

人類乳突病毒疫苗品質評估調查研究

詹蕙嘉 杜慧珍 吳庭妮 朱廣中 王德原 施養志

食品藥物管理局研究檢驗組

摘要

人類乳突病毒疫苗，為近年來上市用於預防子宮頸癌之自費高單價疫苗，其運送儲存環境由廠商與醫療院所自行管理；由於疫苗產品屬於對環境溫度敏感之生物藥品，不當的儲運溫度可能導致疫苗品質不佳甚至喪失其效力。為了解自費疫苗品質現況及其儲存環境管理情況，本計畫針對目前市售之人類乳突病毒疫苗進行效能評估調查研究。國內上市之人類乳突病毒疫苗2張許可證，分別為美商默沙東藥廠股份有限公司台灣分公司(Merck Sharp & Dohme Corp., MSD)生產之嘉喜〔四價人類乳突病毒(第6, 11, 16, 18型)基因重組疫苗〕，及荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司台灣分公司(GlaxoSmithKline Biologicals s.a., GSK)生產之保蓓人類乳突病毒第16/18型疫苗。本計畫執行期間共赴9縣市且協同各地衛生局稽查人員進行抽樣，並查訪基層醫療院所了解其儲存狀況。而後依據各原廠檢驗方式進行Type 16及18之效價試驗及類病毒微粒(virus-like particle, VLP)游離試驗，確認該疫苗之有效性；100年共完成檢體抽樣作業23件。其中包含12件MSD產品及11件GSK產品。檢驗結果顯示MSD及GSK生產之二種人類乳突病毒疫苗，其Type 16及18之效價試驗結果，尚符合衛生署核定之規格，而類病毒微粒游離試驗分析結果，亦顯示其抗原完整性符合原廠規範。另外，經查訪各醫療院所及倉儲公司之冷藏儲存環境管理情況，發現儲存疫苗之冷藏冰箱無專用之不斷電系統及管理人員沒有每日記錄溫度，為最主要之儲存環境發現狀況，另冷藏裝置內無溫度計為嚴重之發現狀況。本調查結果將提供行政管理參考。

關鍵詞：人類乳突病毒疫苗、後市場調查

前言

癌症高居十大死因之首，而子宮頸癌(cervical cancer)在全世界婦女癌症中排名第二位⁽¹⁾，每年全世界有大於25萬人口死於子宮頸癌，其中又以南非、拉丁美洲及南亞等開發中國家居多，約佔80至85%。子宮頸癌的發生率及死亡率於開發中國家約為已開發國家的四倍，為這些國家中單一病因造成極大生命損失的疾病，且多影響於學齡兒童，而這些兒童的死亡對於社會結構造成巨大的負面衝擊⁽²⁾。台灣雖已屬高度開發國家，子宮頸癌在過去三十年來仍一直造成台灣婦女的威

脅，罹患率在所有女性癌症中高於20%，而在女性癌症死亡率中則佔了10%的比例。根據97年癌症登記紀錄報告顯示，子宮頸癌惡性腫瘤發生個案數佔全部惡性腫瘤發生個案數的2.16%，而惡性腫瘤死亡人數佔全部惡性腫瘤人數的1.98%。發生率的排名於女性為第5位；死亡率的排名於女性為第六位，當年死因為子宮頸惡性腫瘤者共計813人⁽³⁾。

在全世界所有的區域中，有70%左右的子宮頸癌可歸因於人類乳突病毒第16及18型。美商默沙東藥廠股份有限公司所生產之嘉喜〔四價人類乳突病毒(第6, 11, 16, 18型)基因重組疫苗〕(Gar-

dasil™，以下簡稱嘉喜疫苗)於95年取得台灣第1張人類乳突病毒疫苗之許可證，嘉喜疫苗是將第6、11、16及18型人類乳突病毒之主要外鞘蛋白(L1 protein)所形成的類病毒微粒(VLPs)予以高度純化後製備而得之非感染性基因重組四價疫苗。適合9-26歲之女孩及女性施打，用於預防由第6、11、16及18型人類乳突病毒所引起的子宮頸癌、生殖器疣(尖形濕疣)等病變⁽⁴⁾。

荷商葛蘭素史克藥廠(GlaxoSmithKline Biologicals s.a., GSK)所推出的保蓓人類乳突病毒第16/18型疫苗(Cervarix™，以下簡稱保蓓疫苗)於97年在台灣核准上市。保蓓疫苗是一種將致癌性人類乳突病毒第16/18型之主要外鞘蛋白所製成的類病毒粒子，予以高度純化後製備而得的非感染性基因重組疫苗，適用於10-25歲女性，可預防致瘤型人類乳突病毒第16與18型引起的偶發性及持續性感染，且能預防與這兩型病毒相關之子宮頸上皮內贅瘤等癌前病變，進而預防子宮頸癌。以上2種疫苗接種需依醫生指示以肌肉注射的方式施打於上臂的三角肌區域，時程均為第0、1、6個月共三劑⁽⁵⁾。

另外，溫度是影響疫苗品質的關鍵點，溫度過高或過低都會對疫苗造成影響，根據文獻統計，估計疫苗每年可以保護約3億人口的健康⁽⁷⁾，因此如何從製造廠至施打者運送過程中保護疫苗效價便成為一個重要課題。依據文獻結果顯示白喉疫苗(diphtheria)、破傷風疫苗(tetanus)、百日咳疫苗(pertussis)、b型嗜血桿菌疫苗(*Haemophilus influenzae type b*, Hib)、B型肝炎疫苗(hepatitis B)及不活化小兒麻痺疫苗(inactivated polio virus, IPV)等對低溫較敏感的疫苗，會因溫度過低而導致疫苗效價及品質下降⁽⁸⁻¹⁰⁾。世界衛生組織(World Health Organization, WHO)規定所有疫苗除了小兒麻痺口服疫苗(oral polio vaccine, OPV)外，其餘皆須保持存放於2-8°C，以避免疫苗遭受低溫或高溫傷害。適當的疫苗冷運冷藏系統包括了冷藏設備(2-8°C)、冷凍設備(-15°C以下)、緊急供電設備、溫度監控裝置及良好的運送配備如冷藏車、冰桶等。另外，疫苗之存放應標示排列整齊，放置於適當位置，並盡量避免放置於門邊，應有專人管

理及良好的擺放取用原則。國人使用之疫苗，部分為衛生署公費補助施打，該類疫苗由疾病管制局及各地衛生局共同輔導監督其轄區衛生所及合約醫療院所之儲存環境，藉此確保疫苗之品質；而人類乳突病毒疫苗屬民眾可選擇自費施打之高單價疫苗，其儲存環境不屬疾管局輔導控管，由醫療院所自行管理，為了解該類疫苗之末端儲存管理情況及品質現況，本計畫針對市售之人類乳突病毒疫苗進行效能評估調查研究，期望藉此調查結果以作為後續產品品質控管之參考，並保障民眾健康與接種之有效性。

材料與方法

一、材料

(一)檢體

本研究分析之檢體為台北市政府、新北市政府、台中市政府、台南市政府、高雄市政府衛生局及各縣市衛生局就轄區內醫療院所及藥廠源頭進行抽驗，共完成23件檢體之抽樣，檢體資料詳如表一。

(二)標準品與試藥

表一、市售檢體來源分布統計

品名	嘉喜〔四價人類乳突病毒(第6, 11, 16, 18型)基因重組疫苗〕				保蓓人類乳突病毒第16/18型疫苗	總計
	醫療院所	源頭抽樣	醫療院所	源頭抽樣		
台北市	1	0	1	0	2	
新北市	1	0	1	0	2	
基隆市	1	0	1	0	2	
桃園縣	1	2	1	2	6	
新竹縣	1	0	1	0	2	
台中市	1	0	1	0	2	
台南市	1	0	1	0	2	
高雄市	2	0	1	0	3	
宜蘭市	1	0	1	0	2	
合計	10	2	9	2	23	

1. 保蓓人類乳突病毒第16/18型疫苗：Sodium Phosphate monobasic (Sigma, SH30013.02), Casein (Sigma, C3400), Single component TMB, Biotinylated mouse anti-IgG antibodies, Streptavidin-biotin-peroxidase complex, Negative rabbit serum, Anti-HPV rabbit polyclonal antibodies (type 16, 18), Anti-HPV mouse monoclonal antibodies (type 16, 18), HPV vaccine standard (type 16, 18), HPV vaccine internal control (type 16, 18), Reference vaccine, 0.4 N H₂SO₄ (以上皆為原廠提供)
2. 嘉喜人類乳突病毒疫苗：Tri-Sodium Citrate dihydrate (Merck), Sodium Phosphate Dibasic (Sigma, S-7907), Sodium Phosphate monobasic (Sigma, S-8282), Sodium chloride (Fisher Scientific, S-271), Tween 80 (Sigma, P8074), PBS (Sigma, P3813), PBST (pH 7.4, Sigma P3563), Bovine Serum Albumin (Sigma, A-7906), TMB (Sigma, T-8665), Phosphoric acid (Fisher Scientific, LC 18650-1), Anti-HPV Capture Antibody (type 16, 18), Anti-HPV Primary Antibody (type 16, 18), Anti-HPV Goat-anti-mouse Conjugate Antibody, HPV quadrivalent reference standard (以上皆為原廠提供)

(三)儀器與裝置

主要使用之儀器與裝置包括 pH meter (EUTECH CyberScan pH 1000, 新加坡)、電子天平(Precisa 180A, 瑞典)、水浴恆溫槽(TKS WB212-B2, 日本)、酵素免疫分析裝置(Bio-TEK Synergy HT, 美國)、離心機(KUBOTA 1720, 日本)等、數位型96孔盤震盪器(Thermo)。

二、方法

依原廠查驗登記所載方法進行試驗、判定。試驗方法係依據原廠自行開發，且經確效之檢驗方法，兩項產品皆利用酵素連結免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)，可

專一性地偵測疫苗製劑中所含主要成分之含量，作為疫苗鑑別及效價試驗。

結果與討論

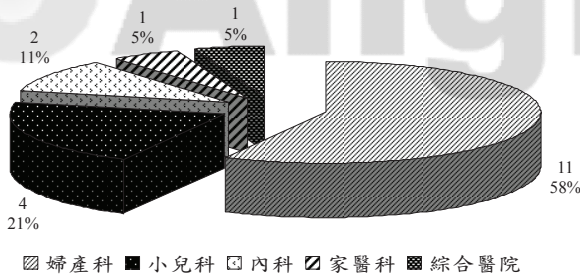
本計畫執行人類乳突病毒疫苗監測計畫，預先由衛生署西藥、醫療器材及化粧品許可證查詢系統，進行該品項領有許可證之產品查詢，截至100年2月，國內領有許可證者共有2家廠商之2項產品，分別為美商默沙東藥廠股份有限公司台灣分公司之嘉喜疫苗及荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司台灣分公司之保蓓疫苗。

本計畫於100年3至7月間，由本局協同台北市政府、新北市政府、台中市政府、台南市政府、高雄市政府衛生局及各縣市衛生局就轄區內醫療院所各抽樣1件檢體，及兩家藥廠各進行2個不同批號之源頭抽樣，共完成9個縣市、19家醫療院所及2家製造廠之源頭抽樣，共計23件檢體(表一)。

一、抽樣地點分析

依據往年疫苗品質評估計畫之經驗，中央健保局公告之醫療院中區域級以上之機構，對於疫苗冷藏儲存管理，不論在硬體設備的建置，及人員管理觀念及執行嚴謹度而言，表現的相對於基層診所來的佳。為更了解民眾施打之人類乳突病毒疫苗之品質，故今年人類乳突病毒疫苗計畫之抽樣首先排除區域醫院及醫學中心，即針對地區級醫院及基層診所進行抽樣。本計畫共赴19家醫療院所執行抽樣作業，包含18家基層診所及1家地區級醫院各抽樣1件檢體，另外兩家藥廠各進行2個不同批號之源頭抽樣，共計23件。因人類乳突病毒疫苗為高單價之自費疫苗，部份縣市只限於醫學中心及區域醫院提供施打，故本計畫選擇性的針對9個縣市進行訪查抽樣作業。

再以醫療院所之科別分類，由於人類乳突病毒疫苗施打主要對象為9-26歲之女性，所以提供施打之診所則以婦產科及小兒科為主，本計畫進行抽樣之19家醫療院所，包含婦產科診所11家(58%)、小兒科診所4家(21%)、內科診所2家(11%)、家醫科及綜合醫院各一家，皆為5% (圖一)。



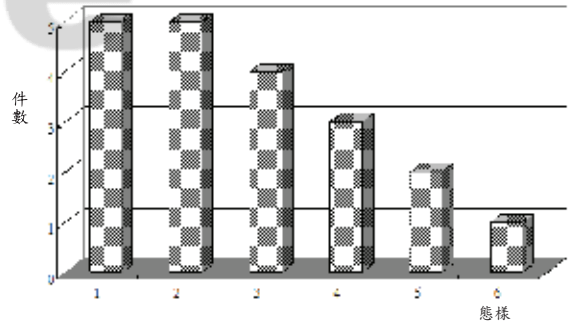
圖一、抽樣醫療院所各科別比例(不包含4件藥廠抽樣)

二、儲存溫度管理查核

衛生署疾病管制局(以下簡稱疾管局)針對列入接種時程之公費疫苗訂定「疫苗冷運冷藏管理工作手冊」，規範其公費疫苗由供應廠商運送至各級醫療院所之冷運條件，及存放疫苗之合約醫療院所之冷藏管理相關措施。各地衛生局亦配合疾管局共同輔導監督所屬轄區內之合約醫療院所。

因人類乳突病毒疫苗於台灣目前仍屬自費施打疫苗，尚未納入衛生署接種時程計畫中，因此，該品項疫苗之冷運條件，及疫苗儲存之冷藏管理，目前由醫療院所自行依外盒所示儲存溫度及相關規定辦理。故本次執行疫苗抽樣作業時，依據「疫苗冷運冷藏管理工作手冊」基本原則，針對各種可能影響疫苗品質之管理缺失進行訪查，以了解自費疫苗之儲放狀況。

訪查結果顯示超過半數的診所皆有1項以上的狀況，最常發生的是用於儲放疫苗之冰箱沒有專用的不斷電系統，以及管理人員沒有每日紀錄儲存溫度，19家診所中有各有5家；再者是冰箱內無溫度計；而有3家診所將疫苗置放於冰箱門邊，所以當冰箱開關時，會造成疫苗溫度不穩定，促使疫苗效價降低，除此，有2家診所冰箱內雖然有溫度計，但非疫苗冰箱應使用之高低溫度計，所以無法知道冰箱內儲存期間之最高溫與最低溫；另外某家診所將部分疫苗放置非診所內冰箱，當有需要時才拿到診所進行施打。依發現狀況種類的發生率排序(圖二)，這些管理之狀況都有可能影響疫苗之品質，日後將針對應如何加強管理進行討論。



圖二、現場發現狀況項目發生次數

抽樣現場儲藏環境發生狀況代號

1. 無專用不斷電系統 (5/19; 26.3%)
2. 無溫度記錄 (5/19; 26.3%)
3. 冰箱中無任何溫度計 (4/19; 21.1%)
4. 檢體放置於冰箱門邊 (3/19; 15.8%)
5. 非使用高低溫度計 (2/19; 10.5%)
6. 疫苗放置於非診所內冰箱 (1/19; 5.3%)

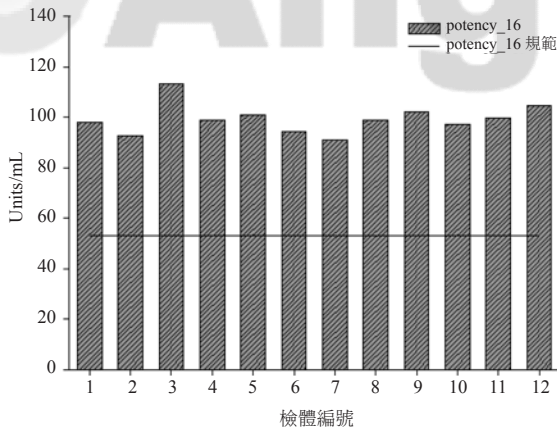
三、效價及鑑別試驗分析

本計畫中所使用之檢測疫苗效價及鑑別試驗方法係依據原廠自行開發，且經確效之檢驗方法，兩家作法與原理大致上相同，主要為利用酵素連結免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)，具專一地偵測疫苗製劑中所含主要成分是否為該型別之類病毒微粒(virus-like particles, VLPs)，可作為疫苗鑑別試驗。亦可檢驗其製劑中所含類病毒微粒之全部含量，作為疫苗效價試驗。

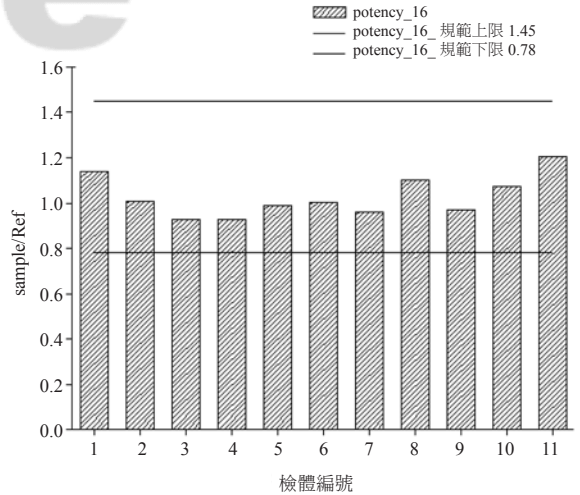
本次完成美商默沙東藥廠股份有限公司台灣分公司之嘉喜疫苗共12件，其中包含分區之市售品10件，分屬於4個批號，及源頭抽樣的不同批號檢體2件。每件檢體分別進行Type 16及18之類病毒微粒含量之效價檢測。12件檢體中，Type 16效價檢驗結果最高值為113.3 units/mL，最低為91.0 units/mL，皆符合原廠Type 16之效價規範(≥ 53 units/mL)(圖三)；Type 18效價檢驗結果最高值為47.7 units/mL，最低為41.3 units/mL，亦符合原廠Type 18之效價規範(≥ 23 units/mL)(圖四)，且其所有試驗3重覆之RSD值亦 $< 20\%$ 。

荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司台灣分公

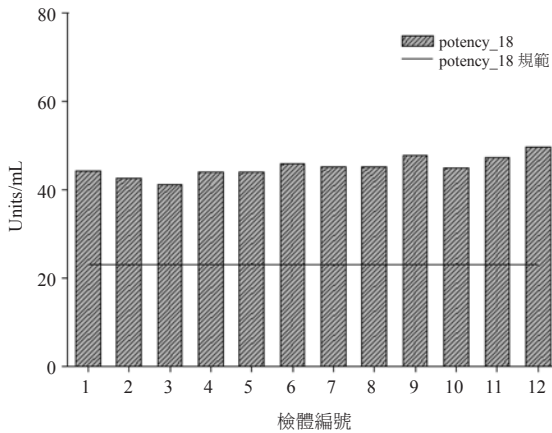
人類乳突病毒疫苗品質評估調查研究



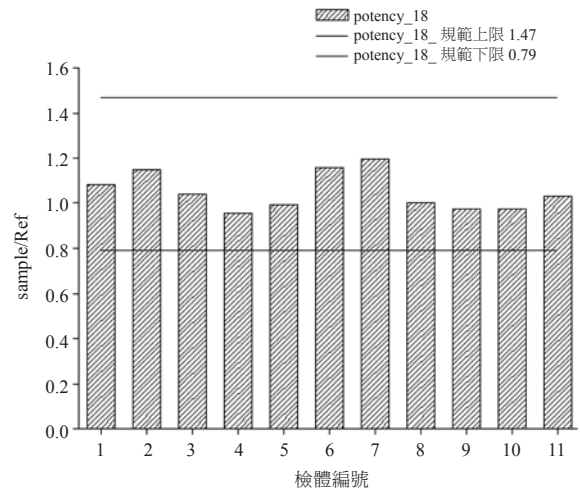
圖三、嘉喜疫苗效價檢驗結果(Type 16)



圖五、保蓓疫苗效價檢驗結果(Type 16)



圖四、嘉喜疫苗效價檢驗結果(Type 18)



圖六、保蓓疫苗效價檢驗結果(Type 18)

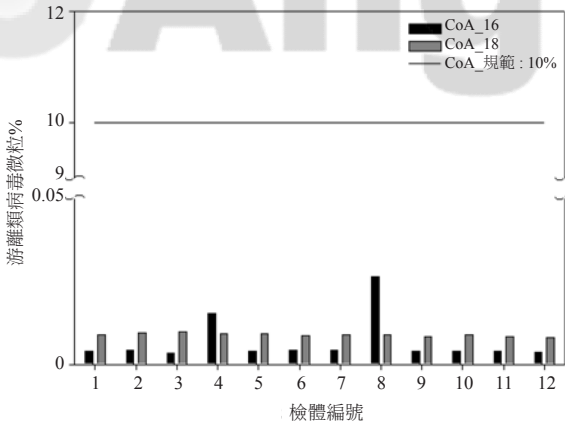
司之保蓓疫苗共完成抽樣作業11件，其中包含分區之市售品9件，分屬於4個批號，及源頭抽樣的不同批號檢體2件。每件檢體分別進行Type 16及18之類病毒微粒含量之效價檢測。12件檢體中。9件市售品及2件源頭抽樣檢體其Type 16效價檢驗結果介於0.93-1.21之間，符合原廠檢驗規範0.78-1.45 (圖五)；Type 18檢驗結果介於0.95-1.19之間，亦符合原廠檢驗規範0.79-1.47 (圖六)。

四、游離類病毒微粒試驗分析

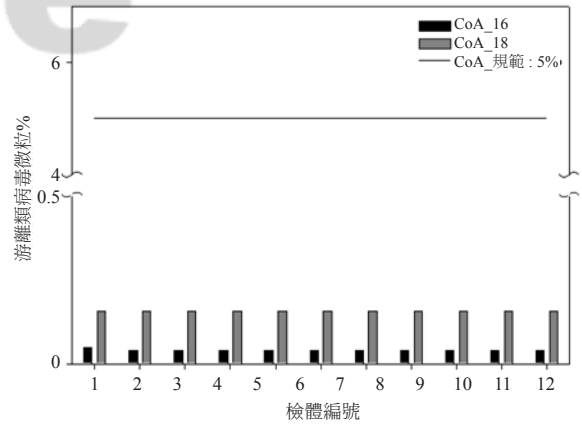
人類乳突病毒疫苗之類病毒微粒(VLPs)不易引發人體免疫反應，所以研發過程中加入以鋁為

主之佐劑，藉此增強身體對疫苗的辨識與反應能力，因此疫苗中所含類病毒微粒與其鋁佐劑共同聯結之比率，為該疫苗施打成效關鍵的因素，故本計畫亦針對抽樣所得之23件檢體進行游離類病毒微粒分析，確認類病毒微粒與佐劑分離低於其規範值，以確保疫苗之有效保護力。

美商默沙東藥廠股份有限公司台灣分公司之嘉喜疫苗之游離類病毒微粒分析檢驗結果，Type 16檢驗結果顯示最高游離含量為26 mU/mL，除



圖七、嘉喜疫苗游離類病毒微粒檢驗結果



圖八、保蓓疫苗游離類病毒微粒檢驗結果

以其含量濃度結果為0.0263%，最低游離含量值因低於可偵測極限4 mU/mL，故以< 4 mU/mL表示，除以其含量濃度結果為0.0035%，故12件檢體之游離類病毒微粒結果皆低於原廠含量規範< 10%，而Type 18檢驗結果皆低於可偵測極限4 mU/mL，故以< 4 mU/mL表示，其所佔之百分比介於0.008-0.0097%之間，亦符合原廠規範(圖七)。

荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司台灣分公司之保蓓疫苗之游離類病毒微粒分析檢驗結果，Type 16檢驗結果顯示最高游離含量為19 mU/mL，除以其含量濃度結果為0.0475%，最小值為低於可偵測值15.78 mU/mL，故以< 15.78 mU/mL表示，其所佔之百分比為0.039%，故11件檢體之游離類病毒微粒結果皆低於原廠含量規範< 5%，而Type 18檢驗結果皆低於可偵測值62.8 mU/mL，以< 62.8 mU/mL表示，其所佔之百分比為< 0.157%，亦符合原廠規範(圖八)。

結 論

- 一、本計劃查核19家基層診所及地區級醫院之疫苗冷藏儲情況，查核結果顯示自費疫苗不論在冷藏儲存硬體設備或管理方式上，皆不如公費疫苗，且不論是都會區或市郊之基層診所皆有相同之情況。而2家藥廠源頭儲存之冷藏硬體設備及其管理查核結果良好。
- 二、小兒科診所除供應自費疫苗外，亦備有多種

公費疫苗供嬰幼兒施打，故查核結果顯示小兒科診所其設備較為齊全，且管理人員觀念佳，儲存管理明顯優於婦產科診所。

- 三、監視今年抽樣所得23件人類乳突病毒疫苗之鑑別試驗、效價試驗及游離類病毒微粒試驗，其檢驗結果皆符合原廠查驗登記所核定之規格。
- 四、以上結果顯示，儲存管理不當之人類乳突病毒疫苗，其各項檢驗數據雖符合原廠查驗登記所核定之規格，但溫度影響疫苗產品有效性及安全性的變動參數頗多，例如：超過允許溫度的幅度、時間的長短、疫苗距離效期之長短及各種疫苗對溫度不同之敏感度，皆有可能改變疫苗品質，唯有建置完備的冷藏設備及提供完整教育訓練，建立醫療人員之正確管理觀念，才能確保溫度因素不影響疫苗之品質。

參考文獻

1. Bosch, F. X. and de Sanjose, S. 2003. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 2003(31): 3-13.
2. Sherris, J., Castro, W., Levin, C., Dzuba, I. and Arrossi, S. 2004. The Case for Investing in Cervical Cancer Prevention. Cervical Cancer

- Prevention Issues in Depth, #3. Alliance for Cervical Cancer Prevention (ACCP). Seattle, WA, USA.
3. Villa, L. L., Costa, R. L. R., Petta, C. A., *et al.* 2005. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol.* 6(5): 271-278.
 4. Harper, D. M. and Dubin, G. 2007. Sustained HPV-16 and 18 antibody levels through 5.5 years in women vaccinated with the HPV-16/18 L1 VLP ASO4 candidate vaccine [abstract]. The HPV vaccine Study Group 15th International Meeting of the European Society for Gynaecological Oncology.
 5. UNICEF website. Available at: [http://www.unicef.org/immunization/index_coverage.html].
 6. WHO. 2010. New Vaccine Post-introduction Evaluation (PIE) Tool. WHO/IVB/10.3 [<http://www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF05/795.pdf>].
 7. Ho, M. M., Mawas, F., Bolgiano, B., Lemercinier, X., Crane, D. T., Huskisson, R. and Corbel, M. J. 2002. Physico-chemical and immunological examination of the thermal stability of tetanus toxoid conjugate vaccines. *Vaccine* 20(29-30): 3509-3522.

Post-Market Surveillance of Human Papilloma Virus Vaccines in Taiwan

HUI-CHIA CHAN, TING-NI WU, KUANG-CHUNG CHU, HUEY-JEN DUH,
DER-YUAN WANG AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

Vaccines are sensitive to environmental temperature. Potency can be adversely affected if vaccines are left out too long or exposed to various temperature excursions (out-of-range temperatures) that could have a cumulative negative effect. In order to survey the quality of the marketed HPV vaccines in Taiwan, total of 23 samples were collected by the local health authorities from hospitals, clinics and manufacturers in various counties from January to July, 2011. Samples were analyzed by test methods originated from manufactures. The results revealed that the potency and completeness of adsorption of all samples met the approved criteria.

Key words: HPV vaccines, post-market surveillance