

4.1.6. Efficacy of a GT medicinal product

With respect to declining GT medicinal product efficacy, plasmids, non-viral vectors, replication-incompetent viral vectors, replicating viruses and genetically modified cells may show a decline of transgene expression with time after administration. Also, the number of vector- or virus-harboring cells may decline with time. These factors may lead to a reduced GT medicinal product efficacy and hereby reduced clinical treatment efficacy requiring special attention or a need for reconsidering the treatment for the treated patients.

4.2. SYSTEM FOR THE DECISION ON INTENSITY AND DURATION OF CLINICAL FOLLOW-UP AFTER TREATMENT WITH GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS

Relevant non-clinical studies to evaluate the risk for delayed adverse reactions are described in the Guideline on the non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products (CHMP/GTWP/12549/06). These non-clinical studies are aimed to identify parameters of great importance for delineation of the safety profile of GT medicinal products. The design of non-clinical studies shall as much as possible be adapted to reflect the clinical settings with respect to the pharmacological response (including tissue specificity), formulation of product, route- and method of administration and the intended disease to be treated.

Non-clinical development shall include studies on biodistribution and vector persistence. Persistence is indicated if a sustained signal from vector sequences is obtained after the final administration of the product. However, the level of virus detection and its relevance for a clinical implication should be taken into consideration.

Relevant studies and their design for evaluation of delayed adverse risks associated with genetically modified cells are described in the guideline on human cell based products (EMA/410869/2006).

The design of toxicity studies should include an assessment for the detection of delayed toxicity. The duration of studies, if the treatment is transient, should at least reflect the persistence period of the vector/cell and the produced product.

When planning the risk assessment of GT medicinal products and the risk management plan for GT medicinal products, the risk stratification system described in Table 1 could be applied. It is recommended to consider each of the individual risk factor for the GT medicinal product in a clinical trial application or in a marketing authorisation application. Then it should be possible to design a risk stratification profile for the GT medicinal product.

Table 1 Risk factors of GT medicinal products to be considered and examples of potential clinical consequences

The documented risk factor (the below list being not exhaustive), and the likelihood of its clinical consequence and severity, will impact on the extent/duration/type of clinical follow-up, as follows:

1. Established or suspected risk known from non-clinical/clinical data – clinical long-term follow-up is needed
2. Scientific data do not indicate safety concern – clinical long-term follow-up is not needed

Risk factor	Examples of potential clinical consequence of the risk factor
Chromosomal integration of a vector / gene	Cancer due to vector integration
Capacity of a vector / gene for latency/ reactivation	Clinical effects of a chronic infection and unwanted therapeutic gene expression
Capacity of a vector for inadvertent replication after complementation by viruses causing escape from latency and reactivation and	Infection by a new virus entity and/or chronic infection and/or unwanted therapeutic gene expression and/or biodistribution to non-target tissues/ organs

eventually leading to mobilisation	
Persistence or characteristics of vector / gene	Clinical effect of chronic infection and/or long-term expression of the gene product
Persistence of a gene product	Clinical effect of long-term expression of the gene product
Un-intended biodistribution ^a	Clinical effect of expression of the product in an un-intended tissue or organ
Replication incompetence or competence of a vector	Clinical effect of chronic infection and/or long-term expression of the gene product
Potential for recombination or re-assortment	Cancer due to new gene combinations and/or infection by a new virus entity and/or chronic infection and/or unwanted therapeutic gene expression and/or biodistribution to non-target tissues/ organs
Altered expression of a host gene	Auto-immunogenicity or cancer

a. Take into consideration route and method of administration and target organ.

4.3. RECOMMENDATIONS FOR CLINICAL FOLLOW-UP AFTER TREATMENT WITH GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS

The clinical follow-up period is dependent on considerations such as the characteristics of GT medicinal products, the anticipated time for the occurrence of delayed adverse reactions, the clinical indication and expected life expectancy of the treated patients. The duration of clinical follow-up observations should be sufficient to observe the subjects for risks that may be due to the characteristics of the product, the nature and extent of the exposure, and the anticipated time of occurrence of delayed adverse reactions.

If additional information of importance for the extent and length of clinical follow-up is becoming available during a clinical trial or post-marketing, then the applicant should change the risk stratification and implement this in a revised follow-up plan.

Healthcare professionals conduct the clinical follow-up of individual patients in a clinical setting. It includes prevention, screening, monitoring, diagnosis and treatment of diseases, injuries, complications, adverse reactions and medical errors. To collect the appropriate data for detection of delayed adverse reactions, the clinical follow-up protocol needs to have very clear objectives, be hypothesis driven, and be based on appropriate risk assessment (consistent with the risk management plans as these need to be in place at the point of licensing).

Careful consideration should be given to the feasibility of long-term monitoring, the value it adds, and imposition on patients and clinicians.

Therefore, the clinical follow-up period should only be extended as long as feasible and clinically relevant.

The rules for routine pharmacovigilance (including immediate or periodic reporting) are described respectively in Volume 10 of the Rules governing medicinal products in the European Union, for GT investigational products and in Volume 9a for marketed GT products. In addition to the information required to be included in the Annual Safety Reports for GT investigational products or in the Periodic Safety Update Reports for marketed GT products, the following complementary information shall also be collected:

- Mortality

If patients die during the observation period, attempts should be made to obtain biopsy material to perform assay for replication competent retrovirus or other relevant part of the GT medical product and to ascertain the cause of death, if appropriate.

- Development of any new/recurrent cancer

The incidence and nature of malignancies reported from all sources should be monitored. Efforts should be made to perform investigation on samples. The investigation plan shall take the type of

vector and the properties of the gene expression product into consideration i.e. integration of genetic material from the vector in the host genome and expression of the gene product and its receptors in the tissue sample.

- Development of infection

The nature and incidence of opportunistic and serious infections in patients receiving gene therapy treatment should be monitored. Effort should be made to obtain complete information including concomitant medication(s), laboratory results, and the identification of infecting agents.

- Immunogenicity related reactions

Unwanted immunogenicity could be observed, for example, due to the persistent gene expression. The consequences of such immune reactions range from transient appearance of antibodies or cell mediated immunity without any clinical significance to severe life threatening conditions.

If it is clinically relevant antibody and cell mediated immunity testing shall be a part of the clinical trial and the observation period should be sufficient to detect a signal. If the antibody is a non-neutralising antibody, not targeting epitopes linked to the activity of the protein, and therefore without any impact on the efficacy of the GT medicinal product, then screening tests are not needed.

Immediate hypersensitivity reactions would be noticed in the clinical trial, however delayed reaction such as antibodies to the gene expression protein might occur.

Antibodies interfering with the activity of the gene vector or expression protein might lead to a lack of efficacy (in case it is desired to have continuous gene expression) and they can cross-react with the endogenous protein in cases where endogenous protein is still produced. In this case the consequence would be autoimmunity.

- Participation in other clinical studies

- Further safety endpoints e.g. neurological or cardiovascular could be of relevance determined by the nature of the disease to be treated and the target organ for the vector.

- Subsequent exposure to highly potent treatment e.g., radiotherapy, cytotoxic agents.

4.3.1 Viral vectors which can integrate or have the potential for latency followed by reactivation

It is recommended that patients enrolled in clinical GT medicinal product trials, where non-clinical tests or evidence from other clinical trials using identical vectors or modifications of vectors indicate a potential for integration or late re-activation have a monitoring plan with a brief clinical history and sample testing at the following time points: pre-treatment, 3, 6 and 12 months after treatment for at least 5 years, and then yearly until data indicate that there is no longer any risk to be followed. If any post-treatment samples are positive, indicating integration or re-activation, or clinical evaluation indicate a treatment induced side-effect/adverse event, then a more regular and extensive clinical follow-up should be undertaken.

The safety monitoring plan should include methods and analyses aimed at vector tracking and the evaluation of eventual consequences connected with the presence of the vector. The studies should be designed to cover aspects of the specific risk profile connected with the type of vector and heterologous gene.

In case all the samples are negative during the first year, the remaining samples can be archived. Retention samples from each time point have to be stored for five years, in order to allow further testing if a relevant adverse event appears during the follow-up period.

The method used to monitor persistence should be directed towards the detection of vector sequences (e.g. PCR). In special cases (if sampling does not allow for the detection of vector sequences) monitoring could be performed by detection of expressed product. It is recommended to use validated methods to analyse the sample.

If any post-treatment samples are positive, indicating integration or re-activation, or clinical evaluation indicate a treatment induced side effect/adverse event, then a more regular and extensive clinical follow-up should be undertaken.

4.3.2. *Viral vectors without integration, latency or reactivation potential*

Viral vectors without integration, latency and re-activation potential present a low risk for gene therapy-related delayed adverse reactions. However, if non-clinical or clinical data indicate persistence of the vector, or the vector product for a prolonged period, or they raise concerns about a risk of delayed adverse reactions, then follow-up observations should be extended to long-term risks monitoring.

If vectors with known potential for delayed adverse reactions are modified to reduce this risk and the effect is supported by data, then the need for performing long-term follow-up observations can be reassessed.

It is recommended that patients enrolled in clinical GT medical product trials with viral vectors without integration, latency and re-activation potential have a monitoring plan with a brief clinical history and sample testing at the following time points: pre-treatment, 3, 6 and 12 months after treatment, and then yearly thereafter for a minimum of 5 years.

If applicable, a safety-monitoring plan should be developed to cover the risk profile of this product as identified in non-clinical safety evaluations or from clinical experience with similar products types. If any post-treatment samples are positive or clinical evaluation indicate a treatment induced side-effect/adverse event, then a more regular and extensive clinical follow-up should be undertaken.

Dependent on the vector used and the known risk of delayed adverse reactions, the yearly clinical follow-up could be arranged as a visit with a healthcare professional or as a questionnaire forwarded to the patients.

4.3.3 *Plasmids and non-viral vectors*

Clinical gene therapy trials using plasmids are considered to present a lower risk. However, if they have a prolonged expression of the gene or have been modified and non-clinical tests indicate an increased integration capacity, then a prolonged follow-up observation period for adverse reactions should be performed.

It is recommended that patients enrolled in clinical GT medical product trials with plasmid have a monitoring plan with a brief clinical history and sample testing at the following time points: pre-treatment, 3, 6 and 12 months after treatment, and then yearly thereafter for a total of 5 years.

If any post-treatment samples are positive or clinical evaluation indicates a treatment induced adverse reaction, then a more regular and extensive clinical follow-up should be undertaken.

Dependent on the plasmid used and the known risk of delayed adverse reactions, the yearly clinical follow-up could be arranged as a visit with a healthcare professional or as a questionnaire forwarded to the patients.

4.3.4 *Genetically modified human cells*

The risk for adverse reactions after treatment with genetically modified cells is dependent on the used gene vector, cell type and persistence of the cells and genes after delivery to the patient. In addition to these parameters, the risk of inducing an immunologic reaction host vs graft or graft vs host shall be considered. However, these immunologic reactions are normally seen within a short period after initiation of the treatment.

It is recommended, that the clinical follow-up after treatment with genetically modified cells follow the recommendations for the gene vector used unless non-clinical or clinical data indicate a need for a different follow-up regimen.

If applicable, a safety monitoring plan should be developed to cover the risk profile of this product type as identified in non-clinical safety evaluations or from clinical experience with similar products types.

4.4. FOLLOW-UP OF EFFICACY OF GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS IN POSTMARKETING APPROVAL SETTINGS

In the marketing authorisation application, the applicant shall outline a plan for follow-up of efficacy of GT medicinal products and of adverse reactions thereto. The principles of presentation of such data are described in the Guideline on Safety and Efficacy Follow-up Risk Management of Advanced Therapy Medicinal Products.

The GT medicinal products will be used in a broad range of clinical indications, targeting a heterogeneous patient population with regard to factors such as underlying disease, co-morbidity, and concomitant therapy.

The methods and parameters to evaluate the long-term efficacy, in addition to patient related factors such as patients' characteristics, natural history and progression of underlying disease, life expectancy and co-morbidity should be taken into consideration when planning studies and follow-up of efficacy of a GT medicinal product. The clinical efficacy endpoint is determined by the disease / condition to be treated. Some patients will be cured, however many of the patients will have diseases with a continuous progression with time, which can make difficult to perform long-term efficacy monitoring of a GT medicinal product treatment. The efficacy follow-up plan does not have to include all patients, but can be based on a sample of the treated patients.

The importance of including a relevant control group should be considered. The choice of the control group for GT medicinal products depends on the underlying condition and available treatment for the disease.

It can be expected that patients receiving GT medicinal products will receive other medicinal products either for the underlying disease or for treatment of concomitant diseases. Thus it is of importance to monitor also the type and dosage of these medications as well as further medical interventions during the follow-up phase.

4.5. PHARMACOVIGILANCE, RISK MANAGEMENT AND TRACEABILITY IN POSTMARKETING APPROVAL SETTING

With the marketing authorisation application, a risk management plan has to be submitted in accordance with the current EU legislation and pharmacovigilance guidelines (see Guideline on Safety and Efficacy Follow-up – Risk Management of Advanced Therapy Medicinal Products). The holder of a marketing authorisation for a GT medicinal product shall establish and maintain a system ensuring that the individual product can be traced through the sourcing, manufacturing, packaging, storing, transport and delivery to the hospital, institution or private practice where the product is used. The marketing authorisation holder shall keep these data for a minimum of 30 years after the expiry date of the product, or longer if required by the Commission as a term of the marketing authorisation. (Regulation (EC) No 1394/2007 – Art. 15).

In addition, the hospital, institution or private practice where the GT medicinal product is used shall establish and maintain a system for patient and product traceability. That system shall contain sufficient detail to allow linking of each product to the patient who received it. A guideline on traceability of advanced therapy medicinal products is under preparation.

5. REFERENCES

Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004.

Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use.

Regulation (EC) No 726/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 laying down Community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Medicines Agency.

Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of 4 April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to

the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use.

Directive 2005/28/EC of 8 April 2005 laying down principles and detailed guidelines for good clinical practice as regards investigational medicinal products for human use, as well as the requirements for authorisation of the manufacturing or importation of such products.

EMA/CPMP Note for guidance on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene transfer medicinal products (CPMP/BWP/3088/99)

EMA/CHMP Guideline on human cell based medicinal products (EMA/410869/2006)

EMA/CHMP Guideline on non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products (CHMP/GTWP/125459/06)

EMA/CHMP Guideline on risk management systems for medicinal product for human use (EMA/CHMP/96268/2005)

EMA/CHMP Guideline on non-clinical testing for inadvertent germ line transmission of gene transfer vectors (EMA/273974/05)

EMA/CHMP Guideline on safety and efficacy follow-up – risk management of advanced therapy medicinal products (EMA/149995/2008)

Rules Governing Medicinal Products in the European Union;

- Volume 9a: Guidelines on Pharmacovigilance for Medicinal Products for Human Use
- Volume 10: Clinical Trials

医 薬 審 第 3 2 9 号

平成 1 2 年 2 月 2 2 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生省医薬安全局審査管理課長

「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス
安全性評価」について

近年、優れた新医薬品の地球的規模での研究開発の促進と、患者への迅速な提供を図るため、承認審査資料の国際的ハーモナイゼーション推進の必要性が指摘されている。

このような要請に応えるため、日・米・EU 三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議（ICH）が組織され、品質、安全性及び有効性の 3 分野でハーモナイゼーションの促進を図るための活動が行われている。

本ガイドラインは、ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価について、ICH における三極の合意事項に基づき、その標準的と思われる方法を示したものである。

貴管下関係業者に対し周知方よろしくご配慮願いたい。

ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価

目次

I. 緒言	1
II. ウイルス汚染の可能性	2
A. マスター・セル・バンク (MCB) にウイルスが存在する可能性	2
B. 医薬品製造過程で迷入する可能性	3
III. 細胞株適格性試験：ウイルス試験	3
A. マスター・セル・バンク (MCB) 、ワーキング・セル・バンク (WCB) 又は医薬品製造のために <i>in vitro</i> 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL) におけるウイルス試験	3
1. マスター・セル・バンク	3
2. ワーキング・セル・バンク	3
3. 医薬品製造のために <i>in vitro</i> 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL)	4
B. ウイルス検出及び確認のために推奨される試験	4
1. レトロウイルス試験	4
2. <i>In vitro</i> 試験	5
3. <i>In vivo</i> 試験	5
4. 抗体産生試験	5
C. ウイルスが検出された細胞株の使用について	5
IV. 未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験	5
V. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領	6
VI. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析	9
A. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択	10
1. 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」	10
2. その他の留意事項	11
B. ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実施要領	11
1. 施設とスタッフ	11

2. 製造システムのスケールダウン	11
3. ウイルス不活化／除去に関する製造段階毎の解析	12
4. 不活化と物理的除去の区別	12
5. 不活化に関する事前評価	13
6. カラムの機能と再利用	13
7. 特別な留意事項	13
C. ウイルスクリアランス試験の解釈	14
D. ウイルスクリアランス試験の限界	16
E. 統計	17
F. ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合	17
VII. まとめ	17
用語解説	19

表 1 : 各細胞レベルで1度は実施すべきウイルス試験	
表 2 : ウイルス試験に用いられるアッセイ法の例とその限界	
表 3 : 抗体産生試験において検出されるウイルス	
表 4 : ウイルスクリアランス工程評価と精製バルクにおけるウイルス試験に関する実施要領	
付録 1 : 特性解析されたセル・バンクを <i>in vivo</i> で増殖することにより生産される製品	
付録 2 : ウイルスクリアランス試験のためのウイルスの選択	
表 A-1 : ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例	
付録 3 : ウイルス力価測定における統計学とその留意点	
低濃度ウイルス液の検出確率	
付録 4 : ウイルスクリアランス試験でのクリアランス指数の計算方法	
付録 5 : 投与量当たりの推定ウイルス粒子数の計算方法	

ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価

I. 緒言

本文書は、ヒトや動物（ホ乳類、鳥類、昆虫類）由来の特性解析がなされた細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性にかかわる試験及び評価のあり方に関するものである。また、承認申請書に添付されるべきデータの概略を述べたものである。本文書において、ウイルスという用語には、ウシ海綿状脳症（BSE）やスクレーピーに関連する従来の範疇にはない伝播因子は含まないものとする。BSEに関しては申請者が規制当局に個別に相談すること。

本文書の適用範囲は、特性解析されたセル・バンクを出発基材とした細胞培養により生産された医薬品とする。適用対象には、インターフェロン、モノクローナル抗体、組換えサブユニットワクチンを含む組換え DNA 技術応用医薬品など、*in vitro* 細胞培養から得られた医薬品が含まれる。また、ハイブリドーマを *in vivo* で増殖し、腹水から得られた医薬品なども含まれる。後者の場合、特別な考慮が必要である。細胞を *in vivo* で増殖して得た製品について検討する際の必要な情報は付録 1 に追加記載されている。不活化ワクチンや自己複製因子を含むすべての生ワクチン、遺伝子工学によって作られた生きたベクターは本文書の適用範囲から除外する。

製品へのウイルス汚染の危険性は、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品すべてに共通するものである。そのようなウイルス汚染が発生すれば、臨床的使用において深刻な事態を招く可能性がある。製品のウイルス汚染は、医薬品生産基材としての細胞株自身のウイルス汚染、あるいは製造過程における外部からのウイルスの迷入によりもたらされる可能性があるが、今日まで、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品によりウイルス感染が発生したという事例はない。しかし、ウイルス汚染に関するこれらの製品の安全性は、しかるべき方策によって合理的に保証することが望まれる。その方策とは、以下に述べるように、適切なウイルス試験プログラムを適用すること、並びに製造工程におけるウイルス不活化及び除去に関する評価を行うことである。

バイオテクノロジー応用医薬品において発生する可能性があるウイルス汚染を防ぐためには、以下の 3 つの主要な相補的アプローチがある。

- a) ヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のあるウイルスの存在を否定するために、細胞株、その他培地成分を含む原材料を選択し、試験すること。
- b) 製造工程の感染性ウイルス不活化／除去能力を評価すること。

c) 製造工程の適切な段階において、製品の感染性ウイルス否定試験を行うこと。

ウイルス試験には、統計的理由により低濃度のウイルスを検出するときの感度がサンプルサイズに依存するなど、定量性の面で固有の限界がある。したがって、それだけで医薬品の安全性を確立するのに十分というアプローチはない。最終製品に感染性ウイルスが存在しないという、より確実な保証は、多くの場合、製品を直接試験して否定することのみでは得られず、その精製法のウイルス不活化／除去能力を併せて示すことによって得られる。

製造の各段階でどのようなウイルス試験及びウイルスクリアランス試験をどの程度実施すべきかは様々な要素により異なるので、ケースバイケースかつステップバイステップの原則で考える必要がある。考慮すべき要素としては、①セル・バンクの特性解析と適格性確認の程度、②検出されたすべてのウイルスの種類・性質、③培地成分、④培養方法、⑤施設及び設備の仕様、⑥細胞培養後のウイルス試験の結果、⑦工程のウイルス不活化／除去能力、⑧製品のタイプや臨床上的の使用目的・用法等が含まれる。

本文書の目的は、ウイルス試験及びウイルスクリアランスの評価に必要な試験並びにそれらをどのようにデザインすればよいかについての方策を関係付け、包括的に示すことである。用語解説を末尾に、関連事項を付録に記載した。

製造業者は、それぞれの製品や製造工程について、ウイルスに対する安全性を保証するための総合戦略の中で採用したアプローチを説明し、その妥当性を示す必要がある。その際、本文書で推奨されているアプローチを、合理性がある限り適用すべきである。承認審査を迅速に行うため、詳細なデータに加えて、ウイルス安全性評価に関する総括を記載すること。この総括には、本文書に記載されているようなウイルス汚染を防ぐための方策とウイルス安全性に関する試験すべてを網羅した見解を簡潔に記述する必要がある。

II. ウイルス汚染の可能性

バイオテクノロジー応用医薬品のウイルス汚染は、細胞株に起因するものと製造工程中におけるウイルスの迷入に起因するものがある。

A. マスター・セル・バンク (MCB) にウイルスが存在する可能性

細胞には、潜伏感染又は持続感染状態のウイルス（例えばヘルペスウイルス）、あるいは内在的なレトロウイルスが存在している可能性がある。これは、ウイルスゲノムが細胞内に持続的に保持されているためである。これらのウイルスは1つの細胞世代から次の世代に垂直伝播することができ、細胞内に構成的に発現している、あるいは感染性ウイルスとして予期せぬ発現をしているものと考えられる。

ウイルスは次のような経緯により MCB に混入してくる可能性がある。1) 感染した

動物からの細胞株の入手、2) 細胞株を樹立するためのウイルスの使用、3) 汚染された生物起源由来の試薬（例：動物血清成分）の使用、4) 細胞取扱い中における汚染。

B. 医薬品製造過程で迷入する可能性

外来性ウイルスは、次のような経路により最終製品に迷入する可能性がある（ただし、これに限定されるわけではない）。1) 培養等に使用する血清成分のような生物起源由来の試薬が汚染されている、2) 目的タンパク質をコードする特定の遺伝子の発現を誘導するためのウイルスの使用、3) 精製等に使用するモノクローナル抗体アフィニティクロマトグラフ用カラムのような試薬が汚染されている、4) 製剤化に使用する添加剤が汚染されている、5) 細胞及び培養液の取扱い中における汚染。なお、細胞培養パラメータをモニターすれば、外来性ウイルスの汚染の早期発見に役立つ。

III. 細胞株適格性試験：ウイルス試験

バイオテクノロジー応用医薬品の製造に用いる細胞株の適格性試験において、ウイルス試験は重要な項目の1つである。

A. マスター・セル・バンク (MCB)、ワーキング・セル・バンク (WCB) 又は医薬品製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL) におけるウイルス試験

表1に MCB、WCB 又は CAL の各細胞レベルで1度は実施すべきウイルス試験の例を示す。

1. マスター・セル・バンク

MCB においては、内在性及び非内在性のウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。ヒト又はヒト以外の霊長類細胞に由来するウイルス汚染は特に安全性上問題となる可能性があるため、これらの細胞をパートナーとするヘテロな融合細胞株については、ヒトを含む霊長類に特有のウイルスを検出するための試験を実施すること。

非内在性ウイルスの存在の有無を検討するには、*in vitro* 試験、*in vivo* 試験、及びその他細胞種特異ウイルス試験（マウス抗体産生 (MAP) 試験のような種特異性試験を含む）が必要である。細胞種特異ウイルス試験とは、細胞株個々の継代経歴から混入が予測されるウイルスを検出するために適した試験である。

2. ワーキング・セル・バンク

医薬品製造のための出発細胞基材としての各 WCB については、それ自体を対象に、又は WCB を培養した CAL の段階で、外来性ウイルスに関する試験を実施すること。適切な非内在性ウイルスの試験が、WCB のもとである MCB で実施され、かつその WCB に由来する CAL において外来性ウイルスの試験が実施されている場合、同様の試験は当該 WCB では不要である。抗体産生試験は、通常、WCB では不要である。もう1つのア

アプローチとして、WCB について、MCB において必要とされるすべての試験を実施し、MCB における試験の代わりとしてもよい。

3. 医薬品製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL)

医薬品製造に用いる際の細胞の *in vitro* 細胞齢の上限は、医薬品製造のために提案された *in vitro* 細胞齢又はそれを超えて、パイロットプラントスケール又は実生産スケールの条件で培養された製造細胞のデータに基づいて設定すること。この場合、製造細胞は WCB から調製されるのが一般的であるが、MCB から調製してもよい。

内在性ウイルスについては、MCB、WCB で検出されないものもありうるので、CAL で必ず 1 度は、その存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。

なお、CAL について、適切なウイルス試験（例えば *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験）を少なくとも 1 度は実施することによって、製造工程が外来性ウイルスに汚染されていないことがより一層確実になる。この段階で外来性ウイルスが認められた場合、原因を明らかにするため製造工程を厳密に調査し、対応策を講ずること。場合によっては工程を根本的に設計しなおす必要がある。

B. ウイルス検出及び確認のために推奨される試験

内在性ウイルスや外来性ウイルスを検出するための試験には様々なものがある。代表的な試験の例を表 2 に示す。これらは現時点において推奨される方法ではあるが、必ずしもすべての試験法が網羅されているわけではない。また、これらを用いなければならぬと定めたものでもない。最も適切な技術は科学の進歩とともに変わると考えられるので、適切な資料が提出されれば記載されたもの以外でもよい。製造業者は新たに提案する技術について、当局と協議することを勧める。

表 2 に示された試験以外の特殊な試験が必要なケースもある。

試験を実施するには十分な感度と特異性を確認するための適切なコントロールを置く必要がある。

細胞基材の由来からみて、当該種に特異的に存在する可能性が高い特定のウイルスが予想される場合は、それに対応する試験及びアプローチが必要であろう。製造に用いられる細胞がヒト又はヒト以外の霊長類由来である場合、妥当な理由がない限り、免疫不全症や肝炎などの疾病を引き起こす可能性のあるヒトウイルスに関する試験を追加実施すべきである。NAT 法（核酸増幅法）は、これらのヒトウイルスやその他のウイルスの存在の有無を塩基配列の面から検出するのに適切な方法である。以下には、製造業者が試験の実施計画を立案し、あるいは実施した試験を評価する際、その妥当性を総括し、また、理論的根拠を示す上で参考になる事項を概説する。

1. レトロウイルス試験

MCB と CAL については、感受性細胞を用いた感染性試験と電子顕微鏡観察を含むレトロウイルス試験を行うこと。感染性が認められず、レトロウイルス又はレトロウイルス様粒子が電顕で認められない場合、非感染性のレトロウイルスの有無について検討するため、逆転写酵素活性の試験を含む適切な試験を実施すること。なお、レトロウイルスを試験するための誘導試験（induction）は、有用な方法ではないことが明らかになっ

てきている。

2. *In vitro* 試験

In vitro 試験は、広範囲のヒトウイルスやある種の動物ウイルスを検出することができる感受性を有する各種指示細胞に、被検試料を接種することにより実施する。本試験に使用する細胞の種類は試験対象となるセル・バンクがどのような種由来であるかによって左右されるが、ヒトウイルスに感受性のあるヒト及びヒト以外の霊長類に由来する細胞を含むべきである。どのような試験方法及び被検試料で試験を実施するかは、細胞基材の由来やその調製過程からみて混入の可能性が考えられるウイルスの種類に応じて決定すること。細胞変性及び血球凝集を判定法とするウイルス検査を実施すること。

3. *In vivo* 試験

被検試料（表2）を乳飲みマウス、成熟マウスを含む動物、及び発育鶏卵に接種することにより、細胞培養（*in vitro* 試験）では増殖できないウイルスを検出するための試験である。細胞基材の特性や由来によっては、動物種を追加して試験を実施する場合もありうる。被検動物の健康状態を観察し、異常が認められた場合は、その病因を調査すること。

4. 抗体産生試験

げっ歯類由来細胞株中に存在する可能性がある種特異的ウイルスについては、被検試料（表2）をウイルスフリーの動物に接種し、一定期間後、被検動物血清中の抗体レベルあるいは酵素活性を測定することにより検出できる。例としてマウス抗体産生（MAP）試験、ラット抗体産生（RAP）試験、ハムスター抗体産生（HAP）試験がある。現在、これら抗体産生試験によりスクリーニングされているウイルスを表3に示す。

C. ウイルスが検出された細胞株の使用について

医薬品の製造に用いる細胞株には、内在性のレトロウイルス、その他のウイルス、あるいはウイルス由来の塩基配列を含むことが知られているものがある。そのような場合に製造業者が行うべき対応策が本文書の第V章に記載されている。内在性のレトロウイルス以外のウイルスが存在する細胞株の使用の可否は、ケースバイケースで規制当局が考慮することになるが、その際、製品のベネフィットや予定される臨床上の用途、混入するウイルスの種類・性質、ヒトへの感染性又は病原性、製品の精製工程（ウイルスクリアランスに関する評価データ等）、及び精製バルクにおいてどの程度のウイルス試験を実施したかなどに基づくリスク／ベネフィットのバランスを勘案し、判断することになる。

IV. 未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験

未加工／未精製バルクは、培養後にハーベストされた細胞及び培養液の単一又は複数のプールからなる。未加工／未精製バルクが必ずしも細胞を含まず培養液からなる場合もあ

る。すなわち、中空糸又は類似のシステムなどの例では、細胞がハーベストとして採取されにくい場合もある。

未加工／未精製バルクとして典型的なサンプルは、培養槽から取り出されたのち処理を行っていないものである。これは、外来性ウイルス汚染の可能性を高確率で検出するのに最も効果的な段階の1つである。ウイルス試験はこの未加工／未精製バルクの段階で適切に実施されるべきである。ただし、ごく一部工程を進めることによってウイルス試験がより高感度に行える場合には、この限りではない（例：未加工／未精製バルクがウイルス試験に用いる培養細胞に毒性を示すが、部分的に処理したバルクにおいては毒性を示さないようなケース）。培養槽から取り出されたそのままの細胞、破碎細胞及び培養上清からなる混合物を、処理を施すことなく試験することが、より適切な場合もある。

承認申請時には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールから得た未加工／未精製バルクの少なくとも3ロットのデータを申請資料の一部として提出する必要がある。

なお、以降の各製造バッチ中の外来性ウイルスについても、製造業者が引き続き評価するための計画を作成することが望まれる。この未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験の範囲、程度及び頻度を決定するにあたっては、以下のような諸点を考慮する必要がある。例えば、目的産物を生産するために用いられる細胞株の種類・性質、細胞株の適格性試験のため実施されたウイルス試験の程度と試験結果、培養方法、原材料の起源とウイルスクリアランス試験の結果などである。未加工／未精製バルクにおける試験として一般に用いられているのは、1種又は数種の細胞株を用いる *in vitro* スクリーニング試験である。なお、適宜、NAT法その他の適切な試験法を用いるとよい。

一般に、外来性ウイルスが検出されたハーベストは、医薬品等を製造するために用いるべきではない。もしこの段階で何らかの外来性ウイルスが検出されたならば、その汚染の原因を突きとめるために製造工程を注意深く点検し、適切な対応をとるべきである。

V. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領

MCBから医薬品製造の様々な段階を経て最終製品に至る間において、それぞれに最も適切で合理的なウイルス試験、及び未加工／未精製バルクからのウイルスクリアランスの評価試験・特性解析試験を実施するためのプロトコールを設定することは重要である。

このうち、ウイルスクリアランス評価試験と特性解析試験は、特に中心的な役割を果たす。プロトコールの設定にあたっては、製品がウイルスに汚染されていないことを最も確実に、かつ合理的に保証することを目標とするべきである。

クリアランス試験に用いるウイルスを選定するにあたって、存在することが知られているウイルスを除去する能力について製造工程を評価する必要がある場合と、「非特異的モデルウイルス」（後述）を用い製造工程のウイルスクリアランスに関する特性を解析する

ことにより工程のもつクリアランス能力（robustness）を評価したい場合とを区別して考えた方がよい。「関連（relevant）ウイルス」、「特異的（specific）モデルウイルス」及び「非特異的（non-specific）モデルウイルス」の定義については、用語解説を参照のこと。ウイルスクリアランスの工程評価にあたっては、①未加工／未精製バルク等の製造工程中にウイルスがどれだけの量存在するか、②製造工程でウイルスがどの程度不活化／除去され、生産物の安全性を評価できるか、に関する知見が必要である。不活化工程の効果を保証するために、不活化の時間依存性を調べることは有用である。存在することが知られているウイルスのクリアランスを評価する場合には、不活化の時間依存性に関する詳細な検討、不活化／除去の再現性の実証、及びプロセスパラメータの評価が必要である。「非特異的モデルウイルス」を用いて製造工程のもつクリアランス能力の特性を解析する場合には、試験デザインの際に、非エンベロープ型ウイルスの使用を考慮することが必要である。ウイルスクリアランス工程特性解析試験をどの程度まで行うかは、細胞株及び未加工／未精製バルクに関するウイルス試験結果により判断されなければならない。これらの試験は後述（第VI章）のごとく実施されるべきである。

表4は、細胞及び未加工／未精製バルクについてのウイルス試験の結果に対応したウイルスクリアランス工程評価試験、ウイルスクリアランス工程特性解析試験及び精製バルクにおけるウイルス試験に関する実施要領を示している。様々なケースが想定されるが、以下のすべてのケース（A、B、C、D、E）において、「非特異的モデルウイルス」を用いたクリアランスの特性解析を実施するべきである。最も一般的なケースは、ケースAとケースBである。げっ歯類のレトロウイルス以外のウイルスに汚染されたケースは、通常、医薬品の製造方法としては使用しない。ケースC、D又はEにあたる細胞株を用いて医薬品製造を行おうとする場合で、その必要性が認められ、かつ理由を十分に説明できるという場合は、その使用について規制当局と協議すべきである。ケースC、D及びEの場合、当該ウイルスを有効に不活化／除去することが検証された工程を、製造工程中に有していることが重要である。

ケースA：細胞又は未加工／未精製バルク中にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子のいずれの存在も認められないケースである。本ケースでは前述のごとく、ウイルスの不活化／除去の検討は「非特異的モデルウイルス」を用いて実施すること。

ケースB：げっ歯動物のレトロウイルス（又は、げっ歯動物のA型粒子及びR型粒子のような非病原性であるとされているレトロウイルス様粒子）のみが細胞又は未加工／未精製バルク中に存在するケースである。本ケースでは、マウス白血病ウイルス（Murine Leukemia Virus）等の「特異的モデルウイルス」を用いた工程評価試験が実施されるべきである。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用いて試験すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。CHO、C127、BHK等の細胞株、及びネズミのハイブリドーマ細胞株は医薬品製造にしばしば用いられているが、ウイルス汚染に起因する安全上の問題は報告

されていない。これらの細胞株の内在性レトロウイルス様粒子は十分に解析されており、クリアランスも示されていることから、精製バルクでの内在性レトロウイルス様粒子に関する試験は、通常、不要である。ケースAに述べたような「非特異的モデルウイルス」を用いた検討は、実施する必要がある。

ケースC：細胞又は未加工／未精製バルク中に、げっ歯類のレトロウイルス以外のウイルスが存在しているが、ヒトへの感染性は知られていないケースである（表3、脚注2で特定されているもの等で、げっ歯動物のレトロウイルス（ケースB）以外のもの）。本ケースでウイルスの不活化／除去の工程評価試験を行う際には、存在しているウイルスそのものを用いること。そのウイルスを用いることが不可能な場合、「関連ウイルス」又は「特異的モデルウイルス」を使用し、クリアランスの程度が受け入れられるに足るものであることを示すこと。工程評価試験には、これらのウイルスの不活化試験が含まれるべきであり、そのうちの特に重要な不活化工程においては、同定されたウイルス（又は「関連／特異的モデルウイルス」）の不活化の時間依存性に関してデータを得ること。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を用いた試験を実施すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。

ケースD：ヒトへの病原性が知られているウイルス（表3、脚注1などに示されたもの）が細胞又は未加工／未精製バルク中に検出され、同定されたケースである。本ケースからの製品は、例外的な場合のみ認められることになる。この場合、検出されたウイルスそのものをウイルス不活化／除去の評価試験に用いること、及び当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を用いることを推奨する。検出されたウイルスそのものを使用することができない場合は、「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を使用すること。精製工程及び不活化工程において当該ウイルスが不活化／除去されることを証明すること。工程評価試験には当該ウイルスの不活化工程を含み、そのうちの特に重要な不活化工程においては、不活化の時間依存性に関してデータを得ること。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用いた試験を実施すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。

ケースE：現在適用可能な方法によっては分類することができないウイルスが細胞又は未加工／未精製バルクに検出された場合、そのウイルスに関して病原性が示されることもありうるので、その生産物は、通常、認められないと考えられる。極めて希なケースとして、そのような細胞株を用いた医薬品製造を行おうとする場合で、その必要性が認められ、かつ理由を十分に説明できるという場合であっても、開発を進める前に規制当局と協議するべきである。

VI. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析

ウイルス不活化や除去に関する工程評価と工程特性解析は、バイオテクノロジー応用医薬品の安全性を確立するために重要である。過去におけるウイルス汚染の事例の多くは、存在が知られていない、あるいは予測だにされていなかったウイルスにより引き起こされている。こうした過去の事例は、様々な起源に由来する生物起源由来製品で起こったことであって、十分に特性解析された細胞株での例ではない。しかし、十分に特性解析された細胞株由来の製品においても、ウイルススクリアランスに関する評価を行っておくことは、未知の、あるいは不測の有害ウイルスを除去できることへの一定限の保証になる。ウイルススクリアランス試験の実施にあたっては、試験の計画、経過、結果及び評価を文書化するとともに、試験の管理を十分に行う必要がある。

ウイルススクリアランス試験の目的は、ウイルス不活化や除去に有効であると考えられる工程について評価すること、及びそれらの各工程を併せて、全体としてウイルスがどの程度減少したかを定量的に評価することにある。この目的を達成するには、未加工／未精製バルクや製造工程における様々な段階に、しかるべき量のウイルスを意図的に添加（スパイク）し、以降のそれぞれの工程を経る間に、添加されたウイルスがどの程度除去又は不活化されるかを示す必要がある。もし、いくつかのステップにより十分なクリアランスが示されるのであれば、必ずしも製造工程のすべての工程について工程評価又は工程特性解析する必要はない。しかし、評価対象以外のステップが、ウイルスの不活化／除去に関する結果に、間接的に影響を与える可能性についても留意しておくべきである。製造業者は、ウイルススクリアランス試験に用いたアプローチについて説明し、その妥当性を明らかにする必要がある。

ウイルス量（ウイルス感染性）は、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により減少する。ウイルススクリアランスに関して評価の対象とした各製造工程については、ウイルス量減少のメカニズムが不活化によるのか除去によるのかに関して推定し、記載すること。不活化を評価しようとする工程における試験に際しては、時間を変えて検体をサンプリングし、不活化曲線が描けるように計画すべきである（第VI章、B.5参照）。

ウイルススクリアランス工程評価試験は、MCBに存在することが知られているウイルスのクリアランスを証明するために実施される。これに加えて、検出を免れた外来性ウイルス、又は製造工程中に迷入する可能性がある外来性ウイルスのクリアランスに関しても、ある程度の保証を与えるために実施される。減少度は、通常、対数で表わされる。したがって、残存ウイルス量がゼロにまで減少することはない一方で、残存ウイルス量が数学的にみると大きめに減少することもありうる。

上記のような、細胞などに存在が知られたウイルスを対象とするウイルススクリアランス工程評価試験に加えて、それ以外のウイルスを不活化／除去する能力に関する工程の特性を評価する試験を行うべきである。この工程特性解析試験では、細胞などに存在が知られていないか又は存在が予測されていないウイルスで、かつ広範な生化学的・生物物理的性

質を有するウイルスを用いる。その目的は、特定のウイルスの不活化／除去を達成するという目的のものとは異なり、対象とする工程のもつクリアランス能力の特性を解析することにある。どの製造工程がどの程度のウイルス不活化／除去能力を有するのかを明らかにすることが望ましい（第VI章、C参照）。これらの試験は、特定のウイルスによるリスクに対する安全性を評価するために行うわけではない。したがって、クリアランスに関して特定の数値目標が達成される必要はない。

A. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択

クリアランス工程評価及び工程特性解析に使用されるウイルスとしては、製品を汚染する可能性のあるウイルスと同様とみなされるウイルス、及び一般的にウイルスを排除するためのシステムの能力をテストする目的に適う物理的・化学的に広範な特性を持ったウイルスを選択すべきである。製造業者は、工程評価試験及び工程特性解析試験の目的並びに本ガイドラインに示されたガイダンスに従って、ウイルスの選択の妥当性を説明する必要がある。

1. 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」

ウイルスクリアランス試験を実施する上での重要な点は、どのようなウイルスを使用するか決定することである。使用するウイルスは「関連ウイルス」、「特異的モデルウイルス」及び「非特異的モデルウイルス」の3つのカテゴリーに分けられる。

「関連ウイルス」とは、製造工程で使用される細胞基材、その他の試薬類や各種物質に混在することが知られているか、あるいは存在の可能性のあるウイルス類と同一又は同種のウイルスで、ウイルスクリアランスに関する工程評価試験に用いられるものである。精製工程や不活化工程がこれら「関連ウイルス」を不活化／除去する能力があることを示す必要がある。この「関連ウイルス」の入手が困難であったり、ウイルスクリアランスに関する工程評価試験にうまく適用できない（例えば、*in vitro* で十分に高力価になるまで培養できない）場合には、代替として「特異的モデルウイルス」を用いることになる。適切な「特異的モデルウイルス」とは、存在が知られている、あるいは存在が疑われるウイルスに密接に関連しているウイルス、すなわち同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイルスと類似した物理的・化学的性質を有するものである。

げっ歯類由来の細胞株には、通常、内在性レトロウイルス粒子又はレトロウイルス様粒子が存在しており、それらには感染性のもの（C型粒子）又は非感染性のもの（細胞質A型又はR型粒子）がある。それらの細胞由来の生産物については、その製造工程がげっ歯類レトロウイルスを不活化／除去する能力を有していることを明らかにしておく必要がある。このためには、ネズミ由来の細胞の場合、マウス白血病ウイルス（Murine Leukemia Virus）を「特異的モデルウイルス」として用いるとよい。エプスタインバーウイルス（Epstein-Barr Virus、EBV）によりBリンパ球を不死化することで得られたモノクローナル抗体を分泌するヒト細胞株の場合は、その製造工程が（何らかの）ヘルペスウイルスを不活化／除去する能力を有することを明らかにしておくべきである。仮性

狂犬病ウイルス（Pseudorabies Virus）も「特異的モデルウイルス」として使用できる。

ある工程がウイルスの除去や不活化に関して一般にどの程度の能力を有するかを解析することが目的である場合、すなわち当該工程が確実にウイルスクリアランス能力を発揮するという面での特性（robustness）を解析することが目的である場合に実施するウイルスクリアランス特性解析試験では、異なる性質を持つ様々な「非特異的モデルウイルス」を用いる必要がある。

「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いた試験により得られたデータが、こうした面での評価資料として利用できる場合もある。ウイルスタイプのすべてにわたって試験する必要はない。物理的処理や化学的処理に対して特に抵抗性を示すウイルスを優先して選択するべきである。それらのウイルスにより得られた結果は、製造工程のウイルス不活化／除去能力に関する一般的で有益な情報となる。どのようなウイルスを何種類選択するかは、細胞株の品質とこれをどう解析したかやどのような製造工程であるかに依存する。

広範囲な物理的・化学的構造を示す有用なモデルウイルスの例、及び過去にウイルスクリアランス試験に使用された実績のあるウイルスの例を付録2と表A-1に示す。

2. その他の留意事項

その他の留意点は以下のとおりである。

- a) 高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい。ただし、これがいつも可能であるとは限らない。
- b) 使用するそれぞれのウイルスの検出に関して、試験対象の各製造工程において、効果的で信頼性の高いアッセイ法が確立されている必要がある。
- c) ウイルスの選択にあたっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性を考慮するべきである。

B. ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実施要領

1. 施設とスタッフ

製造施設にウイルスを持ち込むことは、GMP上からみて適切ではない。したがって、ウイルスクリアランス試験は、ウイルスを取り扱う上で適切な設備を備えた別の実験施設で行われるべきである。また、精製工程のスケールダウンを設計し、準備に関与した製造担当者とウイルスの専門知識を有する者が共同して試験を実施するべきである。

2. 製造システムのスケールダウン

スケールダウンの妥当性を明らかにすること。スケールダウンした精製工程の各要素は、実際の製造工程をできるかぎり反映したものとすべきである。クロマトグラフ装置については、カラムベッド高、線流速、ベッド容量に対する流速の比率（すなわち接触