

輪狀病毒自費疫苗品質評估調查研究

詹蕙嘉 杜慧珍 林耀正 吳庭妮 朱廣中
王德原 楊依珍 施養志 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

本計畫依風險管理評估為原則，針對自費疫苗品質現況及其儲存環境管理情況進行調查研究，今年選定之市售產品項為輪狀病毒疫苗。本計畫執行期間共赴16縣市且協同各地衛生局稽查人員進行抽樣，並查訪基層醫院所了解其冷運冷藏狀況。而後依據各原廠檢驗方式進行效價試驗，確認該疫苗之有效性；本年度共完成檢體抽樣作業26件。試驗結果尚符合本署核定之規格。另外，經訪查各醫療院所及倉儲公司之冷藏儲存環境管理情況，訪查結果顯示自費疫苗在基層醫療院所於硬體及管理上與公費疫苗仍有落差。此調查結果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。

關鍵詞：輪狀病毒疫苗、冷運冷藏

前言

輪狀病毒最常感染的對象為嬰幼兒，好發於五歲以下，其中又以6個月至兩歲之幼兒最容易感染，且症狀嚴重⁽¹⁾，根據WHO在2004年的研究統計指出，全球約有超過五十二萬名嬰幼兒因感染輪狀病毒而死亡，其中85%發生於非洲和亞洲的低收入國，並有兩百萬以上的兒童因感染輪狀病毒造成嚴重脫水住院治療⁽²⁾。

輪狀病毒於1973年經澳洲科學家Ruth Bishop發現並命名，輪狀病毒共有七型(A、B、C、D、E、F與G)，人類主要受到A、B、C三型的感染，又以A型所造成的感染最為常見，據統計佔了90%以上⁽⁴⁾，輪狀病毒感染途徑主要為糞口(fecal-oral route)傳染。根據研究報導，可消滅細菌與寄生蟲的衛生設備對於輪狀病毒的控制似乎不這麼有效⁽⁵⁾，因為在高衛生水平與低衛生水平的國家中，輪狀病毒感染的發病率並無太大的差異，顯示即使改善飲

水、衛生條件、環境清潔等外在條件，亦無法完全遏止輪狀病毒傳播。世界上幾乎每個五歲的小孩都曾感染過輪狀病毒至少一次。然而，每一次感染後人體免疫力會逐漸增強，後續再次感染所造成之影響就會減輕，而對於出生六個月至兩歲及有免疫缺陷(immunodeficiency)的小孩感染後，症狀最為嚴重⁽³⁾，常造成需要住院治療之情況，成人之感染症狀相較之下則非常輕微。

大規模的疫苗接種，除了可以對施打族群發生直接效應外，亦可對未施打之族群發生間接效應，進而產生群體免疫反應。衛生福利部核准國內上市之輪狀病毒疫苗共有二家廠牌之三種產品，分別為荷商葛蘭素史克藥廠生產之羅特律輪狀病毒疫苗、羅特律輪狀病毒疫苗口服懸液劑及美商默沙東藥廠生產之輪達停口服活性五價輪狀病毒疫苗，目前台灣市面上可提供幼童施打的有羅特律口服懸浮液劑及輪達停疫苗兩種。

根據文獻統計估計，疫苗接種每年可以救活約3億嬰幼兒的性命，但因活性減毒性疫苗對溫度極為敏感，且疫苗接種合約醫院幅員遼闊，因此如何管控從製造廠至施打者之間運送過程，確保維持疫苗效價不受運送條件或不為過程影響便成為一個重要課題⁽⁶⁾。其中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⁽⁷⁻⁸⁾，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，並有專人管理。國人使用之疫苗，部分為衛生福利部公費補助施打，該類疫苗由疾病管制署協同各地衛生局共同輔導監督轄區中衛生所及合約醫療院所之完善儲存管理，藉以確保疫苗之品質；而輪狀病毒疫苗屬自費施打之高單價疫苗，其儲存環境由醫療院所自行管理，為了解該類疫苗自源頭供應端至使用端儲存管理情況及品質現況，本計畫將針對目前市售之輪狀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

由本署協同台北市政府、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及藥廠源頭抽驗，共完成16個縣市；22家醫療院所及2家製造廠之源頭抽樣，共計26檢體(表一)。

(二)標準品與試藥

1. 羅特律輪狀病毒疫苗口服懸液劑：DMEM (Hyclone)、FBS (Hyclone)、PBS (Sigma)、Glutamine (Hyclone)、Sodium hydrogen carbonate (Hyclone)、

Trypsin (Hyclone)、Penicillin-Streptomycin solution (Hyclone)、Evans Blue (Sigma)、Powder skim milk (Difco)、Sterile filtration set (Millipore Co)、MA104 cell line、Reference vaccine、FITC-conjugated goat anti-mouse IgG、2C9 anti-VP7 (以上皆為原廠提供)。

2. 輪達停口服活性五價輪狀病毒疫苗：EMEM (Biological Industries)、Trypsin (Sigma T4549)、Molecular Biology Grade Water (BIOTECX)、Tween 20 (sigma)、Triton X-100 (sigma)、RNase Inhibitor (ABI)、MuLV Reverse Transcriptase (ABI)、TaqMan PCR Core kit (ABI)、AmpliTaq Gold (ABI)、Vero cell (ATCC)、Standard vaccine (In house)、Probe (In house)、FWD/REV Primer (In house)、Positive control (In house)。

(三)儀器設備

主要檢測之一劑與裝置包含pH meter (CyberScan pH 1000, EUTECH, 新加坡)、電子天平(XS4250-SCS, Precisa, 瑞典)、同步定量聚合酶連鎖反應器系統 (7500, ABI, 美國)、離心機 (3740, KUBOTA, 日本)等。

二、方法

依原廠查驗登記所載方法進行試驗及結果判定。檢驗方法係依據原廠自行開發且經確校之檢驗方法，兩項產品分別使用即時聚合酶連鎖反應及細胞感染後計算病毒感染價(CCID₅₀)。

結果與討論

本計畫執行輪狀病毒疫苗後市場監測計畫，預先由TFDA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，國內共有三張許可證，然而市面上實際

販售提供施打的為荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司台灣分公司所生產的羅特律輪狀病毒疫苗口服懸液劑及美商默沙東藥廠股份有限公司台灣分公司所生產的輪達停口服五價輪狀病毒疫苗，因此本次計畫即對此兩商品進行抽樣檢驗。

本計畫於102年2月至8月間，由台北市政府、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協同本署，就轄區內醫療院所及藥廠抽驗，共完成16個縣市；22家醫療院所及2家製造廠之源頭抽樣，共計26檢體(表一)。

依據歷年疫苗品質評估計畫之相關結果，中央健保署公告之醫療院所中區域級以上之機構，對於疫苗冷藏儲存管理硬體設備的建置、人員管理觀念及執行嚴謹度而言，表現高於基

層診所體系。為更了解民眾施打之輪狀病毒疫苗之品質，故今年輪狀病毒疫苗計畫之抽樣對象以基層診所及地區級醫院進行為優先，其次為區域級醫院，最後為醫學中心。

抽樣方式依醫療院所之診察科別分類，因輪狀疫苗施打主要對象為嬰幼兒，以提供施打之診所以小兒科診所為主，故本計畫計畫抽樣22家醫療院所中，小兒科診所就涵蓋了19家，佔所有抽樣點之86%；婦產科診所2家，佔抽樣點之9%、另外包含1間家醫科診所，佔所有抽樣點之5%。

一、儲存溫度管理查核

疾病管制署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」，嚴謹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冷藏管理。各地衛生局亦配合疾病管制署共同輔導監督所屬轄區內之合約醫療院所。

因輪狀病毒疫苗仍屬高單價自費施打疫苗，尚未納入衛生福利部接種時程計畫中，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，同時針對各醫療院所進行訪查，以了解自費疫苗之儲放狀況。

本計畫依據「疫苗冷運冷藏管理工作手冊」基本原則，執行22家醫療院所儲存溫度查核作業時，針對各種可能影響疫苗品質之管理缺失進行訪查。冷運冷藏系統之現場訪查結果顯示，當日儲存溫度未在2-8°C規範內，22家診所中佔31.8%，溫度記錄不確實及管理人員未每日紀錄儲存溫度佔22.7%，另2家診所冰箱內雖然有溫度計，但非具有高低顯示之溫度計，無法確知冰箱內曾經最高溫及曾經最低溫之變化；此外，部分醫療院所將部分疫苗放置非診所內冰箱，需要時才拿到診所進行施打，因此無法確認其儲存溫度是否合乎規範。院所內自費疫苗沒有使用溫度監視片，或延用已施打完畢之公費疫苗所附的監視片，所以常

表一、市售檢體依檢體來源及縣市分布統計表

品名	羅特律輪狀病毒疫苗口服懸浮液		輪達停口服活性五價輪狀病毒疫苗		總計
	醫療院所	源頭抽樣	醫療院所	源頭抽樣	
抽樣來源件數縣市					
台北市	1	0	1	0	2
新北市	0	0	1	0	1
基隆市	1	0	0	0	1
宜蘭縣	1	0	1	0	2
桃園縣	1	2	1	2	4
新竹縣	1	0	0	0	1
新竹市	0	0	1	0	1
苗栗縣	1	0	0	0	1
台中市	1	0	1	0	2
彰化縣	1	0	0	0	1
南投縣	1	0	1	0	2
雲林縣	1	0	0	0	1
嘉義市	1	0	0	0	1
台南市	1	0	1	0	2
高雄市	1	0	0	0	1
屏東縣	0	0	1	0	1
合計	13	2	9	2	26

發現有監視片已過期的現象。訪查過程中亦發現有其他種類之疫苗及藥品放置於溫度控制不佳之冰箱側門，及疫苗儲存冰箱中存放食物或飲料，以上情形皆不符「疫苗冷運冷藏管理工作手冊」規定，嚴重違反時可能影響疫苗之品質。

綜上結果得知，自費疫苗在溫度監控裝置設備及儲存管理方面皆不如公費疫苗嚴謹，然疫苗產品屬於對環境溫度敏感之生物藥品，儲存運送之冷運冷藏系統(cold chain system)對其效價的有效性十分重要，上述管理缺失均有可能影響疫苗之品質及接種之有效性。

二、效價試驗分析

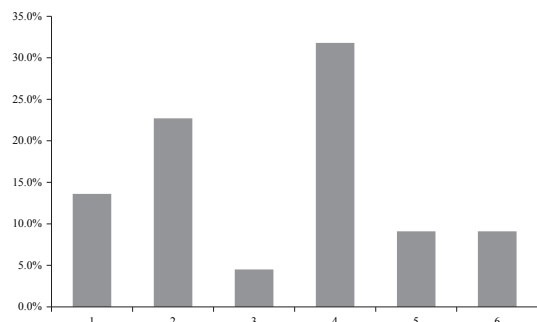
本計畫中測定輪狀疫苗產品所使用之效價試驗法，係依據兩家各自原廠開發並確效之檢驗方法，其中荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司之羅特律輪狀病毒口服懸液劑效價試驗方法，係將待測疫苗及對照標準疫苗做 $10^{-4.6}$ - $10^{-6.4}$ 序列稀釋，各稀釋階再感染MA104細胞株於 37°C 培養6-8天後，以anti-rotavirus antibody作一級抗體，FITC-conjugated goat anti-mouse IgG作二級抗體染色後，以螢光顯微鏡觀察其

螢光表現，計算其 CCID_{50} ，檢驗結果應符合本署核定之效價規範(至少 $10^6 \text{CCID}_{50}/\text{dose}$)。

荷商葛蘭素史克藥廠股份有限公司產製之羅特律輪狀病毒口服懸液劑共完成抽樣作業15件，其中包含分區之市售13件，分屬於6個批號，及源頭抽樣的不同批號檢體2件。每件檢體分別進行效價檢測。13件市售品及2件源頭抽樣檢體其含量檢驗結果為檢驗結果最低值為 $10^{6.1} \text{CCID}_{50}/\text{dose}$ ，最高值為 $10^{6.8} \text{CCID}_{50}/\text{dose}$ ，所有抽樣檢體皆符合本署核定之規範(圖二)。

美商默沙東藥廠股份有限公司產製之輪達停口服活性五價輪狀病毒疫苗效價試驗方法，係將對照標準疫苗及待測檢體適當稀釋後，感染Vero細胞株經23-24小時後，加入detergent並至於 -80°C 冰箱，作用至少一個小時後，取其解凍之細胞溶解體進行定量PCR，將待測檢體與對照標準疫苗做比對後，得到各型之效價。其中依據原廠查驗登記所附安定性試驗資料得知，倫達停疫苗含有5種不同型別之基因重組病毒株，以P1及G4兩型最容易受溫度及時間影響，而造成細胞感染效價的下降，因此本計畫之輪達停疫苗效價試驗以P1及G4兩型效價試驗為檢驗項目。

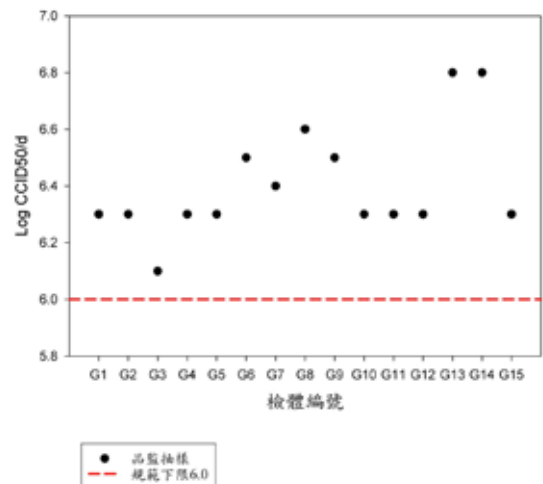
本次完成美商默沙東藥廠股份有限公司產製之輪達停口服活性五價輪狀病毒疫苗抽樣作



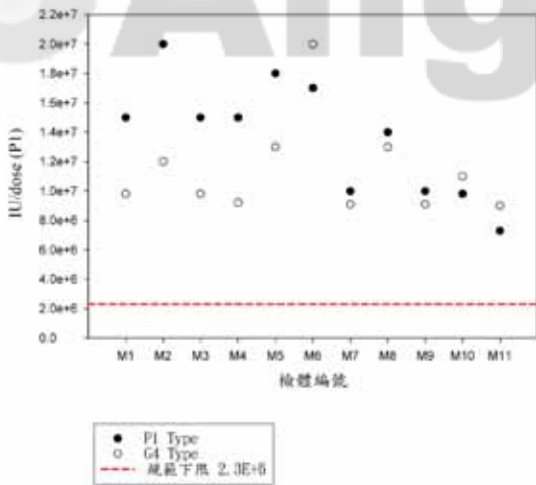
抽樣現場儲藏環境發生狀況

- 1.無專用不斷電系統 (3/22；13.6%)
- 2.無溫度記錄 (5/22；22.7%)
- 3.冰箱中無任何溫度計 (1/22；4.5%)
- 4.當日儲存溫度未在於 $2-8^{\circ}\text{C}$ 內 (7/22；31.8%)
- 5.非使用高低溫度計 (2/22；9.1%)
- 6.疫苗放置於非診所內冰箱 (2/22；9.1%)

圖一、醫療院所溫度監控裝置



圖二、A廠輪狀病毒疫苗效價試驗結果G1-G15



圖三、B廠輪狀病毒疫苗效價試驗結果P1型及G4型

業共11件，其中包含分區之市售品9件，分屬5個批號，及源頭抽樣的不同批號檢體2件，每件檢體均分別進行效價試驗。9件市售品及2件源頭抽樣檢體其含量檢驗結果：P1型效價檢驗結果中最高值為 2×10^7 IU/dose，最低為 7.3×10^6 IU/dose，所有抽樣檢體之P1型皆符合原廠檢驗規範 $\geq 2.3 \times 10^6$ IU/dose；G4檢驗結果最高值為 2×10^7 IU/dose，最低為 9.0×10^6 IU/dose，所有抽樣檢體之G4型皆符合原廠檢驗規範 $\geq 2.0 \times 10^6$ IU/dose (圖三)。

綜合以上結果，已完成地區實地訪查及抽樣共26件，發現冷藏設備及儲存管理不如公費疫苗來的嚴謹，但結果尚符合查驗登記核定之規範。

結 論

1. 本計畫查核22家基層診所之疫苗冷藏儲情況，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。
2. 監視今年抽樣所得26件輪狀病毒疫苗之效價試驗，其檢驗結果皆符合原廠查驗登記所核定之規格。
3. 以上結果顯示，儲存管理不當之輪狀病毒疫

苗，其各項檢驗數據雖符合原廠查驗登記所核定之規格，但由於該品項疫苗單價較高，抽樣件數因此受限，現有樣品數可能無法真實反應實際情況，且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，才能確保冷鏈系統之完善。

參考文獻

1. Cilla G, Perez-Trallero E, Lopez-Lopategui MC. And *et. al.* 2000. Incidence, seasonality and serotype of rotavirus in Gipuzkoa (Basque country), Spain. A 14-year study. *Epidemiol Infect.* 324: 1444-1447.
2. Parashar U. D., Hummelman E. G., Bresee J. S. and *et. al.* 2003. Global illness and deaths cause by rotavirus disease in children. *Emerging Infectious Diseases.* 9(5): 565-572.
3. Saulsbury F. T., Winkelstein J. A, Yolken R. H. 1980. Chronic rotavirus infection in immunodeficiency. *J. Pediatr.* 97(1): 61-5.
4. Beards G. M, Brown D. W. 1988. The antigenic diversity of rotaviruses: Significance to epidemiology and vaccine strategies. *Eur. J. Epidemiol.* 4(1): 1-11.
5. Hrdy DB. 1987. Epidemiology of rotaviral infection in adults. *Rev. Infect. Dis.* 9(3): 461-9.
6. WHO. 2006. Temperature sensitivity of vaccines. Geneva. WHO/IVB/06.10.
7. Boros C. A., Hanlon M, Gold M. S. and *et. al.* 2001. Storage at -3°C for 24 h alters the immunogenicity of pertussis vaccines. *Vaccine* 19 (25-26): 3537-42.
8. Ho M. M., Mawas F, Bolgiano B, Lemercinier X. and *et. al.* 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 Rotavirus Vaccine in Taiwan

HUI-CHIA CHAN, HUEY-JEN DUH, YAO-CHENG LIN, TING-NI WU,
KUANG-CHUNG CHU, DER-YUAN WANG, YANG-CHIH SHIH,
YI-CHEN YANG AND HWEI-FANG CHENG

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 temperature) that could have a cumulative negative effect. In order to survey the quality of marketed Rotavirus Vaccine in Taiwan, a total of 26 samples were collected by the local health authorities from hospitals, clinics and manufacturers in various counties from January to August, 2013. Samples were analyzed by test methods specified by manufacturers. The results showed that the potency of all samples met the approved specification.

Key words: rotavirus vaccine, cold chain