

Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Saint-Denis Cedex, France; Dr R. Mignolet, RLM Consulting, Wavre, Belgium; Dr P. Minor, Head, Division of Virology, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, UK; Dr G. Oreffici, Istituto Superiore di Sanita, Rome, Italy; Dr M. Pallardy, AFSSAPS Veille Toxicologique/Vigilance, St Denis Cedex, France; Dr J. Petriciani, Carlsbad, USA; Dr P. Pitisuttithum, Vaccine Trial Centre, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand; Dr F. Reigel, Vice Director, Swissmedic, Biological Medicines and Laboratories, Bern, Switzerland; Dr J. Robertson, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, UK; Dr L. Slamet, Deputy for Therapeutic Products, Narcotic, Psychotropic and Addictive Substance Control, Directorate General of Food and Drug Control, Ministry of Health, Jakarta, Indonesia; Dr A.K. Tahlan, Central Drugs Laboratory, Central Research Institute, Kasauli, India; Ms C. Chamberlin, Scientific Secretary of European Pharmacopoeia Group of Experts on Vaccines, Strasbourg, France; Dr B. Meignier, IABS c/o Director, External R&D, Aventis Pasteur SA, Marcy l'Etoile, France; Dr B.J. Ledwith, Director, Biologics Safety Assessment, Merck Research Labs., West Point, PA, USA; Dr F. Verdier, Head, Product Safety Assessment, Aventis Pasteur, Marcy l'Etoile, France; Dr G. del Giudice, Head, Animal Models and Serology, Research Center, Chiron SpA, Siena, Italy; Dr M.P. Kieny, Director, IVR, WHO; Dr L. Rago, Coordinator, QSM, WHO; Dr D. Wood, Acting Coordinator, QSB, WHO; Mr L. Belgharbi, ATT, WHO; Dr N. Dellepiane, ATT, WHO; Dr P. Duclos, VAM, WHO; Dr D. Kioy, TDR, WHO; Dr I. Knezevic, QSB, WHO; Dr E. Uramis Diaz, ATT, WHO; Dr S. Osmanov, VIR, WHO.

The final draft was prepared by Dr E. Griffiths, Dr M. Gruber, Dr D. Masset, Dr F. Verdier, Dr D. Wood and Dr I. Knezevic, following the meeting held in Geneva, 9-10 June 2003, taking into account comments made by the Expert Committee on Biological Standardization at its meeting held in February 2003 as well as comments made by the reviewers of the document.

Annex 1

List of tissues to be collected in a repeated dose toxicity study:

adrenal glands

aorta

bone (femur) and articulation

bone (sternum) with bone marrow

bone marrow smears (1)

brain

bronchi (mainstem)

caecum

colon

duodenum

epididymides

eyes

heart

ileum

injection site(s) (a sample will be taken from the area injected)

jejunum

kidneys and ureters

larynx

(1) Bone marrow smears should be prepared at the scheduled necropsy for all animals including any moribund animals killed during the study. The smears should be fixed in methanol and then stained by the May Grunwald-Giemsa method.

liver

lungs

lymph node (mandibular)

lymph node (mesenteric)

mammary gland

oesophagus

optic nerves

ovaries and oviducts

pancreas

parathyroid glands

Peyer's patches

pituitary gland

prostate

rectum

salivary glands (mandibular, parotid, sublingual)

sciatic nerves

seminal vesicles

skeletal muscle

skin

spinal cord (cervical, thoracic, lumbar)

spleen

stomach

testes

thymus

thyroid glands

tongue

trachea

ureters

urinary bladder

uterus (horns + cervix)

vagina

all gross lesions.

Annex 2

Glossary

The definitions given below apply to the terms used in these guidelines. They may have different meanings in other contexts.

Adjuvants: are substances that are intended to enhance relevant immune response and subsequent clinical efficacy of the vaccine.

Booster vaccination: Vaccination given at a certain time interval after primary vaccination in order to enhance immune responses and induce long term protection.

Combination vaccine: A vaccine that consists of two or more antigens, combined either by the manufacturer or mixed immediately before administration and intended to protect against: 1) multiple diseases or 2) one disease caused by different strains or serotypes of the same organism.

Dissemination: Evaluation of the release of live vaccines in the environment (e.g. viral shedding).

Genetically modified organism (GMO): an organism or a micro-organism in which the genetic material has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/ or natural recombination. This definition covers micro-organisms including

viruses, viroids, cell cultures including those from animals but does not cover naked recombinant DNA and naked recombinant plasmids.

Good Clinical Practice (GCP): A standard for clinical studies which encompasses the design, conduct, monitoring, terminations, audit, analyses, reporting and documentation of the studies and which ensures that the studies are scientifically and ethically sound and that the clinical properties of the pharmaceutical product (diagnostic, therapeutic or prophylactic) under investigation are properly documented.

Good Laboratory Practice (GLP): A quality system concerned with the organizational process and the conditions under which non-clinical health and environmental safety studies are planned, performed, monitored, recorded, archived and reported. GLP principles may be considered as a set of criteria to be satisfied as a basis for ensuring the quality, reliability and integrity of studies, the reporting of verifiable conclusions and the traceability of data.

Good Manufacturing Practice (GMP): A part of the pharmaceutical quality assurance which ensures that products are consistently produced and controlled to the quality standards appropriate to their intended use and as required by the marketing authorization. In these guidelines, GMP refers to the current GMP guidelines published by WHO.

Immunogenicity: Capacity of a vaccine to induce antibody mediated and/or cell-mediated immunity and /or immunological memory.

Nonclinical evaluation of vaccines: All *in vivo* and *in vitro* testing performed before and during clinical development of vaccines. The potential toxicity of a vaccine should be defined not only prior to initiation of human trials, but throughout clinical development.

Plasmid: Double-stranded circular DNA molecules capable of replicating in bacterial cells.

Potency: The measure of biological activity, using a suitably quantitative biological assay, based on the attribute of the product that is linked to the relevant biological properties.

Preclinical evaluation of vaccine: All *in vivo* and *in vitro* testing prior to first testing of vaccines in humans. This is prerequisite to the initiation of clinical trials and includes product characterization, proof of concept/ immunogenicity studies and animal safety testing conducted prior to introducing the product into the humans.

Preclinical toxicity study: A study designed with the primary purpose of demonstrating the safety and tolerability of a candidate vaccine product. The preclinical toxicity study design should meet the criteria outlined in the section “Study design” to be considered supportive of the intended clinical trial.

Primary vaccination: First vaccination or series of vaccinations given within a predefined period, with an interval of less than 6 months between doses, to induce clinical protection.

Product characterization: Full battery of physical, chemical and biological tests conducted for a particular product. These tests include but are not limited to in-process control testing, testing for adventitious agents, testing process additives and process intermediates, and lot release.

Protocol or Study Plan: A document that states the background, rationale and objectives of the nonclinical studies and describes its designs, methodology and organization, including statistical considerations, and the conditions under which it is to be performed and managed.

Relevant animal model: is an animal which develops an immune response similar to the expected human response after vaccination. It is acknowledged that species specific differences in immune responses will likely exist. Ideally, the animal species used should be sensitive to the pathogenic organism or toxin.

Route of administration: The means by which the candidate vaccine product is introduced to the host. Routes of administration may include the intravenous, intramuscular, subcutaneous, transcutaneous, intradermal, transdermal, oral, intranasal, intranodal, intravaginal and intrarectal routes.

Seroconversion: Predefined increase in antibody concentration, considered to correlate with the transition of seronegative to seropositive, providing information on the immunogenicity of a vaccine. If there are pre-existing antibodies, seroconversion

is defined by a transition from a predefined low level to a significantly higher defined level, such as four fold increase in geometric mean antibody concentration.

Validation: The action of proving in accordance with the principles of Good Manufacturing Practice, that any procedure, process, equipment (including the software or hardware used), material, activity or system actually leads to the expected results.

Annex 3***References***

1. (1997) Biological Standardization and control. A scientific review commissioned by the UK National Biological Standards Board. World Health Organization. WHO/BLG/97.1.
2. (1997) Biotechnology and world health. Risks and benefits of vaccines and other medical products produced by genetic engineering. Proceedings of a WHO meeting. WHO/VRD/BLG/97.01.
3. (2003) Guidelines on Transmissible Spongiform Encephalopathies in relation to Biological and Pharmaceutical Products. WHO/BCT/QSD/03.01.
4. (in press) WHO guidelines for clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. *WHO Technical Report Series*.
5. Griffiths, E. (1988) Efficacy of whole-cell pertussis vaccine, in *Pathogenesis and Immunity in Pertussis* (Wardlaw, A. C. and Parton R., eds.), Wiley, Chichester, pp. 353-374.
6. (2002) Recommendations and guidelines for biological substances used in medicine and other documents, *WHO Technical Report Series* 910, 99-102.
7. (1997) Guidance for Industry for the evaluation of combination vaccines for preventable diseases: production, testing and clinical studies. US FDA.
8. (1999) CPMP/BWP/477/97 - Note for Guidance on Pharmaceutical and Biological aspects of combined vaccines.

9. (1992) Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products, *WHO Technical Report Series* 822, 31-46.
10. (1995) Regulation and licensing of biological products in countries with newly developing regulatory authorities, *WHO Technical Report Series* 858, 21-35.
11. (2002) Scientific considerations for the regulation and clinical evaluation of HIV/AIDS preventive vaccines, *AIDS*, 16, W15-W25.
12. (1992) Good manufacturing practices for biological products. *WHO Technical Report Series* 822, 20-30.
13. OECD principles on Good Laboratory Practice (revised 1997). ENV/MC/CHEM (98) 17.
14. Requirements for the Use of Animal Cells as *in vitro* Substrates for the production of Biologicals. Annex 1. WHO TRS 878, 1998.
15. Guidelines for assuring quality of DNA vaccines. Annex 3. WHO TRS 878, 1998.
16. Guidelines for assuring the quality of pharmaceutical and biological products prepared by recombinant DNA technology. Annex 3. WHO TRS 814, 1991.
17. Guidelines for the production and quality control of synthetic peptide vaccines. Annex 1. WHO TRS 889, 1999.
18. Guidance for Industry: Content and Format of Chemistry, Manufacturing and Controls Information and Establishment Description Information for a Vaccine or Related Product. FR; Volume: 64, No. 2, 1999, 518-519: (CBER, FDA).
19. Good manufacturing practices for pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-second Report, Geneva. World Health Organization, 1992, Annex 1 (WHO Technical Report Series, no. 823).

20. Good Manufacturing Practice: supplementary guidelines for the manufacture of the investigational pharmaceutical products for clinical trials in humans. In: WHO expert committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: Thirty-Four Report, 1996. Annex 7. WHO Technical Report. Series 863.
21. CPMP/SWP/465/95 – Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines. June 1998.
22. Goldenthal KL, Cavagnaro JA, Alving CR, and Vogel FR. Safety Evaluation of Vaccine Adjuvants: National Cooperative vaccine Development Meeting Working Group. AIDS Research and Human Retroviruses. 1993, 9, supplement 1: S47-S51.
23. Guidance for Industry for the Submission of Chemistry, Manufacturing, and Controls Information for Synthetic Peptide Substances. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) and Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). November 1994.
24. CPMP/SWP/2145/00 - Note for guidance on non-clinical local tolerance testing of medicinal products.
25. WHO Manual of laboratory methods for testing vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization. Annex 1.1997. WHO/VSQ/97.04
26. Wraith D.C., Goldman M., Lambert P.H. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? The Lancet. June 2003.
27. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 2nd edition (revised) Geneva 2003.
28. European Commission Regulations No. 541/95, 542/95, 1146/98 and 1069/98.
29. Note for Guidance for Reproductive Toxicology: Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products. CPMP/ICH/386/95.

30. Note for Guidance on genotoxicity: a standard battery for genotoxicity testing of pharmaceuticals. CPMP/ICH/174/95.
31. Note for Guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals. CPMP/ICH/539/00.
32. Note for guidance on repeated dose toxicity, CPMP/SWP/1042/99.
33. ICH M3(M) Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. November 2000.
34. Guidance for Industry: Nonclinical Studies for Development of Pharmaceutical Excipients. Draft. September 2002.
35. Note for guidance on excipients, antioxidants and antimicrobial preservatives in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product. CPMP/QWP/419/03.
36. Verdier F., Patriarca C., Descotes J. (1997). Autoantibodies in conventional toxicity testing. *Toxicol.* 119, 51-58.
37. Note for guidance on comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as drug substance. CPMP/BWP/3207/00.
38. (2000) Recommendations for *Haemophilus influenzae* Type b conjugate Vaccines, *WHO Technical Report Series* 897.

===



欧州医薬品評価庁
ヒト用医薬品評価部門

ロンドン、1997年12月17日
CPMP/SWP/465/95

EU 医薬品委員会
(CPMP)

ワクチンの前臨床薬理および毒性試験に
関する指針に対する注釈

安全性作業部会における討議 (バイオテクノロジー作業部会と共同)	1995年11月～1997年2月
CPMP への伝達	1997年2月
関係者への伝達	1997年2月
コメントに対する最終期限	1997年8月
安全性作業部会における討議 (バイオテクノロジー作業部会と共同)	1997年11月
CPMP による最終承認	1997年12月
施行日	1998年6月

7 Westferry Circus, Canary Wharf, London E14 4HB, UK
Tel: (+44-171) 418 84 00 Fax: (+44-171) 418 85 51
E-Mail: mail@emea.eudra.org <http://www.eudra.org/emea.html>

ワクチンの前臨床薬理および毒性試験

緒言

ヒト用ワクチンは、感染物質または毒素あるいはそれにより生成された抗原に対し特異的で能動的な免疫を誘導できる抗原物質を含有する製剤である。

ヒト用ワクチンには以下が含まれることがある：

- 化学的または物理的手段により不活化され、適切な免疫原性を維持している微生物
- 適切な免疫原特性を維持しているが、自然に非病原性であるか、病原性を弱めるよう処理された生微生物
- 微生物から抽出された、微生物により分泌された、または組み換え DNA 技術により製造された抗原

抗原は、その自然の状態、あるいは化学的または物理的手段により病原性を弱くして利用される。また、その免疫原性を増加するために、凝集化、重合化、または担体と結合させることがある。

ワクチンは不均質の物質の集合体であるので、修正された Directive 73/318 に示されているとおり、ワクチンの前臨床および毒性試験を当該製品に適合させることができる。薬理－毒性専門家報告書に、最終プログラムを記載し、それを正当とする理由を示すこと。

指針に対する注釈の範囲

本指針に対する注釈は、上記の全てのワクチンを対象とするよう意図されている。本指針に対する注釈は、複合ワクチンを含む新ワクチン製品の前臨床評価を重点的に取り上げる。本指針に対する注釈の範囲内では、新ワクチンは、欧州薬局方モノグラフまたは WHO 要求事項にまだ記載されていない抗原を含有するか、既知の抗原に対する新結合物（new conjugate）または既知および／または新抗原を新たに複合して利用するものである。本指針に対する注釈では、インフルエンザワクチンの年次更新（yearly update）に対する試験手順は記載しない。

新投与経路および／または新デリバリー様式の場合は、特定の安全性問題に重点を置いた試験が必要なことがある。

ワクチンの製造に重大な変更を行う場合は、前臨床試験が必要かどうかを再検討すること。

本指針に対する注釈は、生微生物を含有する新ワクチン製品の開発にも適用される。前欧州指針 1988「バイオテクノロジー由来医薬品の前臨床安全性試験」の章（3.4）を置き換えるために、本注釈を発表する。

モノクローナル抗体も免疫原、すなわち抗イディオタイプワクチンとして使用できるので、CPMP/ICH/302/95: ICH S6 'Note for Guidance on Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals'（「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価に関する指針に対する注釈」）の範囲内に入るとみなすこと。同様に、組み換え DNA 蛋白ワ

クチンも同指針に対する注釈で取り上げられている。

DNA ワクチン、遺伝子療法または遺伝子組み換え体細胞療法は、本指針に対する注釈では取り上げない。

一般的な考え方

適切な動物モデルが必ずしも利用可能とは限らず、こうしたモデルでの反応が必ずしもヒトにおいても予測されるわけではないことが認識されている。したがって、個別に動物種を選択を行うべきである。

ワクチンに関連する潜在的な安全上の問題には、一般的な全身毒性、(矛盾した)対象疾患の亢進、局所毒性の誘発、発熱性、自己免疫または感作などの有害な免疫反応、および場合によっては催奇形性/生殖作用が含まれる。

歴史的には、重篤な神経学的イベントが一部のワクチンの使用に伴って生じている。

ワクチンの開発では、これらの問題を検討するための動物の利用可能性を考慮するべきである。

新ワクチン製品については(上記を参照)、従来の医薬品に対し要請される程度まで詳細な試験が必要ない可能性が認識されてはいるが、前臨床安全性試験は常に試験プログラム的一部分とすべきである。しかし、既知の抗原を含む複合ワクチンの場合は、前臨床毒性試験は必ずしも必要でないことがある。それでも、免疫原性試験は推奨される (§F.1 を参照)。

投与経路は、申請臨床経路にできる限り近いものであること。実際的な理由から、これが可能でない場合は、別の投与経路も容認される場合があるが、これを正当とする理由を示すこと。特定の安全上の問題を検討する試験(例えば、神経病原性、毒素の完全な無毒化)には他の投与経路を必要とすることが多い。関連薬局方モノグラフに記載された方法が適用可能かどうかを検討するべきである。

アジュバント、保存剤および賦形剤などの添加物に注意を払うこと (§R を参照)。

前臨床試験

上記に定義する「ワクチン」に対する前臨床文書 (Part III) を作成する際、以下の問題を検討しなければならない。

A.1 単回投与毒性

ヒト用量に関して適切な安全マージンを与える用量で、少なくとも1種類の動物種の単回投与毒性試験を実施する。しかし、この試験で毒性所見が認められる場合は、さらに用量反応関係を検討すること。重要臓器の組織病理が含まれる場合は、これらのデータは動物免疫原性試験 (§F.1. 一次薬力学を参照) または安全薬理学試験 (§F.2. 安全薬理を参照) の一部となるかもしれない。

異常毒性否定試験または発熱試験での通常の製造工程における品質に関する試験については、本指針に対する注釈の §Q を参照。

A.2 反復投与毒性

臨床状況で反復投与を必要とするワクチンには、通常は動物種 1 種での反復毒性試験が要求される。臨床使用で単回投与のみが投与される場合であっても、反復投与毒性試験が必要な場合がある。個別に適切な動物種を選択を慎重に検討すべきである。

経路および投与方法は意図した臨床用途を反映しなければならない。そのデザインは、動物とヒトでの反応時間の潜在的な差を考慮すべきである（例えば、ヒトにおける 1 カ月間隔での反復投与は、動物における 1 カ月間隔での反復投与と同じ反応が得られないことがある）。

前臨床毒性試験で通常実施される測定（すなわち、体重、摂餌量、臨床病理、肉眼剖検および組織病理）を含めるように反復投与免疫原性試験を拡大することにより、有用な情報を得ることができる。ワクチンの全重要成分に対する抗体反応を同時に測定することにより（免疫原性試験）、通常はプロトコルの価値が高まる。

これらの試験のデザインに安全薬理エンドポイントを組み込むことを検討すべきである（§F.2 も参照）。

申請者は、個別に以下の点を検討すべきである：

- 必要に応じて、宿主免疫グロブリンとの複合体形成（例えば、疾患の抗体依存性亢進）や免疫機能性分子（例えば、サイトカイン）の放出など、免疫系の機能に影響を与える毒性の免疫学的側面を検討する。
- 新たな方法（新無毒化法、抗原-担体複合体または微量の不純物の存在による方法）で修飾された抗原（毒素）、または添加剤（アジュバント/賦形剤/保存剤）によって、抗原自体により誘発される過敏反応が増加することがある（特に、複数回注射用のワクチンに対して）
- 抗原性物質がヒト組織と交差反応して有害作用を起こす可能性のある抗体を誘導する可能性がまれにあり、問題に対処するために動物モデルの利用可能性を検討する。

B. 生殖機能の検査

通常、生殖機能（受精能）に関するデータは必要ない。毒性試験における組織病理から、生殖器官の完全性に関する十分な情報が得られるであろう。

C. 胚/胎児および周産期毒性

ほとんどの場合、ヒトのワクチン接種は小児期に行われる。したがって、通常、胚/胎児および周産期毒性試験は必要ない。妊娠する可能性のある年齢の女性または妊娠中の使用向けである場合のみ必要である。

一部の既存のワクチンは妊娠していない女性での使用に安全であるが、妊婦では奇形や流産をもたらす胎児感染を引き起こす可能性がある。妊娠中の感染物質や関連ワクチンへの曝露に関する臨床および/または疫学データに関する記録を提供することで当該危険性を評価するのに、十分と考えられるが、しかし、これらの記録で十分でない場合には、適切な動物モデルの利用可能性を検討すべきである。

D/E. 変異原性および癌原性

通常、遺伝毒性およびがん原性試験は必要ない。

F. 薬力学

F.1 一次薬力学（免疫原性および防御）

「抗原－防御反応」に関する一次薬力学試験を適切な動物種で実施する。ヒトでの感染を反映する動物モデルが存在する場合は、こうした試験におけるエンドポイントは病原微生物の攻撃に対する防御とすべきである。ほとんどの場合で免疫反応の定量のみでは防御の十分な指標とはならない。

免疫機能を評価する試験には、予想される免疫原性の評価（抗体生成レベル、生成された抗体のクラスおよびサブクラス、細胞媒介性免疫および免疫反応持続期間）を含めるべきである。加えて、機能障害をおこす中和抗体の形成、免疫複合体形成、免疫細胞との相互作用、および免疫系に影響を及ぼす他の分子の放出も検討するべきである。動物で個別の抗原と比較して新複合ワクチンを検討して、反応の増強または減弱が生じるかどうかを明らかにすることが望ましい。

特定のワクチンと他のワクチンの相互作用から、相互拮抗が生じることがある。2種類以上のワクチンの同時投与後に一部の場合に、例えばコレラワクチンと黄熱病ワクチン、麻疹ワクチンと髄膜炎菌 A+C ワクチン間で認められる。

F.2 二次薬力学（安全性薬理）

新ワクチン（「範囲」に規定するとおり）については、例えば、循環系および呼吸系に対する望ましくない薬理活性の可能性を考慮に入れて、適切な動物モデルで検討すべきである。必要に応じて、毒性および／または臨床試験のデザインに、これらの活性のモニタリングを組み入れてもよい。中枢神経系パラメータならびに野性型微生物病理と関係する器官に対する影響も含める。

申請する投与計画（§A.2 を参照）に留意した反復投与試験からは、単回投与試験以上の有意な影響が示される可能性がある。

G. 薬物動態

通常、薬物動態試験（例えば、抗原の血清中濃度を測定）は必要ない。個別に必要な試験を検討し、注射部位への滞留およびその後の分布を評価する局所沈着（deposition）試験；ワクチンの貯留（depot）特性を示しうる排出リンパ節（注射部位付近）の組織病理試験；および生ワクチンのウイルス排出などの検討を含めることができる。新製剤、新アジュバントの場合、または代替投与経路（例えば、経口または鼻腔内）を使用する意図のある場合は、分布試験を考慮すること。

H. 局所忍容性

ほとんどの場合、ワクチンは筋肉内、皮下または皮内注射されるので、局所忍容性を評価すべきである。臨床で使用される剤形を試験することが望ましい。場合によっては、製品の潜在的な局所作用を単回または反復毒性試験で評価することにより、別個に局所忍容性試験を行う

必要を回避することができる。

Q. 他の側面

1. 異常毒性否定試験はワクチンの品質管理の一部であるので、薬理-毒性開発プログラムに属さない。いくつかのワクチンについては、欧州薬局方では最終製品の異常毒性否定試験はもはや要求されない。
2. ワクチン（単独または複合のいずれか）は発熱性作用を引き起こす物質、例えば、リポ多糖体、エンドトキシンおよび糖蛋白質やテイコ酸など、を含有することがある。したがって、一般的に、バッチごとに各製品について発熱試験またはエンドトキシン試験を行って、潜在的な汚染の検出や許容できるレベルを確認すべきである。

R. 添加剤（アジュバント／賦形剤／保存剤）

製剤化したワクチンでは、保存剤（非経口医薬品（parental medicinal products）に使用される物質）、賦形剤（安定剤などの不活性成分）および／またはアジュバント（免疫反応を増加することを目標とする物質）を免疫原性物質に加えることができる。保存剤の使用が適切な場合は、保存剤の安全性を文書化して、考察する。新保存剤を使用する場合は、安全性を裏付ける記録を提出し、新保存剤を新医薬品賦形剤として取り扱うこと。新添加剤の安全性は「模擬」ワクチン（すなわち、抗原を含まない、確立された製造工程に従った総ワクチン製剤）を使用することにより評価できる。新アジュバントについては、免疫-毒性作用（例えば、過敏性など）を評価することが特に推奨される。

特定の添加剤が既存のワクチンで重要な全身または局所反応を起こしたことがない場合であっても、他の抗原と共に用いたとき、同じ添加剤が重篤な副作用を引き起こす可能性は除外されない。添加剤は常にこうした物質に対する指針に適合しなければならない（EEC75/318、Part III、p.5）。

欧州薬局法に記載されているように、ワクチンは種々の化合物に吸着される可能性がある。吸着剤を含むワクチンで局所反応が生じるが、一般的に吸着剤を含有するワクチンの安全性は広範な前臨床および臨床使用で証明されている。認可ワクチンで構成されていないアジュバントの一部は、最近ではより効果的な免疫促進剤を開発する目的で前臨床試験で検討されてきた。こうした場合は、個別に適切な前臨床試験を開発するべきである。以下の点を考慮すること。

- 治験アジュバントに対する安全上の問題には、注射部位反応、熱、免疫媒介イベント（例えばアナフィラキシー）などの他の全身作用、催奇形性および遺伝毒性を含めるべきである。
- 添加剤／複合アジュバントの安全性プロファイルを評価するために前臨床試験を行うべきである。可能な場合には意図した添加剤／抗原の組み合わせを用いて、アジュバントのみまたはアジュバントを含まないワクチン製剤と比較することが推奨される。