

HIV パネル

パネル番号	検体番号	日赤データ		ロシュ				最終成績
		定量測定 copies/ml	HIV サブ タイプ	AMPLICOR HIV Monitor v1.5				
				Normal assay				
				copies/mL		x10 Dil assay		
P3-002	3-002	4.2×10 ⁴	B	48045	4.8×10 ⁴	-	-	4.8×10 ⁴
P3-001	3-001	4.1×10 ⁶	B	1224238	1.2×10 ⁶	181806	1.8×10 ⁶	1.8×10 ⁶
P3-013	3-013		B	311839	3.1×10 ⁵	-	-	3.1×10 ⁵
P3-027	3-027		B	145336	1.5×10 ⁵	-	-	1.5×10 ⁵
P3-049	3-049		B	456238	4.6×10 ⁵	-	-	4.6×10 ⁵
P3-060	3-060		A	2600	2.6×10 ³	-	-	2.6×10 ³
P3-034	3-034		A	1020	1.0×10 ³	-	-	1.0×10 ³
P3-086	3-086		A	14294	1.4×10 ⁴	-	-	1.4×10 ⁴
P3-061	3-061		B	54439	5.4×10 ⁴	-	-	5.4×10 ⁴
P3-081	3-081		B	44447	4.4×10 ⁴	-	-	4.4×10 ⁴
P3-085	3-085		B	71776	7.2×10 ⁴	-	-	7.2×10 ⁴
P3-017	3-017		E	262527	2.6×10 ⁵	-	-	2.6×10 ⁵
P3-023	3-023		E	118330	1.2×10 ⁵	-	-	1.2×10 ⁵
P3-072	3-072		E	130554	1.3×10 ⁵	-	-	1.3×10 ⁵

表 2. NAT ガイドライン改定のための検討事項一覧

血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)の実施に関するガイドライン(コメント)			
コメント		理由、根拠、修正案	対応案
ガイドライン全体へのコメント			
	改正案はEP、及びICHのガイドラインから逸脱しない内容であることを希望	当社ではNATはEP、及びICHのガイドラインに準拠して行われているため	FDA や EMA のガイドラインとの整合性は取れていると理解していますが、EP や USP のガイドラインについてはこれまで十分な比較検討を行ってきておりません。
	技術の進歩に合わせて内容を見直すことは大切だが、minimum requirement であること		規制的要件については安全技術調査会等での議論に基づいて整備をする必要があると思います。本ガイドラインは技術的要件を中心に記載されるものと理解しております。
	海外の NAT に関するガイダンスとの整合性を図っておく必要があること。		NAT ガイドライン作成時には FDA 及び EMEA ガイドラインとの整合性は取れていたと考えられます。最新のガイドラインとの比較では、制度の違いに基づくと思われる差異も見られるようですが、本ガイドラインの目的を超えているかどうかの判断をしたいと思います。
	注意事項(Q&A)の整備		必要に応じて見直します

個別項目へのコメント			
1. ガイドラインの目的及び適用範囲			
1-1) 目的			
	現在は、代表的なウイルスについて国際標準品が設定されていることから、コピー数表記ではなくIUに変更するほうがよい。		全体を通して見直して、IU 標記に統一したいと思います。
1-2) 適用範囲			
	最終製品のウイルス検査は、安全技術調査会で実施しないこととされたことから削除するほうがよい		ご提案どおりとしたい。
	HCV, HBV, HIV 以外のウイルス検出への適用をどう考えるか: パルボウイルス B19 は FDA でもその要件が示されており、検討が必要となるであろう。(FDA の 10^4 IU/ml に準じるのがよい。) HEV は北海道で限定して試行されており、また各社で受け入れ試験として行われている実態もある。WNV など将来的に必要なかもしれない。		NAT ガイドラインに HIV、HCV、HBV 以外のウイルスについて規制的要件を挿入するには、上の委員会での結論を待つ必要がある。技術的要件としてパルボウイルス B19 や HEV、WNV について、特に注意すべき事項があればそれを記載することは可能では。
2. 検査精度の確保及び試験方法の標準化のための方策			
	NAT ガイドライン中に「試験・検査」という言葉ができてきますが((項目 2-1)の最後)、試験と検査の違いがあれば教えてください。		
	HBV への適用では、血清学的試験により高タイターの血漿を排除したうえで NAT を適用しないと汚染が起きやすいが、その点についての記載がない。		交差汚染に可能性の言及については、実態に関する調査を含めて判断したい。

	Multiplex PCR に関する記載がないが、記載の必要性も含めて議論が必要。		FDA のガイドラインでは Multiplex PCR に関する記載も整備されており、Multiplex PCR を導入するときの注意点やバリデーションのあり方については記載が可能ではないか。
	①個別 NAT の実施に当たっての記載が必要か。あまり具体的に書き過ぎても困る可能性あり。 ②他の方法 (TMA 法等) の必要性 ③Taq polymerase の化学修飾 (Hot start など) への言及		
2-1) 施設・設備の整備等に関する事項			
	2-1) の修正 (追記) を希望	NAT は数十コピーのウイルス遺伝子を検出できることから、増幅産物による汚染などが起きないように十分な配慮をする必要がある。留意事項には作業者の導線や更衣、材料の流れ、エアフローや給気、除染法などが含まれる。最近の市販 NAT キットは自動化されたインハウスシステムと同様に NAT 試験のために一つのシステムを用いている。同時に試薬もチューブやカセットに入った調製	

		<p>済みのものが用いられる。さらに、汚染が起こりやすい増幅及び検出操作も閉鎖系で行われる。従って、このような閉鎖系の NAT 試験を採用している場合には、NAT 試験の各ステップに対応したエリアや区画を分ける必要がない。マスターミックスの調製、試料の処理や抽出、NAT による増幅、及び増幅産物の検出といった NAT 試験の各ステップを開放系で行う場合には、原則的通りに、試験をそれぞれ異なるエリアや区画で実施する必要がある。(*1)</p>	
	<p>2-1)で引用されているように、NAT のこの部分の記載について、時間も経過しており、最近の市販 NAT キット等は調整済みで、閉鎖系かつ分注済みのものが利用可能である。試薬もチューブやカセットに入った調製済みのものが用いられており、最近の市販システムを用いる場合には本記載はもはや不要である。この記載は変更する必要がある。</p>	<p>最近の市販 NAT キットは自動化されたインハウスシステムと同様に NAT 試験のために一つのシステムを用いている。同時に試薬もチューブやカセットに入った調整済みのものが用いられる。さらに、汚染が起こりやすい増幅及び検出操作も閉鎖系で行</p>	

		<p>われる。従って、このような閉鎖系の NAT 試験を採用している場合には、NAT 試験の各ステップに対応したエリアや区画を分ける必要がない。種々の試薬やテストキットを用いる NAT 試験をインハウスのシステムを用いて開放系で実施する場合には、ANT が数コピーから数十コピーのウイルスゲノムを検出できることから、NAT による増幅産物の汚染が起きないように最善の注意を払う必要がある。従って開放系で実施する NAT の試験設備はガイダンスに示された条件に適合する必要がある。(*1)</p>	
	<p>自動化機器が普及している中で、本文の(*1)の内容について、例えば「交差汚染の防止等がなされている場合はこの限りではない。」など、本文中に記載し、条件設定した方がよいのではないのでしょうか</p>		

2-2) 機器, 器具の保全、管理に関する事項			
	NAT 検査におけるシステム適合性試験とは、具体的にどういことをすればよいのでしょうか。		検出の確認(ランコントロール)、検出系の性能(特異性)、再現性が挙げられますが、試験ごとを実施するというのではなくバリデーションも含めてのことです。
2-3) (被験) 検体の移送・保管、試薬の保管・管理に関する事項			
	抽出法やプライマー、プローブ等の市販キットの使用:バリデーション、キットの受け入れ試験、キット変更の場合などの記載が必要ではないか。(USP にはキットの要件が記載されている。)		USP の市販キットの使用に関する General Chapter を参考に案文を作成してみます
2-4) 核酸の抽出・増幅及び増幅産物の検出に関する事項			
	ウイルスゲノムの変異により検出が出来なくなる可能性について、適切な評価を行うことを記載すべき(HIV のゲノム変異)。	EMA が HIV のゲノム変異により検出が出来ないキットがあることについて注意喚起を行った(シングルターゲットに代えてデュアルターゲット PCR の推奨)	ゲノムの変異が起きている可能性を日ごろから検討することとして、血清試験で陽性になった検体のゲノム解析を行う必要性について言及する案文を提案。また、デュアルターゲット PCR を行う場合に考慮すべき事項についての記載についても案文を提案します。
	Realtime PCR/RT-PCR での検出の確認に関してカットオフ値の設定に関する記載がない。		用手法での記載と比較して適切に整備したいと思います

2-5) 試験の最適化と特異性の確認、非特異的反応の除去に関する事項			
	<p>(3) 増幅産物の特異性の確認 「増幅産物が目的としたものであることを2段 PCR、制限酵素マッピング、配列解析、増幅産物の分子サイズ、特異的なプローブを用いたハイブリダイゼーションなどにより確認する必要がある」と記載すべきである。</p>		
	<p>①特異性の確認 ○核酸→ウイルス遺伝子</p>		ウイルス遺伝子に修正します
	<p>③増幅産物が特異的である確認 キットの使用者で、様々なジェノタイプのウイルスを入手する場合は困難な場合もあることから、次の一文を記載する。 ・ウイルス遺伝子型等に対する検出感度 ○最終行に、「市販キットを使用する場合は、試薬製造メーカーのデータをもって代えることができる。」を追記する。</p>		市販キットの使用に関する考慮事項と共に、どのように記載するかを検討する。

	<p>・NAT 検査におけるばらつきは、一般的にどれくらいまでを許容すると考えればよいでしょうか。</p>		<p>一概には言えないのではないのでしょうか。検出限界近くの低濃度のウイルス溶液では、採取サンプル中に含まれるウイルス量は非常にばらつくことが想定されています。一方で、FDA のパルボウイルスの検出限界のように、10^4 IU/ml であればこのような希釈液でのサンプリングによる誤差はそれほど大きいとは考えにくい。</p>
	<p>・定量 NAT 試験系は、分析法バリデーションに従った方がよいのでしょうか。</p>		<p>ICH Q2A 及び ICH Q2B が参考になると考えられるが、全てが適用可能か検討させていただきます。</p>
	<p>陰性パネル：陰性血漿の調達法、現行の記載は十分か？「100 検体を試験し、陰性であることを確認」の妥当性（従来の打率の考え方に基づいたものであり、現行のリアルタイム PCR とは考え方が異なる。）</p>		<p>リアルタイム PCR での陰性血漿の評価法については再検討させていただきます。</p>
	<p>凍結乾燥されていない RNA ウイルス標準品（社内標準品を含め）の安定性についてどのように考えられるか説明してほしい。</p>	<p>標準品の安定性について、DNA ウイルスでは問題が少ないと思われますが、RNA ウイルスでは長期保存によりコピー数が低下する傾向があるように思われます。</p>	

2-6) 検出感度に関する事項			
	<p>②検出感度の求め方</p> <ul style="list-style-type: none"> ・3回以上の独立した試験の実施 ○最終行に、「自動化機器の場合は、製造メーカーのデータをもって代えることができる。」 		
	<p>NATガイドラインに記載されている、n数に関する制定当時の考え方(根拠)を明示してほしい(例;頑健性のn=20、95%感度の3倍など)。</p>		
	<p>検出限界の解析のための標準品の希釈法:希釈には陰性血漿を用いるべき。</p>		<p>PBS等で希釈系列を作製すると、実サンプルとの抽出効率等の齟齬が出来る可能性を記載したいと思います。</p>
	<p>バリデーションのための標準品や参照パネル;標準品、自社標準物質の記載について ①国際標準品、②国際標準品で校正された国内標準品 ③国際標準品又は国内標準品とのデータの互換性が保証された自社標準物質等(参照品)</p>		<p>国内標準品は、IU単位で表示されている場合には国際標準品に対して校正されています。自社標準物質の作製について追記する必要があるか議論を行いたいと思います。</p>
	<p>ランコントロールについて、95%の検出感度の3倍量のランコントロールウイルスが必ず陽性になることを求めているが、HBVの検出感度はすでに数IUと非常に高感度であり、95%の検出感度の3倍量のランコントロールウイルスを設定することが困難である。ランコントロールの設定について適切な記載にしていきたい。</p>	<p>NAT法の技術革新が進み、高感度になったために非常に低濃度のランコントロールの調製が難しくなっている。</p>	

2-7) 判定基準の設定に関する事項			
	再試験の基準に関する記載が必要。		FDA ガイドラインの記載を参考に記載案を提案させていただきます。
2-8) 従事者の技術の標準化と向上に関する事項			
2-9) 汚染防止に関する事項			
	汚染防止対策は、最新の市販されている閉鎖系システムを用いなくて、インハウスの開放系を用いる場合に適用すべきである。		上記のコメント同様、適切な閉鎖系での対応をとる場合には、ここで書かれているような部屋の区別は不要とする記載を追記したいと思います。
3. 試験、検出結果の意義づけ			
3-1) 「陽性」と判定した結果の意義	ミニプール NAT で陽性と判断された場合に、個別検体を同定するスキームを明らかにする必要がある		個別検体を同定するフローを考慮するようにします
3-2) 「陰性」と判定した結果の意義			
3-3) 必要とされる検出限界値(*8)について			安全技術調査会の審議事項

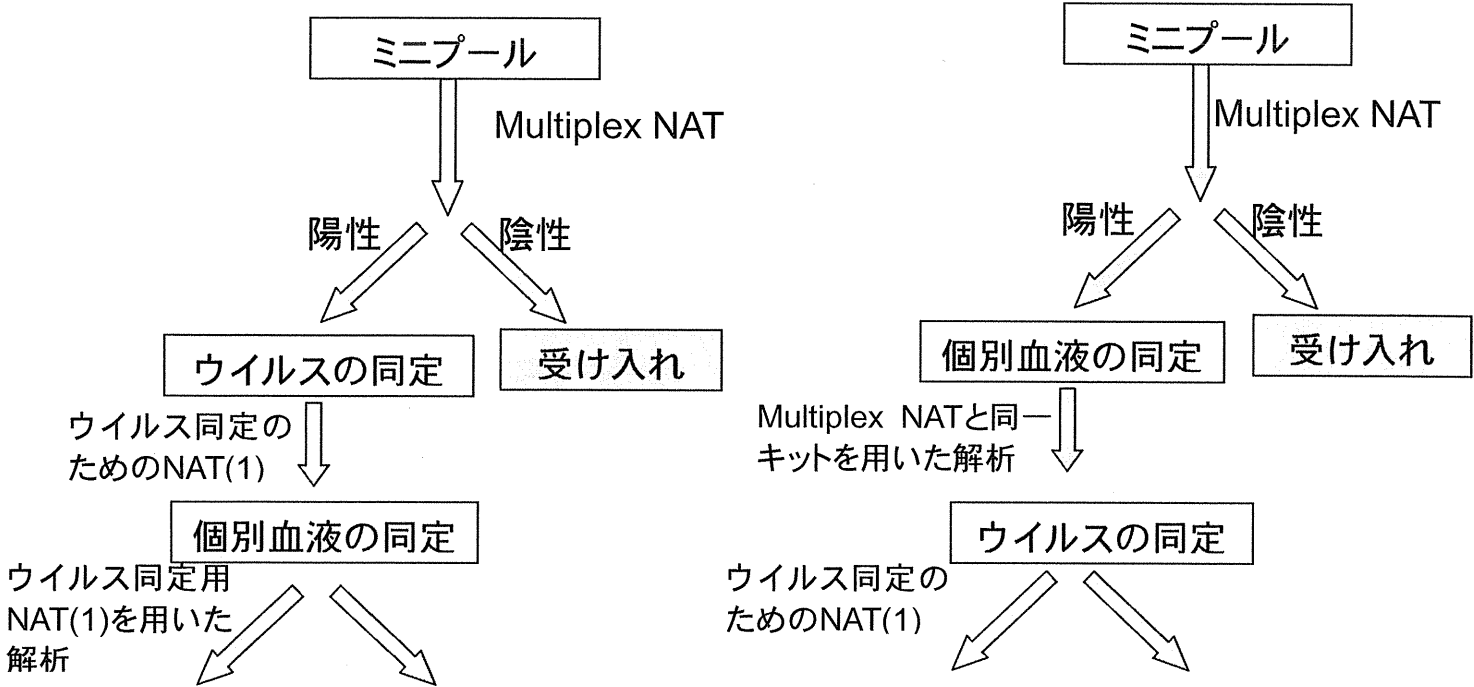


図1. Multiplex NAT試験におけるウイルスの同定と個別血液の同定

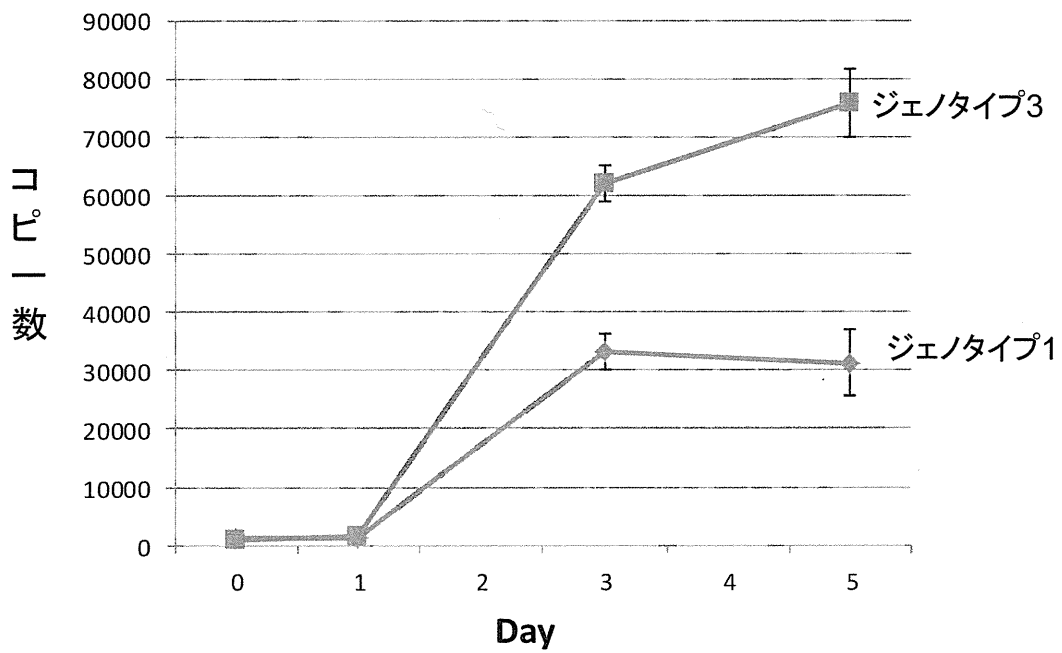


図2. Ku812 E2-4に2つのパルボウイルスB19ジェノタイプを感染させたときの
コピー数の変化

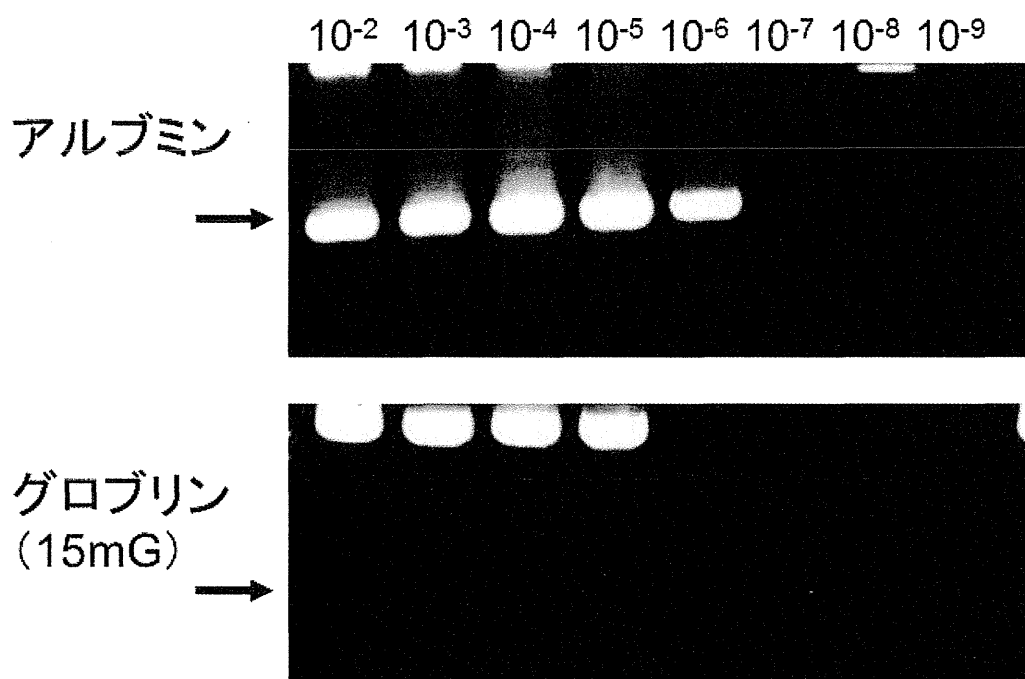


図 3 グロブリン製剤によるB19Vの中和活性

Guidance for Industry Nucleic Acid Testing (NAT) for Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and Hepatitis C Virus (HCV): Testing, Product Disposition, and Donor Deferral and Reentry. Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research May 2010 の要旨

I. ガイドラインの背景

最近の血液製剤の安全性確保の技術は充進しているが、HIV や HCV に関してウインドウ期(1)のドナーによる感染が懸念される。また、遺伝的あるいは免疫学的な変異に対する対応や測定エラーに対する安全対策が求められている。

NATによる HIV RNA の検出を行うことにより、抗 HIV 抗体の検査より 11-15 日のウインドウ期の短縮が期待され、また、HIV-1p24 抗原の検出よりも 5-9 日間の短縮となると推定されている(2-4)。NATによる HCV RNA の検出を行うことにより、抗 HCV 抗体の検査より 50-60 日のウインドウ期の短縮が期待されている。

また、NAT をしなければ HCV が陽性である確立は 100000 ドナーあたり 299 人であり、HIV が 9.7 人である。NAT を導入することにより HIV の検査のすり抜けによる感染リスクは 1/2135000 に、HCV は 1/1935000 に減少する(3)。

ガイドラインは HCV と HIV の NAT 試験、製品の廃棄、ドナーの適格性判断、ドナーへの結果の通知、ドナーのリエントリー、遡及調査について記載されている。

また HIV の HIVp24 抗原検査に代替できることをバリデートされていれば、HIV NAT を HIVp24 抗原検査に代えて使用することができるであろう。

NAT Algorithms

ミニプール血漿を対象とした HCV と HIV NAT で陽性結果が得られた場合には、どのドナーが陽性であるのかを追加試験を実施する必要あがる。さらに、陽性ドナーが判明した場合には、そのドナーの適格性を否定し、ドナーに結果を報告する必要がある。またドナー由来の原料を使用してはならない。また、ドナーが以前にも献血している場合には、NAT 陰性であっても感染する可能性があるとして認識し、対応をとる必要がある。

血液製剤や血漿分画製剤は連邦法の cGMP も基づいて製造されなければならない。

HCV や HIV 陽性となったドナーは過去にバイレミアとなる感染を起こしていることを意味しており、過去の献血血液の安全性を確認するために上記に対応に加えて遡及調査を行う必要がある。遡及調査の期間としては 1 年とする。一年以上に亘る遡及調査はウインドウ期の概念にはないので、それ以上の遡及調査は求められることはない。

血液製剤委員会に HCV や HIV NAT の実施に当たってのアルゴリズムについて諮問した。

例えば、ミニプール NAT で陽性であったのに個別 NAT を実施したところ陽性検体見つからなかった時の対応などである。これは、ミニプール NAT が擬陽性であったとも考えられるが、詳細な解析が終了するまで検体を隔離保管するべきと結論された。

本ガイドラインでは、NAT 陽性結果が出た場合のアルゴリズムが示めされている。アルゴリズムの設定にあたっては、HCV 及び HIV の血清学的試験が陰性であって、NAT 陽性になった場合の対応であって、その中には、製品の廃棄、ドナーの不適合基準、ドナーのホローアップ試験、ドナーへの通知、遡及調査が含まれている。

II. ドナーのリエントリー

多くの献血者が擬陽性や結果の確定判定ができないために適合性が否定され、献血適合性がないと判断されることも多い。このような場合の、再度適合性を判断する基準が必要とされている。再適合性の判定は複雑であり、既に HIV-1、HIV-2 に対する抗体や HCV 抗体試験が繰り返し陽性になった場合には不適合と判断するようにガイダンスを出していた。この新しいガイダンスでは適合性の判断に HCV HIV NAT を用いるものである。新しい判定基準では NAT と血清学試験によって実施されることになる。

III. NAT アルゴリズムの推奨

近年 HCV 及び HIV NAT 試験として採用されているのは HCV RNA と HIV RNA を同時に検出する Multiplex NAT ないしは、2つのウイルス RNA を別々に検出する単一ウイルス NAT 試験である。

III-1.

FDA の承認を受けた Multiplex HIV RNA/HCV RNA NAT によりミニプールが陽性である事が明らかになった場合には、承認製品の指示に従いどのドナーサンプルが陽性であるかを明らかにすること。試験のアルゴリズムに関してはキットの添付文書の指示に従うこと。通常 2つの方法が指示されている(図 1、表 1)。

方法 1 ; ミニプールから作製したサブプールを用いて NAT 検査を行う。この場合、すでに作製してあったサブプールを用いるのと新たにサブプールを作製するのと 2通りある。その上で、陽性サブプールの検査結果から個別陽性検体を探索することになる。

1. 試験ではミニプールに適用したのと同じ Multiplex NAT を適用することになる。
 - a. もし同じ Multiplex NAT 試験をサブプールに適用して全てのサブプールが陰性であった場合には、全ての個別ドナーについて血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適合性が示されることにより、全ての個別ドナーを出荷してもよいであろう。

NOTE

- b. 一つないしは複数のサブプールが陽性反応を示した場合には、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、陰性の反応を確認したサブプールの個別ドナーは全て出荷してよいとされる。サブプールでミニプール陽性反応を確認したのと同じ Multiplex NAT により陽性反応を示す個別ドナーを特定する必要がある。

NOTE

個別 NAT で陰性であった全ての個別ドナーは血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、出荷判定をしてよいであろう。

方法 2 : 24 人といったようにミニプールのサイズが比較的小さい場合、ミニプールを構成する個別ドナーについて直接 NAT 試験を適用することも可能である。

1. ミニプールを構成する全てのドナーの個別 NAT を適用する場合には、ミニプールと同じ Multiplex NAT を適用するべきである。

NOTE : もし試験法の添付文書で個別 NAT の実施に際しては異なる方法が指示されていたとしてもミニプール NAT と同じプライマー・プローブを用いるべきである。

- a. 全ての個別ドナーを対象とした NAT 試験が陰性であった場合には上記と同様にドナーの適格性が判断されたとしてよい
- b. 1 ないし複数のドナーが陽性であったばあいには、どのウイルスの感染かの確認試験、製品の廃棄、ドナーへの対応、遡及調査などの対応が必要である。

個別 NAT で陰性であった全ての個別ドナーは血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、出荷判定をしてよいであろう。

III-2.

ミニプールを用いて実施した HIV RNA 及び HCV RNA NAT で陽性結果が得られた場合に、試験キットの指示で単一のウイルスに関する NAT によりどの検体が陽性なのかを判定する必要がある。一般に、ミニプールなかのどのロットが反応性を有しているのかを判定するには 2 つの方法がある (図 2 と表 2)。

方法 1 : NAT 陽性となったミニプールを構成するサブプールを再構築することができる。このミニプールの再構築では、個別ドナーを確認できるようになることができる (縦横のマトリックスを組んでサブプールを作製する) ようにしなければならない。

1. NAT 陽性のミニプールからサブプールを作製する場合に、ミニプールで実施したのと同じ単一ウイルスを検出する NAT を元のミニプールから作製したサブプールあるいは新たに作製したサブプールについて試験を行う。

NOTE: 測定キットの指示書には異なるサンプルの調製法が示されていることもあるかもしれないが、再試験の際は同じプライマー・プローブを用いる必要がある。

a. 陰性であったサブプールを構成する個々のドナー血漿は、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることとあわせて、ロットリリースをしてよいであろう。

b. 1 つないし複数のサブプールが陽性反応を示した場合には、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、他のイン正反応を示したサブプールの個別ドナーをロットリリースしてよいであろう。陽性反応を示したサブプールの個々のドナーについて、元のミニプールと同じ単一のウイルスを検出する NAT によりどのドナーが陽性であるのかを明らかにする必要がある。

(1) 全ての個別ドナーが陰性であった場合には、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、全ての個別ドナーをロットリリースしてよいであろう。

(2) 1 つないしは複数の個別ドナーが要請であった場合には、陽性ドナーに他の場合と同様に通知や対応が求められる。

方法 2 : 24 人ぐらいの比較的小さいミニプールの場合には、ミニプールを構成する個別ドナーを直接 NAT により検査することも可能である。

2. NAT 陽性ミニプールを構成する個別ドナーについて試験を行う場合には、ミニプールで実施したのと同じ単一ウイルスに対する NAT を実施する必要がある。

NOTE: 測定キットの指示書には異なるサンプルの調製法が示されていることもあるかもしれないが、再試験の際は同じプライマー・プローブを用いる必要がある。

a. 全てのドナーが陰性の場合には、IV B 1.b (1) に従い、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、全ての個別ドナーをロットリリースしてよいであろう。

b. 一つないしは複数のドナーが NAT 陽性であった場合には、D. の血清学的試験が陰性であって個別 NAT 陽性のドナーに対する対応としてドナー血液の廃棄、ドナーの管理、遡及調査などの実施する必要がある。

ドナーが陰性の個別ドナーは、血清学的試験が陰性であること、ドナーとしての適格性が示されることにより、ロットリリースしてよいであろう。

次に最近 FDA が承認した HIV-1 RNA と HCV RNA の個別 NAT 試験は、HIV-1 RNA と HCV RNA を同時に検出する Multiplex NAT と 2 つのウイルスの RNA を別々に検出する

NATがある。

III-3. 血清学的な検査が陰性のドナーを Multiplex NAT で個別試験を実施する際の試験法、製品の廃棄、ドナー管理、遡及調査

個別ドナーサンプルを用いて HIV-1 RNA/HCV RNA の Multiplex NAT で陽性反応が見られた場合には次のような対応を取らなければならない。

1. いずれのウイルスかを明らかにするための試験を実施する必要がある
 - a. HIV と HCV を分別できる NAT により HIV-1 RNA や HCV RNA が陽性との判定が出た場合には、献血バックを貯留保管しなければならない。FDA610.40(h)(2)(ii)(A)に記載されている例外以外には陽性バックを出荷あるいは使用してはならない。

もし陽性バックを廃棄しない場合で、研究用に用いることや FDA 610.40(h)(2)(ii)(A)に従う記載に基づき製造に用いることも可能である。陽性バックの一つをこのような目的で使用する際には、バイオハザードのラベルをすること。
 - b. もし分別のための HIV-1 RNA と HCV RNA NAT 結果の反応性が認められなかったときには、分別反応での陰性サンプルとみなす。

Guidance for Industry

Nucleic Acid Testing (NAT) for Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and Hepatitis C Virus (HCV): Testing, Product Disposition, and Donor Deferral and Reentry

Additional copies of this guidance are available from the Office of Communication, Outreach and Development (HFM-40), Suite 200N, 1401 Rockville Pike, Rockville, MD 20852-1448, or by calling 1-800-835-4709 or 301-827-1800, or email ocod@fda.hhs.gov, or from the Internet at <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

For questions on the content of this guidance, contact OCOD at the number listed above.

**U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Biologics Evaluation and Research
May 2010**