

# 日本「百日咳、白喉、破傷風混合疫苗之品質管制試驗與臨床相關性」會議紀要

陳惠芳

應日本國立感染症研究所(National Institute of Infectious Diseases, NIID)之邀請，筆者參加九十一年十一月十八日至十九日在東京所舉辦之「百日咳、白喉、破傷風混合疫苗之品質管制試驗與臨床相關性會議」(Conference of Quality Control Tests for DTP and DTaP Vaccines and Clinical Relevance)，獲邀參加之我國人員尚有行政院衛生署疾病管制局許須美副局長及長庚兒童醫院主任周怡宏醫師；與會者除了主辦單位國立感染症研究所副所長 Dr. Takeshi kurata、Dr. Horiuchi、Dr. Takahashi 等日本國立感染症研究所之官員與我國人員外，還有韓國、中國大陸、泰國、印度尼西亞等國之國家藥物檢驗負責官員及疫苗副作用監測負責衛生官員，總共約有五十人參加此會議。

## 背景說明

日本國立感染症研究所屬於世界衛生組織之共同研究實驗室，目前正執行世界衛生組織所委託其進行有關全細胞型與非細胞型百日咳、白喉、破傷風混合疫苗區域性品質管制系統之建立計畫。為執行該計畫，NIID 曾於 2000 年 10 月在東京舉辦相關之座談會，鑑於各參與國之檢驗方法、技術及相關標準之差異，遂於會中決議將舉辦 DTP 檢驗技術相關之研習營並製備檢驗所需標準品，藉此整合亞洲各國對 DTP 類疫苗品質之檢驗。

繼而該所於 2001 年 11 月在東京舉辦為期十四天的「DTP 及 DTaP 品質管制技術整合研習營」，受邀參與的國家除我國外，尚有中國大陸、南韓、泰國、印尼等國，研習營之重點為相關試驗之實地操作外並進行 Bioassay Assist 程式之培訓，以將 NIID 自行開發並使用多年之 Bioassay Assist 程式能為各參與國應用於其疫苗品質管制之檢驗，期藉由此檢驗技術之整合，減少彼此之間實驗的差異，增加實驗數據之再現性及可信度，以利共同合作研究計畫之執行。

日本 NIID 官員 Dr. Yoshinobu Horiuchi、Dr. Masaaki Iwaki 與 Dr. Masaki Ochiai 於 91 年 3 月初訪台並參加「白喉破傷風百日咳混合疫苗品質管制座談會」，除瞭解我國於研習營所研修之檢測方法及電腦程式實際應用情形外，並為尋求實驗室檢驗資料與接種後副作用調查、研究等資料間的相互交流合作，以達到改善疫苗品質之目的。接著便擬定 91 年 11 月於東京召開有關實驗室品質管制試驗與臨床相關性之會議，此乃本次會議之由來。

## 會議過程

會議第一天（18 日）上午在 Dr. Horiuchi 開場致辭後，即陸續由各國衛生官員進行演講。首先印尼國家疫苗檢驗負責主管 Dr. Sri Kusmartini 演講「Quality Control of DTP Whole Cell Vaccine in NQCLDF Indonesia」，介紹了該國負責疫苗檢驗機構 NQCLDF（National Quality Control Laboratory of Drug and Food）之成立、組織架構與各實驗室，在印尼由 National Regulatory Authority 負責藥品許可與稽查，由 NQCLDF 負責疫苗之批次放行（lot release）與檢驗，另由 CDC 負責疫苗副作用之監控（field surveillance）；NQCLDF 為 WHO 之共同實驗室，亦獲 ISO-25 與 ISO-17025 之認證，在 NQCLDF 有 Therapeutic Product & Hazardous Substance、Cosmetic and Traditional Medicine、Food、Biological Product 與 Microbiology 等五個業務組，其中之 Biological Product 組有疫苗品質管制、Toxicology 與 Pharmacology 等三個實驗室，其疫苗品質管制實驗室負責疫苗之批次放行與檢驗，對於疫苗之品質管制採檢驗與書審並重，以 2002 年對包括 BCG、DPT、DT、TT、Polio、Measles、Rabies、Hep B 等 8 種疫苗，所放行之 868 批疫苗中，有 324 批為經檢驗後放行而有 544 批為審查資料評估後放行的。在印尼所使用 DPT 疫苗均為該國一家官方疫苗廠所生產之全細胞型 DPT（DTwP），年產量約 50 批，Dr. Sri Kusmartini 亦報告該單位對於所放行 16 批次 DTwP 疫苗所進行百日咳疫苗效價與 HS activity 之試驗結果趨勢分析，然因以 HS activity、BWD toxicity 與 LP Activity 應用於 DTP 疫苗安全性之定量評估，目前僅 DTaP 有判定規格，若要應用該等方法於 DTwP 疫苗安全性之判定，仍有待國際標準之建立。

再由印尼 national Expanded Program on Immunization（EPI）衛生官員 Miss Jane Soepardi 就「AEFI Surveillance in Indonesia」進行演講，介紹印尼五年前成立之疫苗副作用監控系統 AEFI（Adverse Event Following Immunization）Surveillance System（under CDC），包括有中央（national AEFI）、地方之省（province AEFI）、區域（district AEFI）等，並說明 AEFI

之報告與調查流程，僅有 severe case 才會報告到 national AEFI，其疫苗不良反應報告標準格式乃參照加拿大之格式而制訂的，但地方之 AEFI 訓練尚未建立或不足。對於將來因應此 DTP 疫苗品質改善研究計畫之進行，認為有三方面仍需要加強，即臨床診斷標準化、AEFI 訓練及與 National Regulatory Authority 之協同合作。

接著泰國國家疫苗檢驗負責主管 Dr. Teeranart Jivapaisarnpong 就「Study on pertussis toxin activities of DTP and DTaP vaccines used in Thailand」進行演講，她陳述 WHO 之 critical function for vaccine control system，包括有 licensing、regulatory GMP inspection、lot release system、laboratory testing、clinical evaluation 與 post-marketing surveillance 等，同時也介紹在泰國對疫苗之管理採批次放行制度，措施採取三種作法，包括 1. 審核批次產品成績書 (review summary production protocol, batch record)，包括主成份含量 (active ingredient content) 與品質檢定結果 (results of quality control tests) 2. 對最終成品進行 QC 試驗 (repeat QC tests of finished product) 3. 利用趨勢分析評估產品品質之一致性 (定性單位, quantitative unit)。並說明泰國從 2002 年 10 月至 2003 年 9 年將進行 HS activity、BWD toxicity、LP Activity 與 endotoxin (LAL) 等試驗，作為 DTP 疫苗安全性之定量評估 同時介紹泰國 FDA 於 1983 年成立 NADRMQ (Adverse Drug Reaction Monitoring Center)，1984 年時泰國之 NADRMQ 參與 WHO program for international Drug Monitoring as 26<sup>th</sup> member country，於 1992 年成立 ADR Network 涵蓋 800 家醫院，1997 年 NADRMQ 更名為 NAPRMC，對於所有 health products 進行副作用之監測 在泰國疫苗副作用報告案例以狂犬病疫苗 (Rabies vaccine) 最多，依序次之為 Tetanus toxoid、Pedvax-HIB、Influenza 與 DTP，Rabies vaccine 係使用鼠腦進行生產，現進口以細胞培養法所製造之疫苗。

緊接著由泰國疾病管制部官員 Mrs Kanoktip Thiparat 就「Adverse events following immunization (AEFIs) surveillance and investigation in Thailand」介紹成立於 1997 年之泰國 AEFI system，該系統乃在其已建立之疾病監測系統下運作，故其 AEFI 之通報可涵蓋醫療行政與醫療服務之每一層級，不論在中央或地方。其通報內容包括局部副作用、中樞神經系統副作用及其它副作用，如過敏反應、發燒等等。同時亦介紹 AEFI network，共有 sub-district (health center) district (district health office) province (provincial health office) 與 center (Bureau of Epidemiology) 四個層級，由地方往中央一層層通報，在 province 發生之 AEFI 需於 24 小時內報至 provincial health

office，若有嚴重不良事件、cluster 或死亡發生時需於 24 小時內報至 Bureau of Epidemiology，較不嚴重者則需於 1 星期內通報。AEFI 調查種類又分成個案調查 ( individual case investigation ) 與爆發調查 ( outbreak investigation )，個案調查由 provincial team 進行調查後再將調查結果建檔，每月給 CDC 之 national Expanded Program on Immunization ( EPI )、FDA 之 National Regulatory Authority ( NRA ) 與 National Adverse Product Reaction Monitoring Center ( NAPRMC ) 及 National Control Laboratory ( NCL ) 等機關總結報表。至於爆發調查則由中央成立工作小組進行調查，該小組成員包括 Bureau of Epidemiology 與 EPI、NRA 及 NCL 人員等，調查結果將送至 NRA 與 NCL。

第一天下午輪到我國代表演說，首先由筆者簡單介紹我國對疫苗之管理制度與筆者服務單位-行政院衛生署藥物食品檢驗局對疫苗品質所擔任之任務後，並就我國參與該計畫之執行成果「Collaborative study on quality control of DTwP and DTP vaccines used in Taiwan」進行報告，內容涵蓋「The application of CCM method to determine the diphtheria toxoid potency in combination vaccines for quality control in Taiwan」與「Evaluation of the residual pertussis toxicity of DTwP and DTaP vaccines available in Taiwan by the mouse body weight-decreasing test and the mouse histamine-sensitizing test」，前者研究係利用綠猴腎上皮細胞培養方法( Vero Cell Culture Method; CCM )，對進口及國產之相關疫苗進行白喉效價品質管制檢測之分析。先將對照標準品 ( NSD lot 4 ) 及檢測疫苗分別稀釋成三種濃度後，分別以 0.5 毫升腹腔注射方式免疫於 5 週齡之小鼠 ( ICR strain ) 各十隻及 0.75 毫升皮內注射方式免疫於 450 550 克之天竺鼠 ( Hartley strain ) 各六隻，四週後心臟採血並分離血清進行血清抗體效價之檢測，再利用日本厚生省感染症研究所提供之 Bioassay assistant program 統計分析軟體，進行數據統計分析，結果發現各廠牌之疫苗經以 CCM 檢測之白喉抗體力價相對效價，在小鼠及天竺鼠部份，檢測結果均高於世界衛生組織所訂定之最低檢測合格標準 ( 47 IU/mL )；研究結果亦顯示 CCM 法優於傳統活體內試驗法，其最低檢測極限可達 0.0025 IU/mL，乃為一種低成本、快速又操作簡便、敏感性高、專一性及再現性高、又可同時檢測至少 480 個血清樣本的檢測方法。第二篇論文發表乃報告於我國 DTP 類疫苗例行封緘檢驗時，同時以小鼠體重減輕試驗 ( Mouse body weight-decreasing test ) 與小鼠組織胺敏感試驗 ( Mouse histamine-sensitizing test ) 進行其百日咳疫苗毒性之檢測，期能由實驗室數據與臨床副作用調查研究資料相互比較，了解實驗室動物試驗的結果與實際

接種時副作用發生之相關性，進而達到改善 DTP 類疫苗品質之目的。總計對 21 批疫苗進行試驗，其中有 12 批 DTaP（來自 A、B、C、D 製造廠）5 批 DTwP（來自 C 製造廠）4 批 DTaP-IPV（來自 A 製造廠）。其結果如下：7 批來自 A 廠 DTaP 疫苗平均為 34.2 BWDU/mL 與 0.24 HSU/mL、3 批來自 B 廠 DTaP 疫苗平均為 5.9 BWDU/mL 與 0.10 HSU/mL、1 批來自 C 廠 DTaP 為 216 BWDU/mL 與 0.17 HSU/mL、1 批來自 D 廠 DTaP 疫苗為 7.2 BWDU/mL 與 0.11 HSU/mL；4 批來自 A 廠 DTaP-IPV 疫苗平均為 37.4 BWDU/mL 與 0.29 HSU/mL；5 批來自 C 廠 DTwP 疫苗平均為 682.2 BWDU/mL 與 3.85 HSU/mL。總之，試驗結果發現 DTwP 疫苗較 DTaP 疫苗具有較高之百日咳毒性，來自 A 製造廠所生產之 DTaP 疫苗與 DTaP-IPV 疫苗於小鼠體重減輕試驗與小鼠組織胺敏感試驗之結果彼此無差異性。將所有產品於 37 放置 4 週後的樣品，進行測試，發現均無毒性回復的現象發生。接著由疾病管制局許須美副局長就「The vaccine injury compensation program and adverse reaction of DTP vaccine in Taiwan」演說，介紹我國之預防接種受害就救濟制度與因接種 DTP 疫苗受害之案例統計分析。再由長庚醫院周醫師發表與筆者服務單位共同研究之成果“A survey of safety and reactogenicity in relation to toxic reaction of whole-cell and acellular DTP vaccines in a well-baby clinic”。

之後，由中國大陸 National Institute of the Control of Pharmaceutical and Biological Products (NICPBP) 血清部門主管 Dr. Zhang Shumin 就「Quality control of aDTP in China」進行演講，aDTP 在中國大陸之製造技術源自日本之方法，對 acellular pertussis 採 PT 與 FHA 共同純化方法，於 1980 年代晚期開始製造，目前有五家 aDTP 疫苗製造廠，由 NICPBP 負責疫苗品質管制，目前檢驗上所面臨之問題為疫苗標準品（reference vaccine）與毒性試驗標準品（reference standard for the toxicity）之來源。

接著由 NICPBP 之副所長 Dr. Lei Dianliang 報告「Adverse events following immunization (AEFI) of DTP vaccines in clinical trials」，在中國大陸 DTwP 每年生產 1.2 億劑，而 DTaP 每年生產 8 億劑，Dr. Lei 並報告該所自 1980 年代起為評估 DTwP 與 DTaP 疫苗之有效性與安全性而所進行臨床試驗之結果，發現接種 DTwP 者有 5% 會有 fever ( $>38.1^{\circ}\text{C}$ ) 副作用，而進口之 DTaP 疫苗較大陸自己製造之 DTaP 疫苗有高含量之鋁，故局部副作用比率較大（15% 對 1-5%）。

最後由韓國生物製劑評估中心細菌性製劑組主管 Dr. Sook-Jin Hur 就「Age related immunoseropidemiological study to tetanus and pertussis in Korean population」進行報告，他們研究發現年齡大於 30 歲者對破傷風桿菌之免疫力已下降，而大於 20 歲者之 anti-PT 亦已下降。因此建議對成人進行 Td 之接種及對於大於 20 歲者進行百日咳疫苗之再接種。

第二天(十九日)則由日本國立感染症研究所官員報告相關研究成果，首先由 Dr. Horiuchi 演講「Quantitative quality control test results and their effective utilization in the routine quality control」，說明量化之品質管制試驗不僅可有效地提供或評估臨床相關性，並對品質管制可提供更準確與可信賴之科學基礎，而技術整合之目標為改善效價試驗與安全性試驗標準化之可信度；但標準化所面臨之問題，包括 1. 不同老鼠品系可能影響百日咳效價試驗時對免疫性與 challenge 時間有不同之敏感性，以及影響百日咳毒性試驗之敏感性與反應。2. 產品之特性不同，如是否全細胞型百日咳疫苗以及輔佐劑 (adjuvant、gel) 之濃度。同時說明 pertussis toxin 可在注射後 4-7 天內反而增加老鼠體重，因此以老鼠體重增加試驗 (如異常試驗或安全性試驗) 評估 pertussis toxin 之安全性並不可行。動物試驗結果發現 BWD toxicity 與 LAL 含量較有關，LAL 含量與臨床 Febrile reaction 有相關性，另外 residual pertussis toxin activity (reversion) 則與局部 swelling 有關，Dr. Horiuchi 同時強調此國際共同合作計畫之優點，為共同合作試驗之標準化與互相使用實驗之安全性資料以減少不良事件，且更了解品質試驗數據與臨床之相關性，以評估疫苗對人之風險。

繼而由 Dr. Motohide Takahashi 實驗室之 Dr. Tadashi Fukuda 演講「Establishment of Asian regional reference tetanus toxoid and influence of difference in mouse strain on tetanus potency test」與 Dr. Takako Komiya 演講「Utility of the cell culture method (CCM) for diphtheria toxoid potency test in ICR mice」，除比較 ddy 與 ICR 品系老鼠之免疫反應，以評估其他國家能應用 CCM 方法於白喉類毒素效價之測定。同時對破傷風類毒素區域標準品 candidate 以國際標準品估計其效價，並評估不同品系 slc:ddy slc:ICR 及 Crj:ICR、等品系老鼠對破傷風類毒素之免疫反應能力，結果發現 slc:ddy 與 Crj:ICR 老鼠對破傷風類毒素具有相當敏感性之免疫反應能力，但 slc:ICR 只有 slc:ddy 之一半敏感性。

後由 BIKEN 之 Dr. Yoshikazu TADA 演講「Quality Control of APV Bulk to export to USA」, BIKEN 與美國 Connaught Laboratory Inc. 有技術轉移合約, 其提供 acellular pertussis vaccine bulk 給該公司製成 Tripedia (DTaP), Tripedia 佔美國市場二分之一, 而 BIKEN 曾經受過美國 FDA CBER-ORA 二次之查廠(3人五天/次) 接著由 Dr. Horiuchi 實驗室之 Dr. Akihiko Yamamoto 演講「Enhanced sensitization of mice with diphtheria tetanus acellular pertussis vaccine to local swelling reaction to the booster immunization」, 說明以 mouse hind-paw swelling model 證明了 DTaP booster 時, 局部 swelling 反應與 pertussis toxin 有關, 管控再次接種 DTaP 之 HS activity 可降低嚴重之局部反應。最後由 Dr. Masaaki Iwaki 演講「Diversity of *Corynebacterium diphtheriae* antigen genes」以及 Dr. Kodama 演講「Genomic DNA analysis of *Bordetella pertussis* strains clinically isolated in Japan」。

## 心得與建議

1. 日本國立感染症研究所為世界衛生組織之共同研究實驗室, 為建立全細胞型與非細胞型百日咳、白喉、破傷風混合疫苗品質管制系統而發起國際性共同研究計畫, 我國有幸於 2001 年即獲邀參與該計畫, 此乃自我國退出聯合國後, 在無法參與世界衛生組織各種官方活動下, 首次獲邀參與官方所舉辦之跨國性共同研究計畫。且此次應日本國立感染症研究所 (NIID) 之邀請, 參加其所舉辦之國際性會議並於會中發表演講, 亦為首次之舉, 值得珍惜。
2. 於此次會議中所發表我國參與該計畫之執行成果, 並由周醫師發表與筆者服務單位共同研究之成果, 此二篇論文深受與會人員之重視與討論, 因我國在此共同研究計畫之執行進度領先其他獲邀參與國家且成果極佳, 獲得與會官員之熱烈討論與肯定, 尤其是獲 NIID 副所長 Dr. Takeshi kurata 與計畫主持人 Dr. Horiuchi 之稱讚, 表示我國在檢驗研究方面已達國際相當水準。
3. 藉此次會議與日本、韓國、泰國、印尼等國衛生官員交流並建立了極佳之友誼, 與中國大陸與會代表亦有良好互動期待下次會議再見, 且主辦單位對我國平等對待, 此次參加國際性會議可謂獲益良多。
4. 此次會議了解日本、韓國、泰國、印尼、中國大陸等各國對疫苗之品質管理作業之情形, 其作業與我國之疫苗批次放行作業大致相似, 然對疫苗接種後不良反應追蹤報告系統以泰國之 AEFI system 最為完善, 值供為各國之楷模。
5. 藉由此種檢驗技術經驗之交流, 除可提升我國疫苗品質檢驗技術之水準, 開拓與亞洲各國政府檢驗機構間之互動合作, 更可增進我國參與世界衛生組織

委託研究計畫之機會，俾便對於積極推動我國參與世界衛生組織會員國之願景能早日達成有所助益。

6. 我國目前並無三合一疫苗效價與毒性試驗檢驗所需之國家標準品或參照品，以往常常依賴美國或由 NIBSC 供應標準品，但因取得數量有限，且有的標準品取得日益困難，對檢驗業務之執行時效影響頗鉅，更會影響我國檢驗研究之進行；反觀鄰近之日本、中國、南韓及泰國等國家均已先後各自完成製備並標定效價與毒性試驗所需之國家標準品。為因應世界之趨勢，我國也已開始著手規劃生物製劑國家標準品之製備，除了將申請相關科技經費，並研擬人才出國之培訓，希望能快速提昇我國國家標準品之自製率，並藉標準品之共同標定，建立我國與亞洲各國官方間技術與經驗交流之橋樑，獲得其對我國衛生技術之印象與重視，以增加我國參與世界衛生組織各種相關活動之機會。
7. 應多鼓勵同仁參加世界衛生組織共同實驗室所舉辦之國際性會議或共同研究計畫，以便在我國目前尚無法參加 WHO 組織情況下，有機會與各國官員進行交流，開拓與各國政府檢驗機構間之互動合作，以便獲得參與世界衛生組織共同研究計畫之機會，提升我國之檢驗研究水準，獲得其他國家官員之肯定與友誼，有助於我國參與世界衛生組織會員國之願景早日達成。

## 藥物食品簡訊投稿須知

- 一、本刊歡迎有關藥物食品檢驗與稽查，暨有關法令之異動消息等稿件，惟不接受轉載國內其他刊物之文章。
- 二、投稿如係譯述，請隨稿附原文以便查對，如係參考多篇文獻整理而得，請列明主要參考文獻。
- 三、本刊編輯委員會有權修改來稿，惟如做重大修改，將於徵得投稿人同意後，方行刊載，不同意者請事先聲明。
- 四、投稿請以 MS word 繕打並存成電子檔，插圖請提供清晰之圖片或掃描成電子檔，以便排版刊出，未獲選用之文章，當即退回。
- 五、本刊稿酬每千字一般撰稿七百元，特別撰稿一千元，特別譯稿九百元，凡經本刊發表之文章，得彙編成藥物食品叢書，不另計酬亦不辦理投稿人同意手續。
- 六、投稿請寄臺北市南港區昆陽街 161 之 2 號，藥物食品檢驗局圖書室或以 e-mail [service@nlfld.gov.tw](mailto:service@nlfld.gov.tw) 傳送。