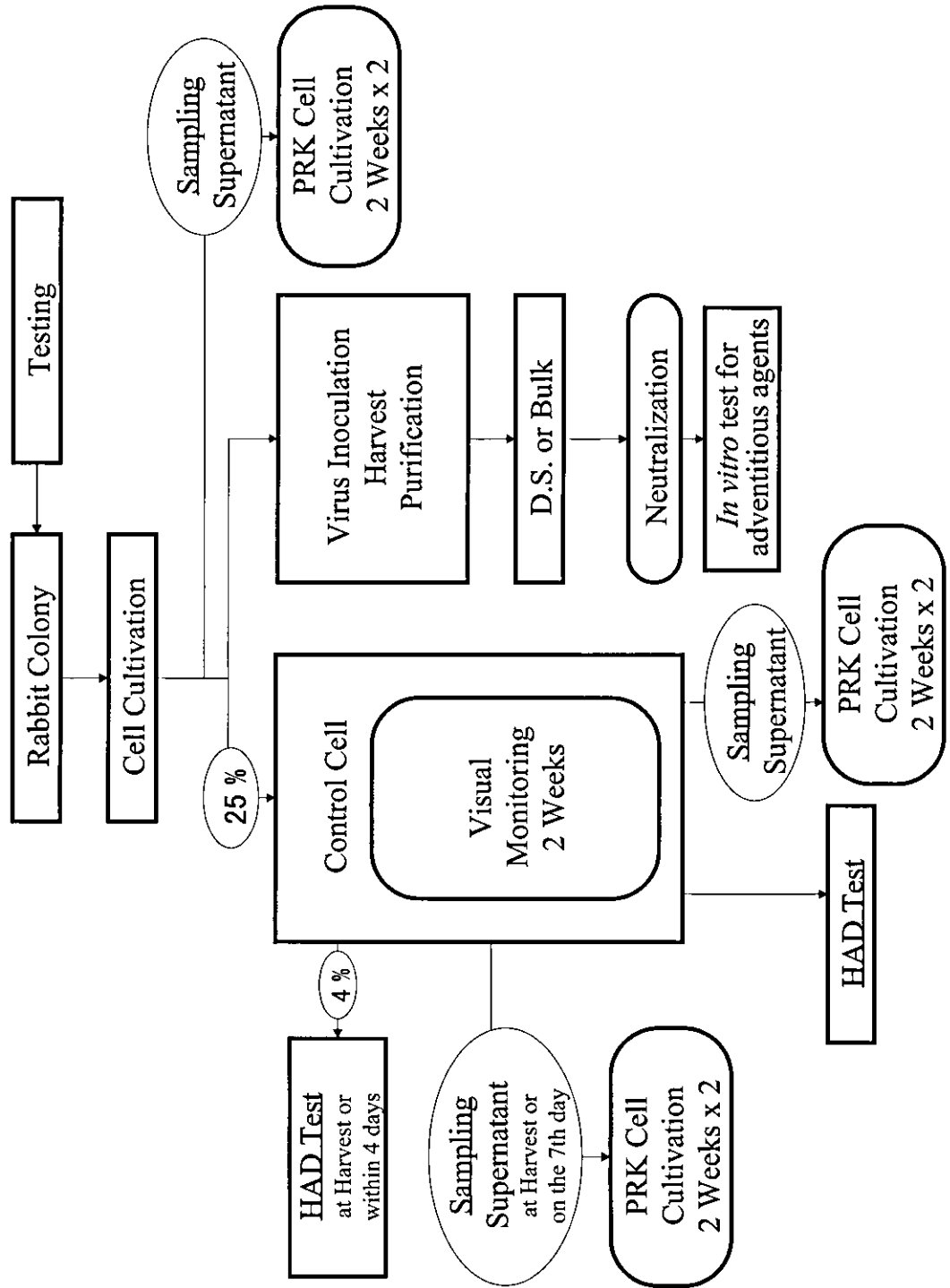
Test Method	Lot	Results
TEM	LC0314	Negative
	LC0315	Negative
PERT	LC0314	Negative
	LC0315	Negative



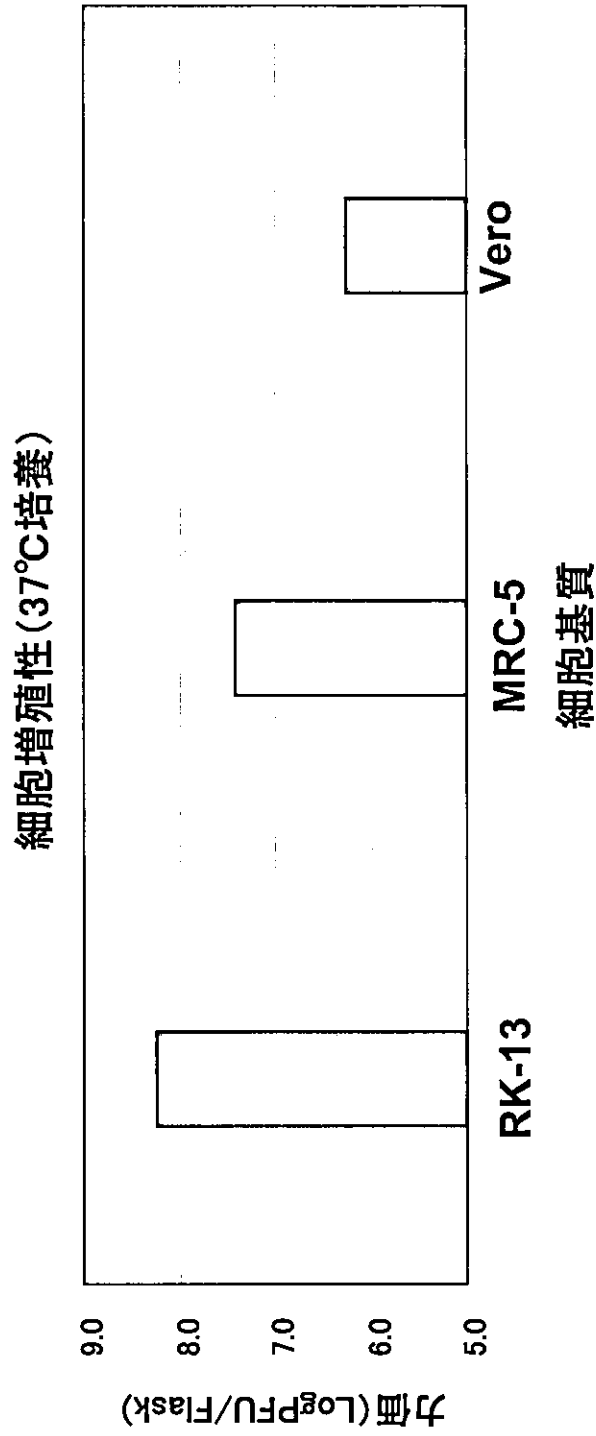
**図1: 生物学的製剤基準の試験**



## 図2:WHO ガイドラインの試験



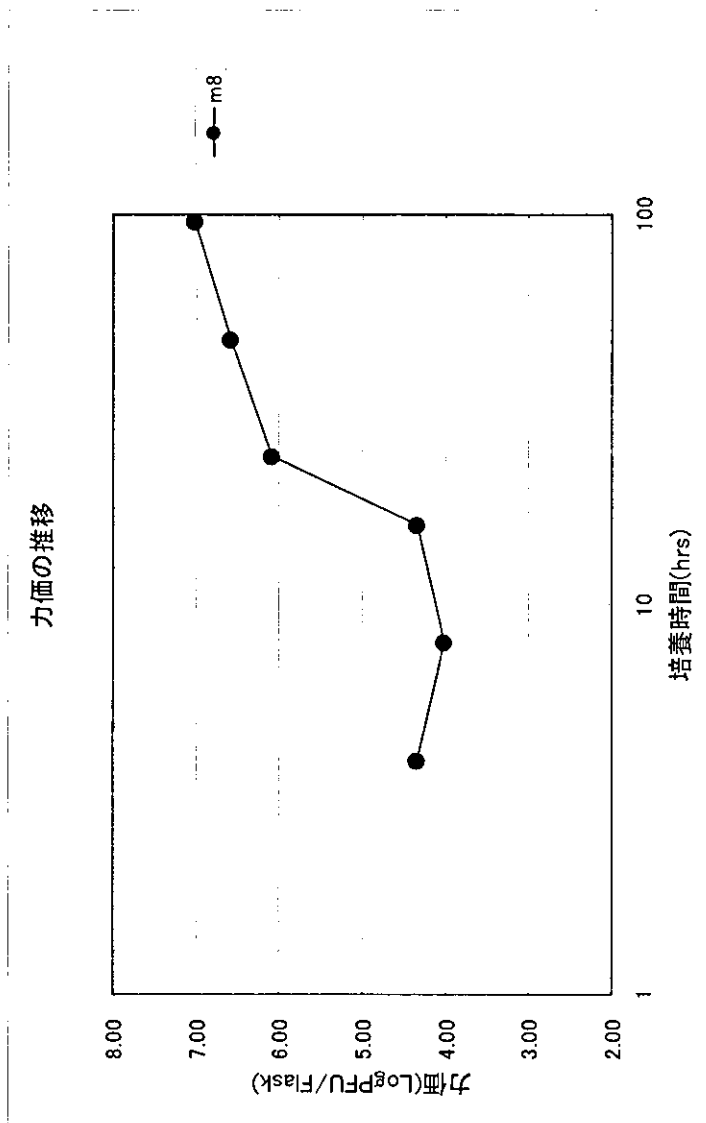
**圖3:細胞增殖性結果**



細胞基質	RK-13	MRC-5	Vero
LC16m8	8.23	7.42	6.27

(單位: Log PFU/Flask)

# 図4: Vero細胞増殖曲線



サンプル名	4hrs	8hrs	16hrs	24hrs	48hrs	96hrs
LC16m8	4.35	4.02	4.35	6.09	6.58	7.02

(単位: Log PFU/Flask)

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）  
（分担）研究報告書

痘そうワクチンの備蓄戦略の為の品質向上、生産性向上に関する研究

分担研究課題：有効性の維持の基礎的検討

分担研究者：横手公幸 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部長付  
協力研究者：船津昭信 財団法人 化学及血清療法研究所長・理事長  
協力研究者：田代 昭 財団法人 化学及血清療法研究所 常務理事  
協力研究者：岡 徹也 財団法人 化学及血清療法研究所 常務理事  
協力研究者：寺野 剛 財団法人 化学及血清療法研究所 品質管理部 部長  
協力研究者：尾堂浩一 財団法人 化学及血清療法研究所 品質保証部 第二課長  
協力研究者：久米田幸介 財団法人 化学及血清療法研究所 品質管理部長付  
協力研究者：上田謙二 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部長付  
協力研究者：金原知美 財団法人 化学及血清療法研究所 第一製造部長付

研究要旨 現在、平成 14 年製造以降の製造ロットは、 $-20^{\circ}\text{C}$ で保存が行われている。この保存サンプルにおいて生物学的製剤基準に準じた品質試験を実施した。有効期限の延長の基盤となる精度を有する品質試験成績を蓄積することを目的として、予備的検討を行い、原液においては、12 ヶ月までの安定性を確認した。また、製剤の施栓系材料（バイアル、ゴム栓）の安定性の検討に着手した。

A. 研究目的

ワクチンの有効な保存方法と有効期限についての知見により、長期的なワクチン備蓄戦略に資する基礎資料を得ることが期待される。本研究では安定性の予備的成績の評価を目的とした。

B. 研究方法

a) 原薬の凍結融解安定性実験

凍結融解による影響を評価するために予備的に 1 ロットの原薬を用い比較検討した。凍結融解の条件は、 $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ で凍結し

$30^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ で融解とした。凍結融解の繰り返し回数は、5 日毎に最大 5 回とした。

b) 原薬の安定性実験

WHO ガイドライン (WHO RECOMMENDATIONS FOR PRODUCTION AND CONTROL OF SMALLPOX VACCINE REVISED 2003) と国内生物製剤基準の各試験項目について実際の保存条件である  $-80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  とそれより過酷な条件である  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  での安定性を確認するために、それぞれ 2 ロットの原薬を用いて比較検討した。

c) 小分け材料の安定性評価

現行の小分け製品の1次容器である容器と施栓系は、バイアル瓶とゴム栓（ブチルゴム）である。これらを用いた医薬品での超低温（-20℃及び-80℃）長期保存の実施はない。よって、この保存条件における1次容器の安定性の検討を行った。

C. 研究結果

a) 原薬の凍結融解安定性実験

凍結融解による影響を評価するために予備的に1ロットの原薬を用い比較検討した。その結果、少なくとも4回の凍結融解までは原薬の安定性に影響を及ぼさないのではないかと考えられた。（図1）

b) 原薬の安定性実験

WHOガイドライン(WHO RECOMMENDATIONS FOR PRODUCTION AND CONTROL OF SMALLPOX VACCINE REVISED2003)と国内生物製剤基準の各試験項目について、実際の保存条件である-80℃とそれより過酷な条件である-20℃での安定性を確認するために、それぞれ2ロットの原薬を用いて比較検討した。その結果、-80℃ではウイルス含量に変化は認められず1年間安定な成績であった。

（図2）また、-20℃では保存初期にウイルス含量にやや低下傾向が認められたものの $10^{8.0}$  PFU /mLを維持していた。（図3）

c) 小分け材料の安定性評価

各種文献及び材料メーカーとの協議確認により、用いているゴム栓は、使用温度範囲は-50℃~150℃であり、使用温度が脆化温度（脆くなる温度）-48℃以上であれば、バイアルとの密着性には問題はないことが確認された。また、製剤（凍結乾燥工程）

に用いているゴム栓は、-30~-40℃の温度や時間では問題が発生した事象は認められていない。

今後は、ゴム栓メーカー（株式会社大協精工、浪華ゴム工業株式会社）との協議を継続し、追加試験の実施と必要に応じてゴム栓材質組成の検討を行う。また、アンブル化の可能性も検討する。尚、ゴム栓の性状については、資料を参照のこと。（原料ゴム特性一覧表）

D. 考察

安定性試験において、各測定時期にサンプリングされた検体の保存は、安定性試験結果の評価に重大な影響を及ぼす。今回安定性試験の予備検討として、凍結融解実験を行った結果、少なくとも4回の凍結融解までは原薬の力価の安定性に影響を及ぼさないのではないかと考えられた。

製造における中間製品である原液・原薬の安定性を-20℃、-80℃で検討した。-20℃では保存初期にウイルス含量にやや低下傾向が認められたものの $10^{8.0}$  PFU /mLを維持していた。今後、更なる経過を検討する必要がある。

また、今後この結果を基に製剤（凍結乾燥製品）の安定性計画を作成する。

E. 結論

凍結融解実験の結果、4回までの凍結融解は、力価に影響がないことが明らかとなった。原薬を-20℃保管では、1年間安定な成績であった。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し。

H. 知的財産の出願・登録状況

特に無し。

**図1:原薬の凍結融解安定性実験成績**

凍結融解回数	0	1	2	3	4	5
SY1(LC0311)	9.15	8.82	8.84	8.79	8.83	8.65

**-20°C凍結融解実験**

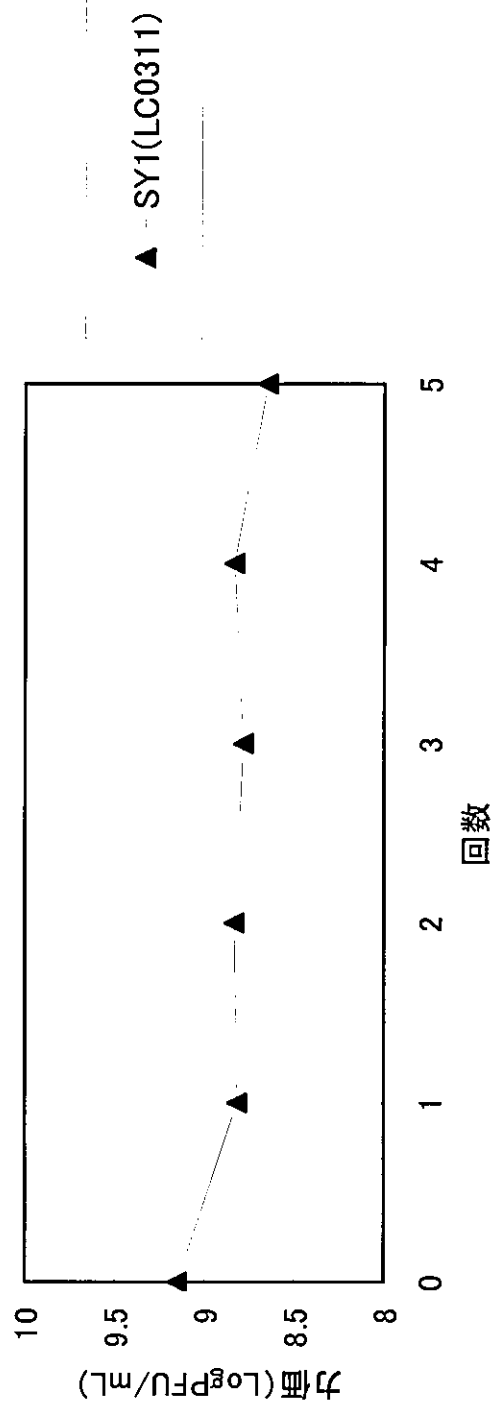




図2: 原薬の安定性実験成績 (-20°C)

保管月数	0	1	2	3	6	9	12
SY2(LC0312)	9.12	8.89	8.97	8.45	8.80	8.53	8.89
SY3(LC0313)	8.99	8.74	8.47	8.37	8.47	8.80	8.72

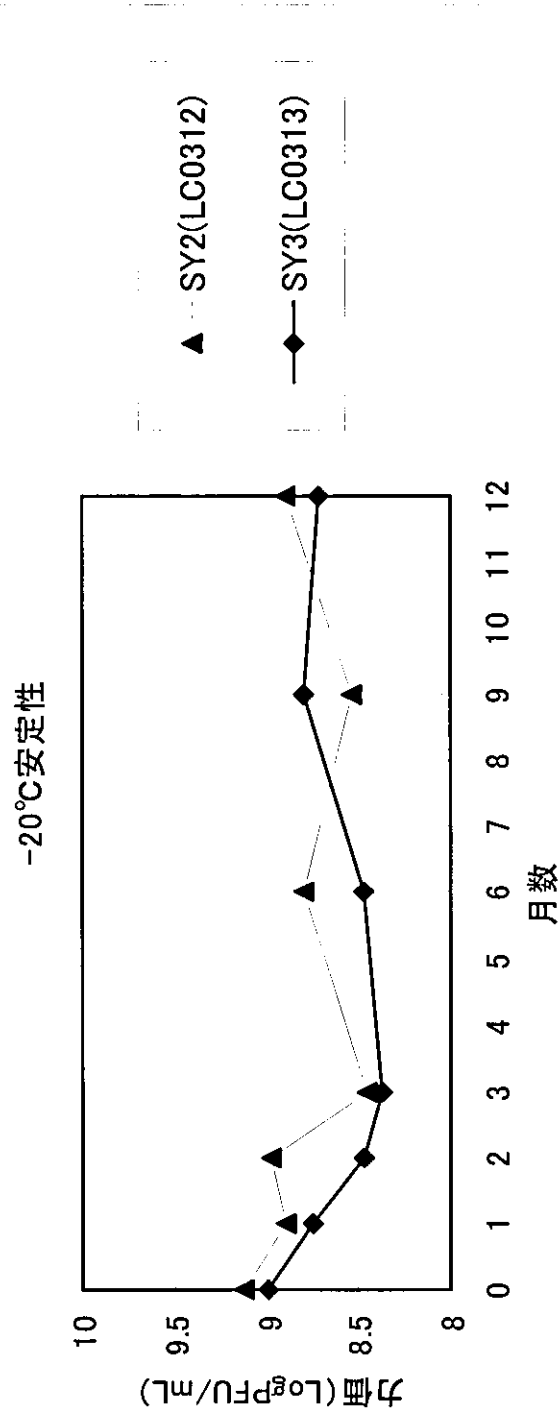
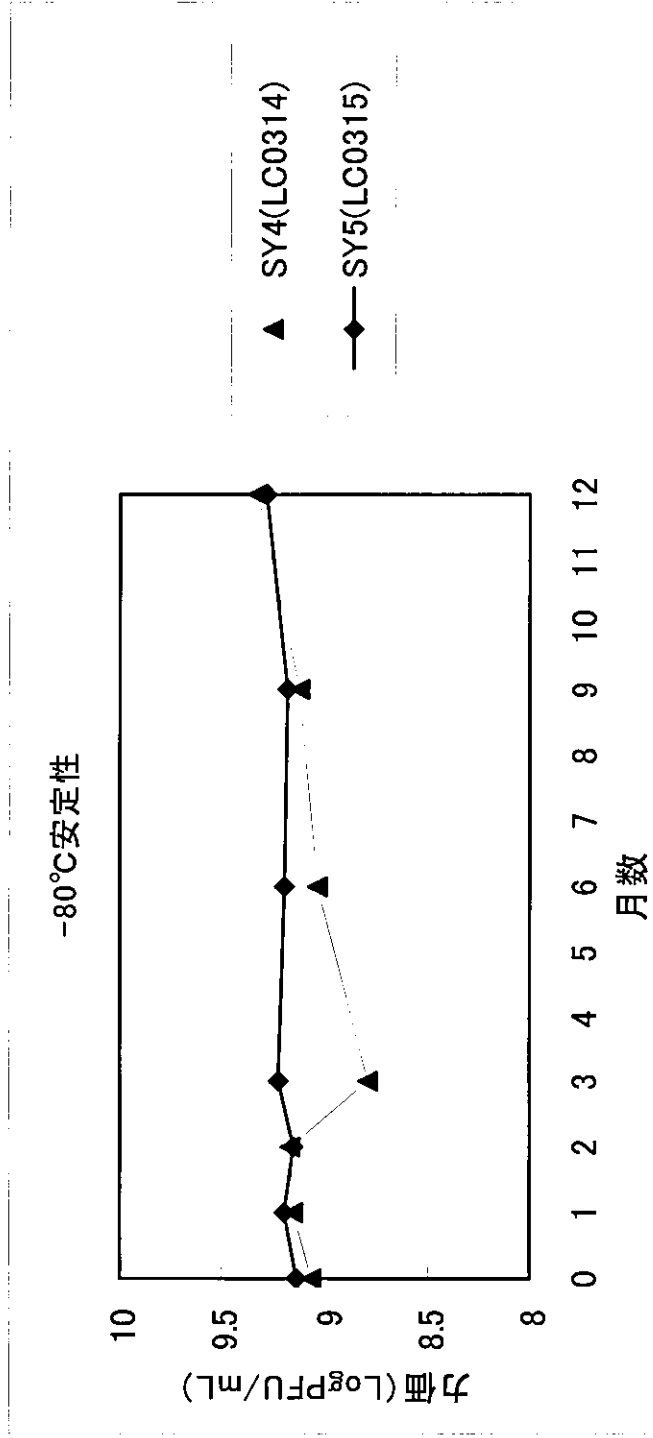


図3:原薬の安定性実験成績(-80°C)

保管月数	0	1	2	3	6	9	12
SY4(LC0314)	9.07	9.15	9.17	8.79	9.04	9.13	9.33
SY5(LC0315)	9.14	9.19	9.15	9.23	9.20	9.18	9.29





London, 24 July 2002  
CPMP/BWP/3354/99

**COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS  
(CPMP)**

**NOTE FOR GUIDANCE ON PRODUCTION AND QUALITY CONTROL  
OF ANIMAL IMMUNOGLOBULINS AND IMMUNOSERA FOR HUMAN  
USE**

<b>DISCUSSION IN THE BIOTECHNOLOGY WORKING PARTY</b>	<b>JANUARY 1998 – DECEMBER 1999</b>
<b>TRANSMISSION TO CPMP</b>	<b>JANUARY 2000</b>
<b>RELEASE FOR CONSULTATION</b>	<b>JANUARY 2000</b>
<b>DEADLINE FOR COMMENTS</b>	<b>JULY 2000</b>
<b>DISCUSSION IN THE BIOTECHNOLOGY WORKING PARTY</b>	<b>OCTOBER 2000 – JUNE 2002</b>
<b>TRANSMISSION TO CPMP</b>	<b>JUNE 2002</b>
<b>ADOPTION BY CPMP</b>	<b>JULY 2002</b>
<b>DATE FOR COMING INTO OPERATION</b>	<b>1 AUGUST 2002</b>

**NOTE FOR GUIDANCE ON PRODUCTION AND QUALITY CONTROL OF  
ANIMAL IMMUNOGLOBULINS AND IMMUNOSERA FOR HUMAN USE**

**TABLE OF CONTENTS**

<b>1. SCOPE .....</b>	<b>3</b>
<b>2. SPECIES USED FOR THE PRODUCTION OF ANIMAL IMMUNOGLOBULINS FOR HUMAN USE .....</b>	<b>4</b>
<b>3. CHARACTERISATION OF THE ANIMAL IMMUNOGLOBULIN/IMMUNOSERUM DURING DEVELOPMENT .....</b>	<b>4</b>
<b>4. POINTS TO CONSIDER IN MANUFACTURE.....</b>	<b>4</b>
<b>4.1 ANIMALS USED IN THE MANUFACTURING PROCESS.....</b>	<b>5</b>
<b>4.2 STARTING MATERIALS .....</b>	<b>5</b>
<b>4.3 PRODUCTION PROCESS.....</b>	<b>6</b>
<b>5. THE FINAL BULK PRODUCT .....</b>	<b>8</b>
<b>6. THE FINISHED PRODUCT/RELEASE TESTING.....</b>	<b>9</b>
<b>7. CONSISTENCY OF THE MANUFACTURING PROCESS.....</b>	<b>10</b>
<b>ANNEX: POTENTIAL VIRAL CONTAMINANTS.....</b>	<b>11</b>
<b>TABLE 1: RABBIT.....</b>	<b>12</b>
<b>TABLE 2: HORSE.....</b>	<b>13</b>
<b>TABLE 3: SHEEP &amp; GOAT.....</b>	<b>14</b>