

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

よびそれらの培養培地(1 mLに対して 10^7 個の細胞に相当)を接種する。ウイルスシードを試験する際は、マウスへの接種前にワクチンウイルスを中和する必要があるかもしれない。確実な試験を実施するために、ワクチンウイルスを中和する必要がある場合は、抗血清のソースおよびその試験結果への影響を考慮に入れる。通常、中和のために使用する抗血清は、ヒトやサルを起源にする、またはワクチンウイルスの作製で用いるものと同じタイプの細胞からでないことが望ましい。

b. 哺乳マウス

この試験は、コクサッキーウイルスの A 型と B 型(B 型は、細胞培養中でも検出可能)のような多くのヒトウイルス、およびポリオウイルス、エコーウイルス、アルファウイルス、ブニヤウイルス(フレボウイルスとナイロウイルスを含む)、アレナウイルス、フラビウイルス、狂犬病ウイルス、ヘルペスウイルス(単純ヘルペスウイルス等)などその他のピコルナウイルスを含む外来性病原体を検出する。また、多くのネズミの病原体も検出する。

試験済物質を、最低でも20匹の生後24時間未満の各哺乳マウスの腹腔内に0.1 mL および大脳内に0.01 mL 接種する。そのマウスを、最低でも14日間毎日観察する。試験後の最初の24時間以降に死亡した、あるいは病死したマウスを剖検し、巨視的観察によりウイルス感染の事実があるかどうか試験する。その後、追加した少なくとも5匹のマウスの腹腔内および大脳内に、適当な組織を接種し、各マウスを14日間毎日観察する。加えて、盲目継代(追加した少なくとも5匹のマウスの腹腔内および大脳内への接種による)は、本来の14日間の試験を生存した全てのマウスの乳化した組織の単一プール(皮膚と内蔵を除く)で行う。最初に接種したマウスの最低80%および続いて接種したマウスの各グループの最低80%が、健康な状態を維持し、観察機関を生存した場合、および試験を受けた物質の成分(すなわち該当する場合、ウイルスのワクチン株)であることが分かっている病原体以外の感染性病原体やその他のウイルス感染が、どのマウスにも見られなかった場合のみ、その物質を使用してよい。

細胞基質を評価するためにこの試験を使用する場合は、細胞の溶解産物およびそれらの培養培地(1 mLに対して 10^7 個の細胞に相当)を接種する。ウイルスシードを試験する際は、マウスへの接種前にワクチンウイルスを中和する必要があるかもしれない。確実な試験を、ワクチンウイルスに実施するために中和する必要がある場合は、前述のとおり、抗血清の原料およびその試験結果への影響を考慮に入れる。

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

c. モルモット

この試験は、ヒト結核菌およびパラミクソウイルス(センダイウイルスを含む)、レオウイルス、およびフィロウイルスなどの外来性ウイルスを検出する。

試験済物質を、最低でも5匹の体重 350~450 グラムの各モルモットの腹腔内に 5 mL および大脳内に 0.1 mL 接種し、最低でも 42 日間毎日観察する。試験後の最初の 24 時間以降に死亡した、あるいは病死したモルモットを剖検する。観察期間の終了時には、残りのすべてのモルモットを死亡させ、剖検を行う。最初に接種したモルモットの少なくとも 80%が、健康な状態を維持し、観察期間を生存した場合、ならびに試験を受けた物質の成分(すなわち該当する場合、ウイルスワクチン株)であることが分かっている病原体以外の感染性病原体やその他のウイルス感染が、どのモルモットにも見られなかった場合のみ、その物質を使用してよい。

細胞基質を評価するためにこの試験を使用する場合、細胞の溶解産物およびそれらの培養培地(1 mL に対し、 10^7 個の細胞に相当)を接種する。ウイルスシードまたは製品の回収の試験を行う際は、モルモットへの接種前にワクチンウイルスを中和する必要があるかもしれない。

培養や PCR などの *in vitro* での方法もまた、正当性が認められた場合はヒト結核菌の同定に使用してもよい。

e. ウサギ

この試験は、サルヘルペス B ウイルスを検出する。

試験済物質を、少なくとも5匹の体重 1500~2500 グラムの各ウサギの皮内の複数ヶ所に総量で 1.0 mL および皮下に 2.0 mL 接種する。そのウサギを、最低でも 30 日間毎日観察する。試験後の最初の 24 時間以降に死亡した、あるいは病死したウサギを剖検する。最初に接種したウサギの最低 80%が健康な状態を維持し、観察期間を生存した場合、ならびに試験を受けた物質の成分(すなわち該当する場合、ウイルスワクチン株)であることが分かっている病原体以外を接種した部位の傷害を含む感染性病原体やその他のウイルス感染が、どのウサギにも見られなかった場合のみ、その物質を使用してよい。

細胞基質を評価するためにこの試験を使用する場合、細胞の溶解産物およびそれらの培養培地(1 mL に対して、 10^7 個の細胞に相当)を接種する。ウイルス

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

シードを試験する際は、ウサギへの接種前にワクチンウイルスを中和する必要があるかもしれない。

正当性が認められた場合は、ヘルペス B ウイルスの代替試験を実施してもよい。

e. **有精鶏卵**

この試験は、次の外来性病原体を検出する：

- ・ 尿嚢経路によるもの：オルトミクソウイルス(インフルエンザウイルス)およびパラミクソウイルス(流行性耳下腺炎、麻疹、パラインフルエンザウイルス)、アルファウイルスおよびベシクロウイルス；および
- ・ 卵黄嚢経路によるもの：リケッチア、マイコプラズマおよび細菌に加えてヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ラプトウイルス。

最低でも100回分の容量に相当する、あるいは10 mL のいずれか多い検体量を、鶏卵試験で使用する。10～11 日目の少なくとも10 個の各有精卵に、尿嚢経路で0.5 mL を接種する。35℃で72 時間保温した後、尿膜腔液は、卵1 個につき0.5 mL 接種し、35℃で72 時間保温した10～11 日目の新鮮な各有精卵と同様の経路で回収、プール、および継代する。初期プールおよび継代したハーベストのいずれに対しても、モルモット、ヒト(O 型)およびトリの赤血球凝集性病原体が赤血球に存在していないかの試験を行う。すべての胚が正常であり、赤血球凝集性病原体が存在するエビデンスが認められない場合は、試験を受けた物質が試験を通過したことになる。

追加した6～7 日目の少なくとも10 個の有精卵の各卵に、卵黄嚢経路で0.5 mL 接種する。35℃で最低でも9 日間保温した後、卵黄嚢を回収およびプールする。0.5 mL の接種材料を使用し、35℃で最低でも9 日間保温した6～7 日目の新鮮有精卵の卵黄嚢と同様の経路で、卵黄嚢の10%懸濁液を継代する。初期試験および継代のいずれにおいても、すべての胚が正常である場合、その物質は試験を通過したことになる。

細胞基質を評価するためにこの試験を使用する場合、細胞の溶解産物およびそれらの培養培地(1 mL に対して、 10^7 個の細胞に相当)を接種する。ウイルスシードを試験する際は、動物への接種前にワクチンウイルスを中和する必要があるかもしれない。確実な試験を行うため、ワクチンウイルスを中和する必要がある

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

ある場合、中和に使用する抗血清は、ヒト、サルまたはトリ起源のものが望ましい。

f. 抗体産生試験

げっ歯類のウイルスに暴露する可能性がある場合は、種に適したモデル(ハムスター、ラットまたはマウスなどのげっ歯類ではしばしば、時にはニワトリ)で、抗体産生試験を実施する。後に特定の病原体に対する抗体試験を受ける特定病原体未感染(SPF)動物へ被験物質を接種する。ハムスター抗体産生(HAP)試験で検出される病原体には、リンパ急性脈絡髄膜炎(LCMV)、マウス肺炎ウイルス(PVM)、レオウイルス3型(Reo3)、センダイウイルスおよびシミアンウイルス5(SV5)などがある。ラット抗体産生(RAP)試験で検出される病原体には、ハンターウイルス、キルハムラットウイルス(KRV)、LCMV、マウスアデノウイルス、マウス脳脊髄炎ウイルス(サイラー、GDVII)、PVM、ラットコロナウイルス(RCV)、Reo3、唾液涙腺炎ウイルス(SDAV)、センダイウイルス、Toolan ウイルス(HI)などがある。マウス抗体産生(MAP)試験で検出される病原体には、エクトメリアウイルス、マウスロタウイルス(EDIM)、ハンターウイルス、LCMV、乳酸脱水素酵素ウイルス(LDM)、マウス微小ウイルス(MVM)、マウスアデノウイルス(MAV)、マウスサイトメガロウイルス(MCMV)、マウス脳脊髄炎(サイラー、GDVII)、マウス肝炎ウイルス(MHV)、PVM、ポリオーマウイルス、Reo3、センダイウイルス、胸腺ウイルス、および K ウイルス(ポリオーマウイルスに関連するマウス肺炎ウイルス)などがある。

LCMVに関する特異的な問題がある場合、*in vivo*でのLCMVの特異的試験が必要となるかもしれない。この*in vivo*試験は、非致死性LCMV株による干渉を感知するために行う生きている病原性LCMVによるMAP試験で行うマウスの大脳内接種に関与する。MAP試験中、LCMVの非病原性株に感染した動物は、この問題のある中でも生存するだろう。PCRなどの代替方法を使用する場合は、提案された試験に相当する感度を示すデータを作成する。

ワクチンウイルスが外来性ウイルス試験での*in vitro*培養アッセイを干渉するなどの特定の場合では、「ニワトリを用いた外来性病原体試験(参考文献14)」などの抗体試験もまた、有用であると思われる。

2. *In vitro*でのウイルス試験

a. 細胞培養安全性試験

細胞培養安全性試験では、細胞傷害性ウイルス、血球吸着ウイルスおよび血

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

球凝集性ウイルスなど様々な外来性ウイルスを検出することができる。上記試験に適切な細胞、および下記を含む物質に暴露する可能性がある細胞を選択する:

- ・ 同種の単層培養および作製で用いる組織のタイプ;
- ・ ヒト二倍体細胞の単層培養;および
- ・ サル腎細胞の単層培養。

ヒト二倍体細胞およびサル腎細胞は一般的に使用されており、しばしば以下に挙げるウイルスの多くに感染する感受性を有している。その他のウイルスの増殖を感知するため、特殊な細胞培養試験が必要となるかもしれない。

i. ヒト二倍体細胞

ヒトウイルス:ヘルペスウイルス(単純ヘルペスウイルス、水痘帯状疱疹ウイルスおよびサイトメガロウイルス)、アデノウイルス、コロナウイルス、レオウイルス、アルファウイルス、風疹、フラビウイルス、狂犬病、エンテロウイルス、A型肝炎の特定株、ポリオウイルス、コクサッキーBウイルス、エコーウイルス、ライノウイルス、オルソミクソウイルス、およびパラミクソウイルス、および

シミアンウイルス:SCMV(サルサイトメガロウイルス)

ii. サル腎細胞

ヒトウイルス:エンテロウイルス、コクサッキーBウイルス、エコーウイルス、オルソミクソウイルス、パラミクソウイルス、単純ヘルペスウイルス、ポリオーマウイルス、ロタウイルス、アルファウイルス、風疹、フラビウイルス、狂犬病ウイルス、ベシクロウイルス、フィロウイルス、インフルエンザウイルス、ブニヤウイルス(フレボウイルスおよびナイロウイルスを含む)、アレナウイルス、およびレオウイルス、ポリオウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス(一部の株)。

シミアンウイルス:ヘルペスBウイルス

方法:

少なくとも3タイプの細胞(適切な細胞タイプについては、前述を参照)の単層培養に対して適当な量を接種する。検体をできるだけ希釈する。最低でも二週間、細胞培養を観察する。二週間の観察後、上清および溶解産物を、新鮮細胞へと

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

継代培養し、最低でもさらに二週間観察する。最初の検体または培養期間の毒性作用は弱まるが、ウイルス誘発性 CPE は増強されるため、この新鮮細胞への継代培養は、非特異的 CPE とウイルス誘発性 CPE を識別するのに有用である。ヒトまたはサルサイトメガロウイルスによる汚染の可能性が懸念されている場合は、比較的短い培養期間での感度が同等でなければ、第一セットの細胞培養を最低でも四週間観察する。外来性病原体のエビデンスがなく、観察期間終了時に、最低でも細胞の 80% が観察可能である場合のみ、試験結果が良好であると見なす。

試験量は、合計の培養物や単位サイズおよび1回分のワクチンを作製するのに必要な細胞数に基づいて決定する。通常、 10^7 個の細胞または細胞基質の試験時の細胞数に相当する細胞溶解産物を使用する。細胞や細胞溶解産物を直接的に試験できない時は、対応する量の細胞培養上清で試験する。従来、500 回分の用量または 50 mL の中和したワクチンハーベスト、プールまたはバルク（これらのいずれかでウイルスが多いもの）は、各インジケータ細胞培養への接種材料として使用されていた。ある環境下で、ワクチン株の中和が困難な場合は、比較的少量で試験する。ウイルスシードの試験時にもまた、インジケータ細胞への接種前にワクチン株を中和する必要があるかもしれない。

細胞障害作用を進展させるなどの様々な方法で、細胞培養試におけるウイルス複製を評価してもよい。製品に適切である場合は、観察期間終了時の血球吸着試験または血球凝集試験を実施することにより、非細胞障害性ウイルスの検出が容易となる。血球吸着が、赤血球(RBC)と結合する感染細胞が有する能力に関するものである一方、血球凝集は、RBC を凝集する感染細胞の上清が有する能力に関するものである。通常、血球吸着性ウイルスおよび血球凝集性ウイルスの試験は、モルモット、ニワトリおよびヒトの O 型赤血球を用いて、観察期間終了時に実施される。この O 型赤血球は、単独の細胞培養物の様々な部分、または 2~8°C で 30 分間維持した上清のアリコートに添加され、血球吸着および血球凝集をそれぞれ観察する。血球吸着/血球凝集の観察後、室温で 30 分間維持した RBC を培養した後に行う。特定の呼吸器ウイルスの検出に、アカゲザルの赤血球がしばしば使用されている。

製造終了時に、作製に使用する細胞または対照細胞培養物に対して、血球吸着性ウイルスおよび血球凝集性ウイルスの試験もまた、直接的に実施されるかもしれない。従来、対照血管の 3 分の 1 の内、4 分の 1 に、血球吸着性ウイルスの試験が行われていた。

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

b. 透過型電子顕微鏡(TEM)

TEMは、内在性レトロウイルスからの細胞基質を含む細胞基質におけるウイルス粒子を検出する。ある環境下では、内在性あるいは潜伏性のウイルスの作製を活発にする化学物質あるいは誘発物質による細胞の前処理に適当であるかもしれない(参考文献15)。TEMの感度は極めて低いが、多くのタイプの外来性病原体を検出することが可能な一般的なアッセイである。TEMは、ウイルスクリアランスのバリデーションを支持するウイルス粒子濃度の評価にも使用することができる。方法には、ネガティブ染色および薄切片などがある。これら方法については、Bierleyらも論じている(参考文献16)。

c. レトロウイルスの生化学試験

レトロウイルスを検出するため、逆トランスクリプターゼ(RT)アッセイによるレトロウイルス試験を無細胞培養培地に対して実施する。すべてのレトロウイルスはコード化され、RTを含んでいるため、RTアッセイにより、あらゆるレトロウイルスを検出することが可能である。高感度なPCRに基づいたRT(PBRT)アッセイを用いて、哺乳類の細胞基質(または哺乳類由来物質を使用あるいは含む)内で作製されるすべてのウイルスワクチンの細胞基質、ウイルスシード、および/またはハーベストを試験する。従来のRTアッセイの使用を計画している場合は、比較的感度が低いアッセイを使用する正当性を強く示すことが望ましい。

製品、特にマンガン依存性およびマグネシウム依存性のレトロウイルス逆トランスクリプターゼ(RT)アッセイ、そのアッセイの特異度および再現性での検出下限に関連するPBRTの性能をバリデートする。検出下限は、既刊文献(参考文献17)と同等であることが望ましい。アッセイの結果が陽性であった場合、その陽性結果のソースが、感染性レトロウイルスであるのかどうかを立証する感染性試験を行う必要があるかもしれない。要請があれば、生物製品評価研究センター(CBER)は、感染性の研究に関する詳細を提供する。

PBRTを実施する製造段階は、製品の製造工程によって異なる。例えば、初代細胞から作製した製品では、ロット毎の評価が必要となる。対照細胞培養物を作製した細胞と同時に調製する場合(第Ⅱ節のB.4)、対照細胞培養物からの無細胞培地に対してPBRT試験を行う。通常、確立したPBRT試験済細胞バンクおよびPBRT試験済ウイルスシードで作製した製品には、ロット毎の試験は必要ない。

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

外来性感染性レトロウイルス(ニワトリ胚性線維芽細胞、ニワトリ胚性皮膚細胞、および卵子など一部のトリ細胞基質など)に相当しないRTの活動が、一部の製品および試薬にはあることを CBER は認識している。RTの活動を有するトリ細胞に対して、主要トリレトロウイルスの存在を否定する試験を実施する。主要なトリレトロウイルスには、トリ白血病ウイルス(ALV)、トリサルコーマウイルスおよび細網内皮症ウイルスなどの外因性レトロウイルスならびにRAV-0 などの感染性内在性レトロウイルスなどがある。この試験を細胞基質に直接的に行ってもよい。これらウイルスの存在を確実に否定するため、特定病原体未感染群の健康状態を慎重に記録することが適切な場合もある。要請により、CBER はその詳細を提供することが可能である。

d. レトロウイルスの感染性試験

非マウスレトロウイルスでは、(種々のタイプのレトロウイルスに対する感受性により選択した)適当なインジケータ細胞の感染性を試験する。前述の試験ストラテジーを個々に応じて決定し、実施前にCBERと相談するとよい。*Mus dunni* 細胞またはその他の高感受性細胞による感染性および/またはS*Kアッセイにおける感染性でのマウスレトロウイルスによって、潜在的に汚染したげっ歯類の細胞基質およびウイルスシードを試験する(参考文献 18)。S*Kアッセイは、ネコ PG4 細胞(両栄養性ウイルスを検出するため)、ミンク細胞(異種栄養性ウイルスを検出するため)、またはマウスD56 細胞(エコトロピックウイルスを検出するため)で行ってもよい。これらアッセイで培養したウイルスを検出するため、広範囲に反応するモノクローナル抗体を使用してもよい。ALV(参考文献19)およびその他のトリレトロウイルスを検出可能な感染性試験には、トリを起源にした細胞基質を使用する場合がある。感染性試験を、感度が良好なRTアッセイで補強してもよい。例えば、ある環境下で、造腫瘍能を有する細胞基質の使用が提案されている場合、内在性あるいは潜伏性のウイルスの活性化や複製を誘発することが分かっている化学物質による細胞の前処理に使用する。

e. PCR またはその他の特異的 in vitro 試験

培養中のウイルスをすぐに増殖させることができない場合は、PCR が細胞基質の上記のようなウイルスによる汚染を評価するための最も有効的なツールであるかもしれない。PCR の特異度により、単一のより総合的な生物学的アッセイにより検出可能なあらゆる種類のウイルスを検出するため、複数の PCR アッセイを行う必要がある場合がある。どの試験が適切であるかの判定で得た細胞系から、ドナーの組織のソースおよび医療記録について検討する。検討するヒト病原体に関する特異的 PCR 試験には、A 型、B 型および C 型の肝炎ウイルス、エンテ

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

ロウウイルス、ヒト HIV-1, HIV-2, HTLV-2、サーコウイルス、パルボウイルス B19、パピローマウイルス、ヒトポリオーマウイルス、ヒトアデノウイルス、エプスタインバーウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、およびヒトヘルペスウイルス6、7、8のアッセイが含まれる。ヒトに感染する可能性があるシミアンウイルスの特異的試験には、サルポリオーマウイルス(SV40 など)、サル泡沫状ウイルス(SFV)、サル免疫不全ウイルス(SIV)、サルレトロウイルス(SRV)、サル Tリンパ球向性ウイルス(STLV)などがある。また、これらアッセイの感度が製品の安全性を十分に保証するものであれば、変質したプライマーあるいはコンセンサスプライマーを用いて個々の病原体を検出する PCR アッセイの使用も考慮に入れるとよい。

感度はあまり高くないが、一部のウイルスによる汚染を評価するため、細胞基質または組織培養物から抽出した DNA のサザンブロットハイブリダイゼーション分析の使用を検討してもよい。組織培養試験で、非細胞障害性病原体を検出するために、PCR またはサザンハイブリダイゼーションのいずれかを使用してもよい。

f. ウシ由来材料のソーシングと試験

ウシ海綿状脳症(BSE)による汚染のリスクを最小限に抑える方法で、ウシ由来の試薬をソーシングする。詳細については、CBER に相談することを推奨する。9 CFR 113.53 および 113.47 で推奨する細胞培養物および蛍光抗体と少なくとも同等の感度を有するアッセイにより、ウシ由来の試薬を試験するように勧告している。ペロ細胞およびウシの鼻甲介細胞などのウシ細胞培養物の使用を推奨している。ウシ原料で懸念される病原体には、ウシパラインフルエンザ3型、感染性ウシ鼻気管炎ウイルス、狂犬病ウイルス、レオウイルス、ウシアデノウイルス、ウシ RS ウイルス、ウシパルボウイルス、ブルータングウイルス、およびウシウイルス下痢ウイルス(非細胞障害性株を含む)などがある。

我々は、サーコウイルス、ウシヘルペスウイルス、ウシポリオーマウイルス、ブニヤウイルスおよびウシレトロウイルス(ウシ免疫不全ウイルスならびにウシ白血病ウイルスなど)を含む細胞基質や試薬の暴露歴およびその起源となる種に応じて、その他のウシ材料の潜在的汚染を試験するように要請することがある。細胞培養物において、これら病原体の一部が検出されると、別の試験がさらに要求されるかもしれない。

g. ブタ由来の試薬に対する試験

動物での使用を意図する製品におけるブタ外来性ウイルスに関して要求され

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

る試験(9 CFR 113.47)は、ヒトでの使用を意図する製品での最小限の勧告を意味するものである。9 CFR 113.47(b)(1)および(6)で記載するブタ細胞で懸念される病原体には、ブタパルボウイルス、ウシウイルス性下痢ウイルス(BVDV)、レオウイルス、狂犬病、ブタアデノウイルス、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス(TGE)、および血球凝集性脳炎ウイルスなどがある。最低でも、ブタパルボウイルスのブタトリプシンを試験することが望ましい。

細胞基質または試薬の暴露履歴およびその起源となる種にもよるが、問題となるその他のブタ病原体には、サーコウイルス、エンテロウイルス、ブタ繁殖呼吸障害症候群(PRRS)、ブタサイトメガロウイルス、ブタインフルエンザウイルス、仮性狂犬病ウイルス、豚痘ウイルス、ブタコレラウイルス(hog cholera virus, African)、水疱性口内炎ウイルス(VSV)20)、ニパーウイルス、およびブタレトロウイルスを含む。

3. 非ウイルス病原体に対する *in vitro* 試験

a. マイコプラズマ

細胞基質(および類似製品)で作製したすべての認可ウイルスワクチンに対して、マイコプラズマによる汚染を否定する試験を行うことが望ましい。上記製品の多くで、ウイルスシードおよび/またはマスターセルバンク、細胞基質、および製品の作製で使用する各ワーキングセルストックの典型的部分に対する試験が行われている。この製造工程の段階で試験を実施できる場合は、浄化、精製、および不活化などのプロセッシングをさらに行う前に、ハーベストを濃縮した製品の各ロットを試験することが望ましい。*in vitro* での生きている細胞の培養で作製したウイルスワクチンに関しては、21 CFR 610.30に基づいて、生ウイルスワクチンには浄化あるいは精製の前に、および不活化ウイルスワクチンには不活化する前に、回収したウイルスのプールを個々に試験しなければならない。試験前のハーベストを濃縮した製品の検体は、保存時間が24時間以内の場合は2~8度で、あるいは24時間以上の場合は-20℃以下で保存しなければならない。24時間以上保存する場合は、マイコプラズマがより回復できるようにするため、-60℃以下で検体を保存することを推奨している。

21 CFR 610.30 で述べたマイコプラズマ試験では、寒天およびブイヨンの培地での培養手順が規定されているが、現在では、マイコプラズマ、特に *Mycoplasma hyorhinis* の一部の選好性株は、寒天およびブイヨンの培地における手順では検出されない可能性があるため、上記のような株を検出するためにはインジケーター細胞による培養手順も含めた方がよいことが分かっている。

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

我々は、21 CFR 610.30に記載した方法の代わりに使用可能な後述の試験を検討している。しかしながら、企業もこれを追求し、21 CFR の第 610.9(b)節に適合するこれら修正に関する承認を得なければならない。マイコプラズマ試験に関する詳細は、入手可能である(参考文献21)。

別の寒天とブイオンの培地を用いたマイコプラズマ試験およびインジケーター細胞培養手順

・ 寒天とブイオンの培地での手順

(1)各ロットの寒天とブイオンの培地には、ペニシリン以外の抗生物質が含まれてはならず、培地の各ロットは、マイコプラズマの増殖を促進させる特性の試験を行うことが望ましい。既知のマイコプラズマによる汚染を検出する培地が有する能力を実証するためには、陽性対照として後述の(3)(i)で規定したマイコプラズマ培養物を使用する。

(2)(i)一つ培地形成した二つ以上の寒天プレートの表面に同量を均等に分配し、0.2 mL 以上の検体(回収した製品を濃縮したサンプルなど)を接種する。

(ii)36±1°Cで培養したブイオン培地が50 ml 入ったフラスコに、回収した製品を濃縮したサンプルを10 mL 以上接種する。

(iii)培養後3日目、7日目、および14日目の0.2 mL のブイオン培養を、(i)で使したものと同様に培地形成した二つ以上の寒天プレートで継代培養して試験する。

(iv)試験培養期間中は、窒素中の二酸化炭素が5~10%および/あるいは酸素が0.5%未満の水素雰囲気において、二つの初代単離プレートと三つの継代培養プレートの内の二つのプレートにそれぞれ接種する。

(v)すべての培養寒天プレートを、36±1°Cで14日間以上培養し、倍率が100倍以上の顕微鏡で、マイコプラズマコロニーの増殖を観察する。

(3)(i)各試験では、少なくとも二つ以上のマイコプラズマの種や株を陽性対照とし、その内の一つはブドウ糖の発酵槽(すなわち、*M. pneumoniae* strain FH またはそれに相当する種や株)に、およびもう一つはアルギニン加水分解酵素(すなわち、*M. orale* strain CH19299 またはそれに相当する種や株)にすることが望ましい。陽性対照培養は、単離から15回以上の継代を行わず、100以下のコロニー形成

Guidance for Industry
**Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases**

ユニット(CFU)または色変換ユニット(CCU)の標準的な接種で使用する。

(ii)陰性対照として、非接種寒天培地を含める。

(4)結果の解釈に基づいて本節で詳述した規定に基づく手順結果を解釈する。

・インジケーター細胞の培養手順

(1) ペロ細胞の培養基質を使用し、既知の選好性マイコプラズマによる汚染を検知する細胞基質が有する能力を実証するため、陽性対照として下記の(3)(i)で定めるマイコプラズマ培養物を使用して、手順の予備試験を行う。データが、既知のマイコプラズマによる汚染を検知する感度と少なくとも同等であることを証明している場合、それに相当するインジケーター細胞基質は、条件を満たすものであると思われる。

(2)(i)ディッシュまたはそれに相当する容器のカバーガラス上で培養した二つ以上のインジケーター細胞の培養物に対し、1 mL 以上の検体(回収物を濃縮した製品のサンプルなど)に接種する。

(ii)5%の二酸化炭素雰囲気において、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ で3~5日間、その細胞培養物を培養する。ビスベンズイミダゾールまたはそれに相当する染色液などのDNA結合性蛍光色素を用いた落射蛍光顕微鏡により、細胞培養物にマイコプラズマが存在しているか試験する。

(3)(i)各試験には、二つの既知のマイコプラズマの種または株(すなわち、*M. hyorhinis* strain DBS 1050、*M. orale* strain CH19299、またはそれに相当する種および株)を陽性対照として入れ、100以下のCFUまたはCCUを接種する。

(ii)陰性対照として、感染していないインジケーター細胞培養を入れる。

(4)結果の解釈について、本節で詳述した規格に基づく手順結果を判読する。

・結果の解釈

(1)寒天およびブイヨンの培地での手順に関しては、陽性対照および陰性対照の外観と製品を接種した培地の外観とを比較観察する。

(2)インジケーター細胞培養手順に関しては、倍率が600倍以上の顕微鏡で、陽

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

性対照および陰性対照の外観と製品を接種した培養物の外観とを比較観察する。

(3)結果の解釈に影響するワクチンウイルスへの感染が原因となる著明な細胞変性効果または核クロマチンの断片化は、特異的なウイルス中和用抗血清あるいは感染に対し許容状態でない細胞培養基質を使用することによって最小限に抑えることができる。陽性および陰性の対照へ、抗血清も加える。

(4)寒天および/またはブイヨンの培地での手順ならびにインジケータ細胞培養手順の両方で、マイコプラズマ汚染(すなわち増殖が見られない)のエビデンスが見られないため、その製品が寒天、ブイヨンおよびインジケータ細胞に対する手順での陰性対照と類似している場合、製造業者にとって十分な製品であると見なされる。

PCRに基づくアッセイを用いたマイコプラズマ試験

上記アッセイによる寒天およびブイヨンの培地での手順とインジケータ細胞培養手順の比較が可能であることが分かっている場合は、マイコプラズマを検出するために、PCR に基づくアッセイを使用してもよい。一部で、完全にワクチンウイルスを中和できないため、培養に基づく手順を使用できない場合がある。したがって、これら製品においては、マイコプラズマを試験する PCR に基づくアッセイの使用が必要となる。

b. 細菌および真菌の滅菌

21 CFR 610.12 に記述した、または 21 CFR 610.9 の要求事項を満たす同等の方法で、細菌および真菌の滅菌に関する試験を実施しなければならない。

c. マイコバクテリア試験

最も濃縮されたフォームで培養濾液を試験するため、次項で述べるマイコバクテリアを検出するための培養方法を使用することが望ましい。前述したモルモット試験もまた、マイコバクテリアの検出に使用されている。PCR アッセイをなどの別の試験を用いる場合は、マイコバクテリアの有無に関する試験が、十分な感度を有していることを示すことが望ましい。

2.0 mL の濾過されたサンプルを、レーヴェンシュタインーヤンセン卵培地あるいは同等に培養を支持することが立証されているその他の培地に接種する。適切な陽性対照試験を、試験下にあるサンプルにより同時に実施し、その試験で

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

少数のマイコバクテリアの増殖を支持する能力があることが分かることが望ましい。培地を乾燥から護る条件で、すべての試験容器を適温で6週間培養し、その後マイコバクテリアのコロニーのエビデンスに関して培養物を試験する。試験でマイコバクテリアのエビデンスが見られなかった場合、その濾液は使用条件を満たしている。

B. 細胞特性試験

1. 造腫瘍能試験

造腫瘍能は、動物(通常、同系宿主、免疫抑制同種宿主または免疫抑制異種宿主)へ接種した際の、細胞の腫瘍を形成するプロセスとして定義される(第VI節の用語解説を参照)。造腫瘍能は、細胞内の病原体や成分というよりむしろ不死化細胞自体がもつ特性である。

主に造腫瘍能を有する細胞内の成分が、ワクチンのレシピエントにおける腫瘍を誘発するという理論的問題により、造腫瘍能を有する細胞は、予防ウイルスワクチンの作製には従来から使用されていない。これら問題には、発癌性ウイルスなどの外来性病原体が存在する可能性、および内在性ウイルスや発癌性をもつ核酸など内在する成分による潜在的リスクが含まれる。さらに、ヒト腫瘍に由来する無傷のヒト細胞でも、同種異系のヒトにおける腫瘍形成が見られる。

造腫瘍能試験の目標は、動物へ接種後の細胞基質に、腫瘍を形成する能力があるのかどうかを判定することである。TPD₅₀(動物の50%で腫瘍を形成する用量)および転移能は、細胞系がもつ特性であり、これら特性は、細胞系の造腫瘍能がある表現型をさらに同定するために使用されるかもしれない。造腫瘍能試験に関連する問題には、1)適当な動物モデルの選択;2)陽性結果の定義;3)適当な試験期間の決定;4)試験するために適当な細胞数の決定;および5)適当な対照の選択などがある。

造腫瘍能を有する細胞による腫瘍形成に感受性があることが分かっている動物モデルを使用する。免疫不全の成体および新生児のげっ歯類は、造腫瘍能をもつ表現型を示す感度が比較的高いため、これら動物モデルを検討するとよい。したがって、ヌードマウス(nu/nu)は、T細胞を欠失しているため、造腫瘍能試験で最も一般的に使用されている動物である。新生児ヌードマウスは、成体ヌードマウスよりも腫瘍形成に対する感受性が高いため、弱い腫瘍形成をもつ表現型の同定が重要となる際は、新生児ヌードマウスの使用が最適であることが示唆されている。ヌードマウスモデルに相当する感度を有している場合は、他の動物モデルを使用してもよい。

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

使用する試験システムに関係なく、一定かつ高頻度の間隔で、その動物の注射部位の結節形成を観察および触診する。形成されたすべての結節を、二次元的に計測する。FDA は、注射部位にある進行性の腫瘍形成を陽性結果と見なす。同様に、遠隔部位の腫瘍の原因となる可能性がある一部の細胞型(参考文献22)も報告する。観察期間中に結節が縮小を始めた動物は、自発的に縮小する結節では、腫瘍の進行性の成長が見られず、造腫瘍能をもつ表現型を示すものではないため殺傷しない。腫瘍が動物に苦痛を与える場合は、すべての腫瘍を伴う動物を試験前に安楽死させてもよい。

観察期間終了時の動物、あるいは死亡したもしくは安楽死させた動物を、それぞれ剖検する。剖検には、接種部位およびリンパ節、肺、脳、脾臓、腎臓ならびに肝臓などその他の臓器で見られる顕著な腫瘍形成のエビデンスの調査を含む。すべての腫瘍様病変、検知可能な所属リンパ節、接種部位、および肺を、組織学的に調べる。一部では、自然発生腫瘍関連細胞基質を識別する分子的または免疫学的方法を、企業が使用する必要があるかもしれない。

各動物に対する接種材料は、皮下投与される 0.2 mL(新生児の動物には 0.1 mL)の無血清培地において懸濁した 10^7 個の対照細胞または試験細胞からなる。少なくとも 10 匹の動物に、作製終了時の継代レベル以上での 10^7 個の試験細胞からなる各接種材料を接種し、少なくとも 10 匹の動物に、陽性対照腫瘍細胞を接種する。陽性対照細胞(ヒーラ細胞またはそれに相当する造腫瘍能を有する他の細胞など)を注射された 10 匹以上の動物うち少なくとも 9 匹には、試験の妥当性を示すため、進行増殖する腫瘍が見られることが望ましい。

適当な試験期間の選択には、より長期間の試験を使用して得たさらに高い感度と自発的な腫瘍形成により偽陽性結果が出る可能性とのバランスを維持することが要求される。弱い造腫瘍能の試験では、ヌードマウスにおいて腫瘍が形成されるには 4~7 ヶ月要する可能性がある。したがって、一部の場所で観察期間を延長する必要があるかもしれない。CBER は、企業に造腫瘍能試験とその適当な観察期間に関する詳細な情報を提供することができる。

2. 発癌性試験

発癌性は、細胞を不死化させ、腫瘍を形成する能力を細胞に与える病原体によるプロセスであると定義される(第VI節の用語解説を参照)。細胞基質が、製品を汚染する可能性がある潜在的な発癌性成分を含んでいないことを保証することが重要である。腫瘍由来あるいは未知のメカニズムによる造腫瘍能の表現

型で生じた細胞基質で、ワクチンが作製されている場合、そのワクチンには発癌性物質など理論上高いリスクがあるかもしれない。

細胞表現型や細胞基質の起源から発癌性ウイルスの存在が疑われる場合、細胞基質の溶解産物を使用して、動物での発癌性試験を実施するのが適切かもしれない。造腫瘍能の表現型を有する細胞基質に関しては、残存する DNA が発癌性でないことを保証するため、細胞基質からの DNA を使用した動物での発癌性試験を行うと場合がある。また、大量に残存する細胞の DNA を有する製品でも、発癌性試験は適切であると思われる。特定の細胞基質における発癌性病原体の有無を調べる既存のアッセイは、臨床使用におけるワクチンの安全性を十分に保証するものではない可能性がある。これら試験の必要性および行うべき方法について疑問がある場合は、CBER と相談する。

3. 細胞基質の同一性試験

同一性試験は、実験所の管理に関する一般要求事項(21 CFR 211.160(b))および生物製品の一般規格(21 CFR 610.18(b))で要求される。同一性試験は、認可ウイルスワクチンが製造業者の表示通りのものであることを保証し、複数の細胞系またはウイルスを増殖させている設備または実験所において特別に保証するものである。製造中に使用および作製される細胞に対して、同一性試験を実施することが重要である。同一性試験で使用してもよい試験の一部を、後の項で述べる。

PAGE 分析などの生化学試験は、細胞基質の由来となる種を断定するための方法の一つである。他に、細胞の酵素であるリンゴ酸デヒドロゲナーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヌクレオシドホスホリラーゼ、および乳酸デヒドロゲナーゼの遊走パターンを比較する方法がある(参考文献23)。

種、性、倍数性および明白な遺伝的安定性を特定する手法として、細胞基質の核型を断定するために細胞遺伝学的分析を使用することができる。100~200個の分裂中期の細胞を試験する。しかしながら、製品の核型の不均一性に応じて、さらに多くの細胞に対する試験を行った方がよいかもしれない。

DNA フィンガープリンティングは、遺伝学的な同一性試験として最も一般的に使用されており、細胞起源の記録および細胞汚染が起きているか否かの判定に用いられている(参考文献24)。これを目的とした特異的方法については、Stacey らによる文献から入手可能である(参考文献25)。

サザンプロットハイブリダイゼーション、PCR、選択した条件下での増殖、レポーター遺伝子またはその他の重要な遺伝子の発現などの試験は、親細胞系および別の細胞系の両方と作製した細胞系を識別するために適用してもよい。その例を、Stacey らによる文献で入手することができる(参考文献26)。また、HLA タイピングなど細胞の同一性に関する情報を提供するその他の試験も使用してもよい。

4. 遺伝的安定性試験

製造の一貫性を保証するプロセスおよび管理を確立する。このコンセプトは、作製終了時および恐らく作製終了時以降のマスターセルバンクの構築から細胞基質の遺伝的安定性までを範囲にするものである。作製した細胞系に関しては、挿入した重要遺伝子を損傷のない同じコピー数で維持し、製造を通して同等レベルの発現がなされていることが望ましい。また、二倍体細胞株も、製造中常に二倍体を維持する。上記の特性が安定的でない場合、その不安定性が、製造または製品の一貫性に有害な影響を与えていないことを示唆するように要求されるかもしれない。当該事項に関する詳細なガイダンスは、ICH Q2B 文書で入手してもよい(参考文献7)。細胞基質の遺伝的安定性を評価する方法に関しては、ICH Q5B および Q5D(参考文献の27と3をそれぞれ参照)の文書におけるガイダンスから入手してもよい。

C. その他の試験

1. 残存細胞の有無に関する試験

最終ワクチン製品に残存細胞が存在しているかの試験を実施する。濾過などのプロセスを実施し、最終製品における無傷細胞の不在を保証するため、そのプロセスのバリデーションを行う。残存細胞の除去プロセスがしっかりとしたバリデーションが、不死化細胞で重要となる。これらプロセスによる無傷細胞の除去度を定めることは、このバリデーションでの重要な部分である。

2. 残留細胞 DNA 試験

残留 DNA は、発癌性および/または感染性を有している可能性のため、最終製品に対するリスクがあるかもしれない。発癌性を有している可能性がある残留 DNA による潜在的なメカニズムには、コードされた癌遺伝子の統合および発現、または DNA 統合後の挿入突然変異など複数ある。レトロウイルスのプロウイルス、統合された DNA ウイルスのコピー、または染色体外ゲノムが存在する場合は、残留 DNA もウイルス感染能を持つ可能性がある。

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

発癌性のリスクおよび細胞基質の DNA の感染性は、その生物活性を低下することにより減少することができる。これは、残留 DNA 量の低減および DNA のサイズを機能遺伝子のサイズ以下に縮小する(DNAse 処理やその他の方法など)ことにより可能である。化学的不活化により、DNA のサイズも生物活性も低減することができる。DNA の除去、分解または不活化を行う場合は、その方法をバリデートする。

最終製品における残留 DNA の量およびサイズ分布を計測する。MRC-5 および WI-38 など幅広く使用されているヒト二倍体細胞株に関しては、安全性の問題により、これらのヒト二倍体細胞からの残留 DNA を考慮に入れていないため、残留 DNA の計測は不要であるかもしれない。我々は、経験の乏しいヒト二倍体細胞あるいは初代細胞の型に関して、DNA に関連する潜在的リスクに応じて、残留 DNA の量を制限するよう要求するかもしれない。WHO が勧告するように、継代数が少ないペロ細胞のような造腫瘍能を持たない連続細胞での残留 DNA を、非経口投与では 10 ng/dose 以下に制限することが望ましい(参考文献28)。造腫瘍能の表現型を有する細胞、あるいは特有の問題が生じる別の特性を有する細胞を使用する場合は、製品の安全性を確保するため、残留 DNA の量に対してさらに厳しい制限を与える必要があるかもしれない。

3. 総括的安全性試験(GST)

GST の要求事項を、21 CFR 610.11 に示す。ワクチンに関しては、21 CFR 610.11(g)(2)の規定するように、GST が免除される可能性がある。

V. 結語

本ガイドライン文書は、これらの製品を作製するために使用する細胞基質およびウイルスシードの選択、特性評価、ならびに適格性確認についての一般的助言をするものである。我々は、これが複雑かつ困難な分野であることを認識している。ウイルスワクチンをできるだけ早く開発できるようにするため、細胞基質および外来性病原体に関する問題について企業と協議する機会を望んでいる。

VI. 用語解説

別のガイダンス文書で、同一のまたは類似した用語を別の意味を持つものとして使用している可能性があるため、次の用語解説により、本文書において使用する用語を定義する。

1. 外来性病原体(ADVENTITIOUS AGENT): 生物製品である製品へふいに導入さ

Guidance for Industry
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials
Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

れた微生物(細菌、真菌、マイコプラズマ/スピロプラズマ、マイコバクテリア、リケッチア、ウイルス、プロトゾア、寄生虫、TSE 病原体など)。

2. 補助製品(ANCILLARY PRODUCT): 最終製品の一部となる可能性がある、または生物製品の製造もしくは作製において使用される製品。例えば、インスリン、トランスフェリン、増殖因子、インターフェロン、インターロイキン、その他のタンパク質、ジメチルスルホキシド様の薬剤または化学薬品などがある。
3. 異数体(ANEUPLOID): 半数体の倍数でない異常な染色体数を有すること。
4. 細胞バンク(CELL BANK): 単一の組織や細胞に由来するもので、適切な保存容器にアリコートされ、かつ気相式液体窒素など適切な状況で保存された一律に(クローンでは必ずではないが)構成した細胞のバイアル。
5. 細胞系(CELL LINE (CL)): 初代培養が樹立され、危機的状況と老化においても生存する、培養中の増殖細胞。上記生存細胞は不死化しており、老化しない。二倍体細胞株は、初代培養から樹立され、細胞バンクへと増殖するが、危機的状況をパスしておらず、不死化していない。[ATCC は、特定の細胞系を示すものとして、略語であるCCLを使用している。]
6. 特性評価(CHARACTERIZATION): 細胞基質あるいは細胞バンクの特性の判定。
7. 対照細胞(CONTROLL CELLS): ワクチンウイルス(一部の試験を干渉する可能性があるもの)に暴露していない細胞における品質管理試験を実施するため、同様の条件および同一の試薬(培養培地など)の使用下で、同時に作製培養物から分離し、保存した細胞。
8. 二倍体(DIPLIOD): 一つの種で期待される染色体数を有していること(すなわち、各常染色体および二本の性染色体の内の二本)。
9. 内在性ウイルス(ENDOGENOUS VIRUS): ゲノムが、遺伝により細胞基質内に統合された状態で存在するウイルス。内在性ウイルスの配列は、無傷あるいは感染性のウイルスをコード化している可能性がある、あるいはない。
10. 完成細胞(END-OF-PRODUCTION CELLS (EOPC)): 製造工程の終わりに回収さ

Guidance for Industry

Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases

れた細胞、またはMCBやWCBからの製造中に最高レベル以上になった、あるいはそれに匹敵する継代レベルや細胞集団倍加レベルまで培養した細胞。

11. 作製終了時の継代レベル(END-OF-PRODUCTION PASSAGE LEVEL): 製造中に最終ワクチン回収時で、達した最大継代レベル。このレベルまたはそれ以上のレベルで、細胞を評価してもよい。
12. 最終バルク(FINAL BULK): 個々のバイアル充填直後の、ワクチンの製造段階。
13. ～が存在しないおよび～がない(FREE OF and FREEDOM FROM): 汚染がないとされる物質に関して、明確なレベルの感度まで特定量の物質の汚染は陰性であることをアッセイにより証明しなければならない。アッセイの感度のレベルは、選択したアッセイにより定め、標準化された試薬を用いて実験的に決定することができる。代わりに、特定レベルまで汚染を除去することが分かっているバリデートされたプロセスにより、汚染がないことを証明してもよい。
14. 回収(HARVEST): 細胞培養中のワクチンウイルスの増殖終期に、その後調整されるワクチンから材料を採集する。この材料とは、培養上清、細胞自体(しばしば崩壊した状態で)、またはそれを組み合わせたものであってもよい。
15. 不死化(IMMORTALIZATION): 細胞(初代細胞、二倍体細胞株など)の寿命を有限から無限にするプロセス。
16. 潜伏性(LATENT): 活動的な複製のエビデンスは見られないが、再び活動する可能性がある細胞内に存在するウイルスが、細菌学的に潜伏していると考えられていること。
17. 製造業者のワーキングセルバンクまたはワーキングセルバンク(MANUFACTURER'S WORKING CELL BANK (MWCB) OR WORKING CELL BANK(WCB)): 特定の条件下でMCBからの細胞を増殖して採取し、ロット毎の基準で作製細胞培養を開始するために使用する細胞バンク。
18. マスターセルバンク(MASTER CELL BANK (MCB)): 後に採取するワクチンの作製に使用するすべての細胞バンクから入手される細胞基質のバンク。MCBとは、単一の組織や細胞に由来する特性評価を受けた細胞の採集を意味する。