

行政院及所屬各機關出國報告  
(出國類別：開會)

赴德國參加「WHO 基因擴增技術標準化會議」暨  
「第十屆 EPFA/NIBSC 核酸擴增試驗及血液病原  
檢測研討會」並參訪血液製劑製造廠

服務機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局  
出國人 職 稱：科長 薦任技士  
姓 名：陳惠芳 陳瑜絢

出國地區：德國  
出國期間：中華民國九十二年六月二十九日至七月六日  
報告日期：中華民國九十二年十月二日

J0/CO9202209

系統識別號:C09202209

公務出國報告提要

頁數: 26 含附件: 否

報告名稱:

參加(WHO)基因擴增技術標準化會議暨EPFA/NIBSC核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會並參訪血液製劑製造廠

主辦機關:

行政院衛生署藥物食品檢驗局

聯絡人/電話:

陳婉麗/02-26531300

出國人員:

陳惠芳 行政院衛生署藥物食品檢驗局 第二組 科長  
陳瑜綸 行政院衛生署藥物食品檢驗局 第二組 薦任技士

出國類別: 其他

出國地區: 西德

出國期間: 民國 92 年 06 月 29 日 - 民國 92 年 07 月 06 日

報告日期: 民國 92 年 10 月 02 日

分類號/目: J0/綜合(醫藥類) J0/綜合(醫藥類)

關鍵詞: 核酸擴增技術, NAT, 血液病毒安全性

內容摘要: 本次出國係赴德國參加「WHO基因擴增技術標準化(Standardization of Genome Amplification Techniques, SoGAT)會議」暨「EPFA/NIBSC核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會」(Workshop on Nucleic Acid Amplification Testing and the Detection of Pathogens in Blood), 同時應邀於WHO SoGAT會議中發表本局對國內所使用血液製劑病毒安全性之研究結果。WHO基因擴增技術標準化會議是由WHO生物製劑國際標準品實驗室--英國國家生物製劑標準品暨管制研究所(National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC)主辦, 此次為第十六次會議, 於2003年7月3日在德國Paul Ehrlich Institute (PEI)舉行。此次會議討論內容包括HIV、West Nile Virus及新興病毒、HBV、Parvovirus B19、NAT標準化、NAT檢測現況、及NAT之品質管制等議題。EPFA/NIBSC核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會係由歐洲血漿分劃協會(European Plasma Fractionation Association, EPFA)及英國國家生物標準品暨管制研究所共同主辦, 自1994年開始每年舉辦一次, 今年為第十屆研討會, 於2003年7月1日至7月2日同樣於PEI舉行, 研討會內容包括NAT之品質管制、NAT之自動化檢測系統、NAT與血液篩檢、NAT應用之基礎、NAT與其他血液安全性之檢測、及危險性與經濟效益之評估等議題。赴德期間順道參訪位於德國Dreieich之輸入我國血液製劑之製造廠Biotest Pharma GmbH, 實地了解製造廠對於血液製劑血漿原料及製程中病毒安全性與品質之監控與管理, 並對其缺失提出改進建議。

機關地址: 台北市南港區昆陽街一六一之二號

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網

## 摘 要

本次出國係赴德國參加「WHO 基因擴增技術標準化 (Standardization of Genome Amplification Techniques, SoGAT) 會議」暨「EPFA/NIBSC 核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會」(Workshop on Nucleic Acid Amplification Testing and the Detection of Pathogens in Blood)，同時應邀於 WHO SoGAT 會議中發表本局對國內所使用血液製劑病毒安全性之研究結果。

WHO 基因擴增技術標準化會議是由 WHO 生物製劑國際標準品實驗室--英國國家生物製劑標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 主辦，此次為第十六次會議，於 2003 年 7 月 3 日在德國 Paul Ehrlich Institute (PEI) 舉行。此次會議討論內容包括 HIV、West Nile Virus 及新興病毒、HBV、Parvovirus B19、NAT 標準化、NAT 檢測現況、及 NAT 之品質管制等議題。

EPFA/NIBSC 核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會係由歐洲血漿分劃協會 (European Plasma Fractionation Association, EPFA) 及英國國家生物標準品暨管制研究所共同主辦，自 1994 年開始每年舉辦一次，今年為第十屆研討會，於 2003 年 7 月 1 日至 7 月 2 日同樣於 PEI 舉行，研討會內容包括 NAT 之品質管制、NAT 之自動化檢測系統、NAT 與血液篩檢、NAT 應用之基礎、NAT 與其他血液安全性之檢測、及危險性與經濟效益之評估等議題。

赴德期間順道參訪位於德國 Dreieich 之輸入我國血液製劑之製造廠 Biotest Pharma GmbH，實地了解製造廠對於血液製劑血漿原料及製程中病毒安全性與品質之監控與管理，並對其缺失提出改進建議。

## 目 次

一、前言及目的 -----	4
二、會議內容	
(一) EPFA/NIBSC 檢測血液病毒核酸擴增技術	
研討會 -----	6
(二) WHO 基因擴增技術標準化會議 -----	15
三、參訪 Biotest Pharma GmbH 製造廠 -----	22
四、心得 -----	24
五、建議 -----	26

## 一、前言及目的

血液製劑於醫療上之使用量漸增，然隨著經由血液傳染之疾病諸如 B 型肝炎、C 型肝炎、愛滋病等之發現及蔓延，確保血液製劑之安全性也更顯其重要性。如何於血漿原料及混合血漿中篩檢出污染之病毒，進而降低污染病毒量，乃是目前世界各國努力之方向。由於傳統上用於篩檢血液是以血清學方法檢測病毒抗原或抗體，其空窗期（Window period）較長，而利用核酸擴增技術（NAT）檢測可以縮短病毒檢測之空窗期。

為提高輸血安全性，歐美日等先進國家均已開始利用 NAT 進行 HIV 及 HCV 等血液病毒之篩檢，以 NAT 檢測血液病毒已是世界潮流趨勢，為因應我國「國血國用」國產血液製劑之檢驗管理，建立 NAT 之標準檢驗體系及製備 NAT 檢驗用之病毒核酸國家對照標準品，實為刻不容緩之課題。參加 WHO 基因擴增技術標準化會議及 EPFA/NIBSC 核酸擴增試驗及血液病原檢測研討會，可獲取有關核酸擴增技術之新知，並了解各國對血液病毒之檢測與管理現況，作為我國制定血液製劑原料血漿規範之參考，以因應國血國用血液製劑之原料血漿查核與檢測污染病毒之審核管理，提昇血液製劑之品質與安全性。

此外，此次應邀於 WHO SoGAT 會議中發表本局對國內所使用血液製劑病毒安全性之研究結果，可與各國與會代表經驗交流，有助於我國與國際接軌，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。

赴德期間順道參訪位於德國 Dreieich 之輸入我國血液製劑之製造廠 Biotest Pharma GmbH，實際了解製造廠對於血液製劑製程中病毒安全性及品質之監控與管理；並實地參觀廠內對於血漿原料之血液病毒核酸檢測部門，同時對其缺失提出改進建議，亦可作為本局對該製造廠輸入我國產品進行相關資料審核之參考。

## 二、會議內容

### (一) 第十屆 EPFA/NIBSC 核酸擴增試驗及檢測血液病原研討會(Workshop on Nucleic Acid Amplification Testing and the Detection of Pathogens in Blood)

EPFA/NIBSC 研討會係由歐洲血漿分劃協會 (European Plasma Fractionation Association, EPFA) 及英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 共同主辦, 自 1994 年開始每年舉辦一次, 邀請各國政府單位、研究機構、血液中心、血液製劑製造廠商、檢驗試劑製造廠商等相關領域的專家學者, 共同討論有關血液病毒核酸擴增技術之最新進展及相關規範。今年為第十屆會議, 於 2002 年 7 月 1 日至 7 月 2 日在德國 Paul Ehrlich Institute (PEI) 舉行, 與會人士有來自美國、加拿大、英國、法國、德國、比利時、荷蘭、義大利、瑞士、波蘭、奧地利、西班牙、葡萄牙、匈牙利、瑞典、芬蘭、俄羅斯、澳洲、日本、中國大陸及台灣等地, 共約一百五十人。

該研討會之內容包括:(1) NAT 之品質管制、(2) NAT 之自動化檢測系統、(3) NAT 與血液篩檢、(4) NAT 應用之基礎、(5) NAT 與其他血液安全性之檢測、(6) 危險性與經濟效益之評估等議題, 研討會之內容重點如下:

#### (1) NAT 之品質管制

德國 PEI 的 Dr. M. Nubling 介紹有關 NAT 之品質管制, 說明歐盟對於 NAT IVD 及 in-house NAT assays 之管理。於歐洲 IVD 必須符合 IVD Directive 取得 CE mark 後始可上市, 至於用來篩檢 HIV、HBV、HCV 等病毒之 high

risk IVD 還須經 Notified Body 核可，且採逐批放行方式辦理。對於 NAT IVD 應以 WHO 國際標準品進行校核及檢測限度之分析，提供耐變性（robustness）及性能評估研究等資料；逐批放行試驗由 Notified Body 評估其 QC 數據及批次間一致性。對於血液篩檢之 in-house NAT assays，應包含檢測方法之設計、檢測限度、靈敏度、特異性、及耐變性之確效評估。

澳洲 NRL 的 Dr. S. Best 介紹澳洲對於 NAT IVD 之品質管制。NRL 對 IVD 之評估程序包括審核製造廠之文件資料、選擇 panel、執行檢測、數據分析、及提出報告與要求。對於血液篩檢用 NAT 檢驗試劑應評估其靈敏度、特異性、精確度、95% COV 等數據。目前在澳洲有 Chiron HIV/HCV TMA 及 Roche HIV (HCV) Ampliscreen 取得上市許可。

## (2) NAT 之自動化檢測系統

美國 Roche 公司的 Dr. S. Krass 介紹該公司所研發之 NAT 檢驗試劑及自動化檢測系統，除了已取得 FDA 許可之 Ampliscreen HIV Test 及 Ampliscreen HCV Test 檢驗試劑外，還有 COBAS Ampliscreen HBV Test、LightCycler Tests for Parvovirus B19 and HAV、West Nile Virus Testing – TaqScreen™ WNV Test、Full Automation for HIV/HCV/HBV – TaqScreen™ Multiplex Test 等試劑及檢測系統。COBAS Ampliscreen HBV Test 自 2002 年 8 月於美國五個血液中心開始執行臨床試驗，至 2003 年 4 月完成初步數據收集，5 月開始進行 IND 試驗。對於 Parvovirus B19 及 HAV 可採用 LightCycler 定量 PCR 操作平台，執行製程中管制試驗，但不適用於原料血漿之檢測。有關目前在北美地區極受重視之新興病毒—West Nile Virus，Roche 公司



開發 TaqScreen™ WNV Test 試劑，FDA 於 2003 年 5 月核可 IND 申請，從 2003 年 7 月開始於美國及加拿大進行臨床試驗。

美國 Chiron 公司的 Dr. B. Phelps 介紹該公司 Procleix 自動化系統，目前研發中有 eSAS 2.0 及 TIGRIS 系統。TIGRIS 是用於 Procleix Ultrio Assay 之快速全自動操作系統，可供血液中心對人類血漿進行血液病毒核酸快速檢測，在 9 小時內檢測檢體數可達 500 件、14 小時內可達 1,000 件，除可有效縮短檢測時間外，亦可維持其過程之一致性。

### (3) NAT 與血液篩檢

加拿大 CBS 的 Dr. J. Saldanha 說明加拿大對於供血者及血漿原料之篩檢情形。對於供血者之血液病毒抗原/抗體檢測，包括 HBsAg、Anti-HCV、Anti-HIV 1/2、HIV-1 P24、及 Anti-HTLV-I/II，NAT 篩檢項目包括 HCV (October 1999)、HIV-1 (May 2001)、及 WNV (June/July 2003)，其他還有梅毒血清學檢驗，用於免疫抑制患者之血品則加作 CMV 檢測。加拿大每年血液收集量全血約有 800,000 單位、血漿分離術採集血漿約 36,000 單位、血小板分離術採集血小板約 22,000 單位。有 15%全血及 60%血漿分離術血漿直接用於輸血，其餘血漿(包括 recovered plasma 及 source plasma) 則用於製造血液製劑。

增進血液之病毒安全性的策略，對輸血用血品可藉由病毒標誌之篩檢及有限的病原減少處理步驟；對血液製劑除對血漿原料之篩檢外，製程中還加入病毒去除/去活化步驟，故安全性較高。自從加入篩檢及病毒去除/去活化步驟後，並未發現有經由輸用血液製劑而感染 HCV、HIV-1、及 HBV 之案例，但對於無套膜病毒（如 Parvovirus B19）

則仍可能經由輸用血液製劑而感染，尤其是凝血因子類製劑。為避免血液製劑成品內含高量 Parvovirus B19 造成感染，歐美等國之血液製劑製造廠大多將 Parvovirus B19 含量檢測列入製程管制之監測項目。

美國 BCP 的 Dr. M. Busch 說明有關血液病毒之 NAT 篩檢。對於 HCV 之 NAT 篩檢，以 Individual donation 檢測之空窗期約 5 天，以 mini-pool 方式檢測之空窗期約 7.4 天。HIV-1 以 Individual donation 檢測之空窗期約 5.6 天，以 mini-pool 方式檢測之空窗期約 9 天。以 pool size 為 16 之 mini-pool NAT 為例，HIV-1 須達 80 copies/mL、HCV 須達 192 copies/mL 才能檢測出。即使血液之 NAT 檢測為陰性仍無法確保其為受感染，發表於 2000 年 Lancet 的一篇論文 “HCV Transmission by Blood Donation Negative by NAT”，指出有病患因輸注 HCV NAT 檢測陰性之供血者提供之血小板（約含 50 mL 血漿）而感染 HCV，而輸注紅血球（約含 5 mL 血漿）者則未受感染。該血漿含 HCV RNA 量極低（小於 5 geq/mL），故未能檢測出，但輸注量大時仍可能造成感染。

美國 ARC 的 Dr. R. Dodd 說明血液之細菌篩檢。輸血除可能感染 HIV、HCV、HBV 等病毒外，亦可能感染細菌。美國自 1985 年至 1999 年向 FDA 報告之輸血後細菌感染案例有 694 件，其中有 77 例死亡。對於血品直接進行細菌培養，約每 1000-3000 件即有 1 件遭細菌污染。避免輸血後因細菌感染引發敗血症甚至死亡，也是當前對輸血安全性考量的重要議題之一。美國 AABB 要求血液銀行及輸血服務中心在 2004 年 3 月 1 日前應對所有血小板血品執行細菌污染之檢測。為降低細菌感染之風險，在採血時的 skin

preparation 是一個很重要的步驟，此外也應進行細菌培養試驗，及加入病原不活化方法（如 Psoralen、Riboflavin），或使用其他檢測系統。

英國 NIBSC 的 Dr. P. Minor 介紹有關對於瘧原蟲之篩檢。瘧疾是經由血液傳染之一種寄生蟲病，藉由蚊子傳播，也可能經由輸血感染。英國對於供血者規定曾感染瘧疾者，及在國外或由瘧疾盛行地區返國四周內得到發熱疾病者，永久不得捐血。瘧疾盛行地區居民由該地區至英國者，應暫緩捐血 5 年；其他由瘧疾盛行地區回到英國者，應暫緩捐血 12 個月。但若距復原日或最後一次暴露日 6 個月後，以經確效之瘧疾抗體檢查為陰性者，則可放行該血袋。

檢測瘧疾可用光學顯微鏡、ELISA 及 Dipstick tests、PCR 檢測等方法，其中光學顯微鏡檢測仍為目前的“Gold Standard”，其靈敏度約 5-20 parasite/ $\mu$ L。Dr. Minor 的實驗室建立以 Multiplex PCR 檢測瘧原蟲的方法，可檢測四種不同屬的瘧原蟲—*P. falciparum*、*P. vivax*、*P. ovale*、及 *P. malariae*。

#### (4) NAT 應用之基礎

英國 NICE 的 Dr. D. Murray 介紹有關 NICE (National Institute for Clinical Excellence) 之成立背景及任務。NICE 成立於 1999 年，屬於英格蘭及威爾斯之 NHS (National Health Service)，成立目的為提供衛生專業確保高標準之健康服務。工作內容包括技術性之評鑑、臨床指導方針、癌症服務指引、進行調解及調查等。對於衛生技術之評鑑工作，是對衛生技術之臨床及經濟效益進行評估，並向 NHS 提出建議。進行評估之項目為研究結果、病人經驗、及臨

床應用，諮詢對象包括病人及照顧者、專業人員、製造商、及 NHS 內部人員。

法國 EFS 的 Dr. A. Assal 說明法國對於供血者執行 HCV 及 HIV-1 NAT 篩檢之結果。自 2001 年 7 月法國開始施行 HCV 及 HIV-1 NAT 篩檢，至 2002 年 10 月為止 16 個月期間共篩檢 3,232,046 單位，所用之篩檢系統有兩種：Procleix HIV-1/HCV Assay (GenProbe/Chiron) 及 BioMérieux/Roche system。使用 Procleix HIV-1/HCV Assay 有 5 個實驗室以 8-sample pools 檢測，4 個實驗室採 individual donor testing 方式；使用 BioMérieux/Roche system 有 9 個實驗室，以 24-sample pools 檢測。期間發現有二件 HIV 陽性血袋以 pooled-sample NAT 未能檢測出 HIV，其中一件因其抗體檢測為陽性，故遭攔截並未放行，該血袋 p24 Ag 檢測亦為陰性，以 single-sample NAT testing 為陽性，其 viral load 僅 27 copies/mL；另一件因抗體檢測為陰性而用於輸血，因有一位患者在輸注 5 袋 RBC 後感染 HIV，經回溯調查發現有一位供血者血清已轉為陽性，故屬空窗期傳染案例。將 NAT 納入血液篩檢項目，確實可增進輸血安全，但仍無法完全達到“zero risk”。

英國 EMEA 的 Dr. G. Silvester 說明 NAT 之相關規範，歐盟於 CPMP/BWP/390/97 規定自 1999 年 7 月開始，製造血液製劑之血漿原料應施行 HCV RNA 之 plasma pool testing。歐盟對於 HIV 及 HBV 則尚未強制規定，有關是否執行 HIV 及 HBV 之 NAT 篩檢，可先評估地區流行病學及供血者族群之感染率；對於供血頻繁之血漿分離術供血者，因其在血清轉陽前可能已供血數次，施行 NAT 可縮短檢測空窗期，提昇血液安全性。

最近有關經由輸血而感染無套膜病毒（如 HAV、Parvovirus B19）之情形漸受重視，由於 HAV 低病毒含量之血漿仍具傳染性，目前認為 plasma pool 之 HAV NAT 檢測對增進其安全性之助益有限，重點應在於病毒去除/去活化之過程（BWP/BPWG 會議之結論，2001 年 3 月）。Parvovirus B19 因感染率高，一般人感染 B19 後，只是類似感冒症狀，且體內免疫反應會產生具有保護性之抗體，但對於免疫功能缺乏或紅血球增生症之患者及懷孕婦女，則會造成較大的傷害。由於製程中病毒去除/去活化步驟對 Parvovirus B19 效果有限，目前是建議於 manufacturing pool 進行 NAT 檢測，避免病毒含量過高。

法國 EDQM 的 Dr. K.-H. Buchheit 說明 EDQM 對於血液製劑 NAT 試驗之規範。有關血漿原料中 Parvovirus B19 之含量，歐洲藥典規定自 2004 年 1 月 1 日開始，製造 Human anti-D Ig 之 plasma pools 應執行 B19 NAT 檢測，病毒含量不得超過  $10^4$  IU/mL；對於 Human plasma (filtered & virus inact.) [SD-plasma] 則要求自 2004 年 7 月 1 日開始執行。

#### (5) NAT 與其他血液安全性之檢測

德國 PEI 的 Dr. R. Seitz 說明有關血液安全性之議題。輸血可能承受之風險包括感染病原、免疫副作用、及因失誤或不必要的暴露造成的危險。施行血液病毒 NAT 篩檢可降低病毒感染之機率，德國紅十字血液中心自 1995 年開始主動施行 HIV、HCV、及 HBV 之 PCR 檢測。PEI 規定自 1999 年 4 月 1 日開始，德國所有血液均應以 NAT 檢測 HCV，並將要求自 2004 年 5 月 1 日起應增加 HIV 之 NAT 檢測。

英國 University of Edinburgh 的 Dr. P. Simmonds 介紹 HHV-8 及 HGV/GBV-C 等有套膜病毒 (enveloped virus)。HHV-8 (Human Herpesvirus 8) 為最新被確認的人類疱疹病毒，會影響 B-cell 及上皮細胞，感染盛行於赤道非洲、南美洲、及東南亞等地區。診斷 HHV-8 之感染可檢測血清中之抗體、病毒體、或抗原，亦可以 PCR 檢測病毒 DNA。感染 HHV-8 可能引發 Kaposi's sarcoma，若合併感染 HIV，則會增加 Kaposi's sarcoma 的發生率。HGV/GBV-C 為 RNA 病毒，於人類感染率約 3-10%，目前未知與疾病之相關性，其並不會感染肝臟，而 HIV-1 感染者若合併感染 HGV/GBV-C，則會延緩 HIV 疾病之進程。奧地利 Baxter 公司的 Dr. G. Zerlauth 介紹 Parvovirus B19。Parvovirus B19 為無套膜病毒 (non-enveloped virus)，且病毒顆粒很小 (~20 nm)，故不易被一般化學或物理方法將其不活化，也不易經由濾膜或色層分析法將其去除。感染後體內 B19 病毒含量可能高達  $10^{12}$  IU/mL，一般慢性帶原者病毒量則小於  $10^4$  IU/mL。為降低血液製劑中 B19 病毒量，建議對於 plasma pools 施行 B19 病毒含量檢測，避免 production pools 之 B19 病毒含量超過  $10^4$  IU/mL。

英國 CEH 的 Dr. E. Gould 介紹 West Nile Virus (WNV) 的診斷、演化、及傳播。West Nile Virus 為 Family *Flaviviridae*、Genus *Flavivirus*，與黃熱病毒、日本腦炎病毒、登革熱病毒為同一屬，診斷方法可檢測抗體、抗原、或病毒 RNA。WNV 可感染很多種動物，包括鳥類、蚊子、馬、狗、及人類等。人感染 WNV 後可能引發腦炎、腦膜炎、肌肉無力或麻痺等症狀。自 1996 年開始，羅馬尼亞、義大利、俄羅斯、以色列、法國均曾發生流行，最近則是發生在北美地區。自 1999 年至 2002 年美國有超過 4000

個案例，約有 300 人死亡，故美國及加拿大的血液中心自今年 7 月起將 WNV 檢測納入血液篩檢項目。

#### (6) 危險性與經濟效益之評估

英國 SNBTS 的 Dr. B. McClelland 說明使用血品及血液製劑之危險性評估與處理。對於血品之危險性評估與處理包括 GMP、施行檢驗、排除不適用者、病原滅除、正確使用、及提供病人相關資訊。對於血液製劑之危險性評估與處理包括應符合 GMP 標準、若無法符合或維持時，應停止生產、對於製程中無法有效去活化或去除之病原應有處理策略、正確使用、及提供病人相關資訊。輸用血品或血液製劑對病人而言均須承擔其可能的危險性，包括產品之安全性及有效性、儲存及運送過程可能有破損或污染、處方及給藥之正確性、輸注速率、對病人不當監測等。故應先評估其對病人是有益的，且無其他安全可取代方式的情況下，才使用血品或血液製劑。

英國 University College London 的 Dr. R. Tedder 說明血液篩檢經濟效益之評估。隨著血液病毒被發現的種類增加，及檢驗技術的進步，血液篩檢的項目及檢驗方法亦隨之更新，但也增加檢驗成本。在對危險性與經濟效益進行評估時，仍應優先考量供血之安全性。

## (二) WHO 基因擴增技術標準化會議(Standardization of Genome Amplification Techniques, SoGAT)

WHO 基因擴增技術標準化會議是由 WHO 生物製劑國際標準品實驗室--英國國家生物製劑標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 主辦，此次為第十六次會議，於 2003 年 7 月 3 日在德國 Paul Ehrlich Institute (PEI) 舉行。此次會議討論內容包括 (1) HIV、(2) West Nile Virus 及新興病毒、(3) HBV、(4) Parvovirus B19、(5) NAT 標準化、(6) NAT 檢測現況、及 (7) NAT 之品質管制等議題。

### (1) HIV

首先由英國 NIBSC 的 Dr. H. Holmes 對目前 HIV-1 國際標準品進行報告。WHO 第一個 HIV-1 RNA 國際標準品之製備是由美國 CBER、英國 NIBSC、及荷蘭 CLB 共同合作，由三件候選標準品 (XX、YY、ZZ) 進行共同標定計畫後，經 WHO Expert Committee (ECBS) 決定 YY 為第一個 HIV-1 RNA 國際標準品 (編號 97/656)，每瓶標準品含量 100,000 IU。該標準品最近被發現含有 HBV DNA，含量約  $3.5 \times 10^4$  copies/mL，以 Procleix Triplex assay 檢測，將 HIV-1 RNA 國際標準品稀釋至 100 IU/mL 時，可測得 HBV DNA 含量為 611 IU/mL。使用該標準品並不影響對單項 HIV-1 或不含 HBV 之多項 NAT 檢測，但並不適用於同時檢測 HIV-1 及 HBV 之 multiplex NAT，NIBSC 目前計畫以候選標準品 XX 進行第二個 HIV-1 病毒核酸國際標準品之製備作業。

澳洲 NRL 的 Dr. S. Best 介紹對於 HIV NAT 篩檢之品



保作業，執行 EQAS (external quality assessment schemes) 計畫，每年提供 3 組 NAT panels (2 組來自 NRL、1 組來自荷蘭 VQC 實驗室)，藉以評估各實驗室對血液 NAT 篩檢之品質與一致性。

美國 CBER/FDA 的 Dr. I. Hewlett 說明 CBER 之 HIV-1 subtype panel 及 West Nile Virus lot release and validation panel。CBER HIV-1 subtype panel 包括 group M subtype A-G、group N、及 group O，可用於建立檢驗方法之檢測限度及血液篩檢用 HIV NAT assays 之批次放行試驗。West Nile Virus (WNV) 於 2002 年在美國流行，可經由輸血、移植、哺乳而感染。WNV 於血中病毒含量低(約  $1-5 \times 10^3$  copies/mL)，故以 pooling 方式執行 WNV NAT assays 之靈敏度可能不足，目前 FDA 的標準是對 individual donation 定為 100 copies/mL。為因應 WNV NAT assays 之許可申請與上市後監督，CBER 開始製備 West Nile Virus lot release panel，目前已對於 2 個 strains (NY99 及 HuWNV2002) 進行評估，後續將執行共同標定研究。

## (2) West Nile Virus 及新興病毒

有關對於 WNV 之檢測方法，由美國 Chiron 公司的 Dr. B. Phelps 介紹定性及定量 WNV Taqman assay。Gen-Probe 公司的 Dr. J. Linnen 介紹 Procleix WNV assays，應用 Transcription Mediated Amplification (TMA)，與 Gen-Probe 其他 NAT blood screening assay 使用相同的設備平台，2003 年 6 月 19 日已開始於血液中心使用。美國 BBI 公司的 Dr. M. Manak 介紹該公司的 WNV panels 及 controls，包括 positive control、negative control、及 qualification panels (NY99 strain 及 Uganda strain)。

### (3) HBV

德國 University Giessen 的 Dr. W. Gerlich 說明 HBsAg 試驗在血液篩檢上之限制。HBsAg 試驗以 ELISA 檢測靈敏度最佳可達 10 pg/mL，或  $10^6$  HBV particles/mL，若感染初期可能 HBsAg 含量不足，造成偽陽性結果。德國有一位供血個案，其血液 2002 年 7 月 16 日以 AxSym kit 檢測 HBsAg 為陰性，HBV DNA 含量 2000 genomes/mL；2002 年 9 月 17 日以 AxSym kit 檢測為陽性，以 Enzygnost kit 檢測為陰性；2002 年 9 月 21 日以 Enzygnost kit 檢測為陽性，HBV DNA 含量 3200 genomes/mL；到 2003 年 5 月 12 日檢測轉為 HBsAg、HBV DNA 陰性，anti-HBc、anti-HBs 陽性。而接受該供血者 2002 年 7 月 16 日血袋之病人則被確定感染 HBV，且成為帶原者。要早期檢測 HBV 可考慮使用高靈敏度的 NAT screening，但必須評估其檢測限度及花費成本，且 NAT 並無法取代 HBsAg 或 anti-HBc 檢驗。

### (4) Parvovirus B19

法國 EDQM 的 Dr. K.- H. Bucheit 說明建立歐洲藥典 BRP 之 B19 NAT 標準品之共同標定研究。候選標準品來源為 B19 陽性血漿（約  $10^9$  IU/mL），以陰性血漿稀釋至  $10^6$  IU/mL，分裝 0.5 mL/瓶再凍結乾燥。有 16 個實驗室參與共同標定計畫，結果經統計分析，最後將該 B19 標準品含量定為  $10^{5.8}$  IU/mL。

美國 CBER/FDA 的余翁美瑛博士說明 B19 NAT screening。FDA 於 2002 年 3 月 BPAC 會議討論 B19 NAT，建議製造血液製劑之血漿 manufacturing pools 之 B19 DNA 含量應  $<10^4$  IU/mL，全血應盡量確認 B19 高含量之血袋，

避免用於輸血。2002 年 12 月 BPAC 會議提出應避免 B19 高含量 ( $>10^6$  geq/mL) 之血品被用於輸血，並通知供血者作為醫療之參考。

德國 BSD Hessen 的 Dr. W. Roth 說明對於 pooled donor samples 之 B19 NAT 檢測。德國紅十字輸血服務中心對於 B19 及 HAV 之 NAT 檢測，使用與 HCV、HIV、HBV 相同之核酸萃取物，以定量 TaqMan PCR 方法，對於 B19 及 HAV 之 95% 檢測限度為  $10^3$  IU/mL。B19 陽性 pools 若  $\geq 10^5$  IU/mL，將確認個別陽性血袋，並將其銷毀；若  $<10^5$  IU/mL，則不再確認個別血袋，並將所有血袋放行。B19 NAT 篩檢為陰性 ( $<10^3$  IU/mL) 之血品，個別標示 “Parvovirus B19 not detectable”，用於懷孕或免疫功能不全等高危險群。B19 NAT 篩檢為弱陽性 ( $>10^3$ ;  $<10^5$  IU/mL) 之血品，則不作特殊標記，用於一般病人。

#### (5) NAT 標準化

美國 Ambion Diagnostics 的 Dr. C. WalkerPeach 介紹該公司發展之 Armored RNA Quant，可用 phosphate assay 或 HPLC assay 進行 in vitro Armored RNA quantification。

奧地利 Baxter 公司的 Dr. M. Gessner 及 Dr. G. Zerlauth 說明有關檢測靈敏度之概念。理論上 NAT 篩檢之 pool size 為 96 時，HCV 陽性率約為百萬分之 0.6，HIV 也約為百萬分之 0.6；以 individual donation 進行篩檢時，HCV 陽性率約為百萬分之 0.65，HIV 約為百萬分之 0.9。美國紅十字會剛開始施行 NAT 之 pool size 為 128，檢測 2,338,304 件檢體，HCV 陽性率為百萬分之 3，HIV 未發現有陽性檢體；pool size 縮小為 16 後，檢測 9,084,162 件檢體，HCV 陽性

率為百萬分之 3.3，HIV 陽性率為百萬分之 0.22。日本紅十字會剛開始施行 NAT 之 pool size 為 500，檢測 1,668,926 件檢體，HCV 陽性率為百萬分之 3，HIV 未發現有陽性檢體；pool size 縮小為 50 後，檢測 16,483,458 件檢體，HCV 陽性率為百萬分之 3，HIV 陽性率為百萬分之 0.33。由美國紅十字會及日本紅十字會所發表之結果顯示，縮小 pool size 對檢出率影響似乎不大，但在評估檢測方法時，應就檢測靈敏度及 pool size 一併考量。

#### (6) NAT 檢測現況

首先由本局陳惠芳科長報告有關台灣血液製劑病毒安全性之研究結果，為配合國血國用政策，中華血液基金會將國人血漿委託英國 SNBTS 代工製造成血液製劑後，再送回國內使用。血漿原料均由 SNBTS 執行 HIV、HCV、HBV、HAV、及 B19 之 mini-pool NAT 檢測，其中前兩批送至英國之血漿並未施行 B19 檢測。為評估國血製劑之病毒安全性，本局針對 17 批 IVIG 及 7 批 Factor VIII 進行 HBV、HCV、及 B19 之檢測，結果所有 IVIG 均未檢出此三種病毒，Factor VIII 其中有一批檢測出 B19，其餘則均為陰性，經查該批產品係使用尚未施行 B19 NAT 檢測之血漿所製造。本局亦對其他六家國外製造廠生產之 Factor VIII 檢測 B19，結果該六家國外製造廠均有產品被檢出 B19，所以 Factor VIII 產品含 B19 之情形相當普遍。我國衛生署為確保血漿藥品之品質及安全性，於 2002 年 12 月 19 日公告「由人血漿製得血漿藥品管理規定」，規定混合血漿應以 NAT 檢測 HIV、HBV、HCV 為陰性後，始得供作原料血漿。對製程中病毒去活化/去除步驟及非套膜病毒 (HAV 及 B19) 亦有規範，並建議於混合血漿施行 B19 之

NAT 檢驗，其檢驗結果低於  $10^5$  IU/mL，可供作原料血漿。

英國 National Blood Service 的 Dr. R. Eglin 及波蘭 HBTS 的 Dr. E. Brojer 分別介紹該國 NAT 檢測之現況。接著由義大利 Kedrion 的 Dr. E. Moretti 說明該公司 NAT 檢測，對 HIV-1、HBV、HCV 使用 Roche Cobas Ampliscreen，對 HAV、B19 使用 in-house 方法 (ABI PRISM 7900HT)。評估 B19 檢驗方法，其檢測限度為 133.35 IU/mL，於  $10^3$ - $10^5$  IU/mL 呈線性相關。

#### (7) NAT 之品質管制

義大利 Institute Superior di Sanita 的 Dr. M. Wirz 說明對於 HCV 六種主要 genotype NAT 檢驗之外部品質評估 (external quality assessment, EQA)，有阿根廷、奧地利、澳洲、加拿大、德國、義大利、瑞士、英國、美國共 31 間實驗室參與，包括血液製劑廠、診斷試劑廠、及血液中心。評估結果顯示對 genotype 1-3 之檢出率為 100%，genotype 4 為 96.7%，genotype 5 為 98.3%，genotype 6 為 98.3%，偽陽性率為 1.7%。整體而言，此次實驗室品質評估結果尚合適。

日本紅十字會血液中心的 Dr. H. Yugi 介紹日本之 HBV、HCV、HIV panels，每種 panel 各 100 件檢體，HBV panel 包括 genotype A、B、C、D、F 及陰性檢體，HCV panel 包括 genotype 1b、2a、2b 及陰性檢體。

大會最後討論 SoGAT 之發展方向與任務，應致力於與血液、組織及器官之病毒安全性相關之定性與定量核酸檢驗之標準化：

1. 血液病原(含病毒、細菌及寄生蟲)核酸試驗之國際標

準品與參考試劑之開發、評估與供應。

2. 執行候選標準品之實驗室共同標定計畫。
3. 建立主管機關、研究實驗室、血液製劑製造廠、檢驗試劑製造廠、診斷實驗室、血液銀行間之溝通管道。
4. 新一代試劑與標準品之研究與開發。
5. 新興病原及基因變異病原所需檢測標準品之開發。
6. 新興技術(如多引子核酸檢測方法、微陣列檢測方法)所需標準品之開發。
7. 核酸濃度與抗原濃度及感染力之相關性評估方法之建立。
8. 病原滅除方法之評估與檢測感染力所需標準品之開發。

### 三、參訪 Biotest Pharma GmbH 製造廠

於 7 月 4 日參訪位於德國 Dreieich 的 Biotest Pharma GmbH 製造廠，由該公司遠東區業務經理 Mr. Ulrich A. Fischer 負責安排相關事宜。Biotest Pharma GmbH 製造廠隸屬於 Biotest AG 公司，該公司之產品包括診斷試劑、醫療器材、及藥品，而 Biotest Pharma GmbH 製造廠主要生產血漿製劑類藥品，所生產之產品輸入我國的有白蛋白、血清蛋白、免疫球蛋白、凝血因子、及器官移植時使用之特殊免疫球蛋白（例如：Hepatect、Cytotect）等。

此次參訪的重點在於了解該廠對於製造血液製劑之血漿原料施行病毒核酸擴增技術（NAT）檢測之情形，首先由品管部門 Dr. R. Schweitzer 說明該廠使用血漿原料，對供血者之檢驗包括 HBsAg、anti-HIV-1/2、anti-HCV、及 ALT，plasma pool 均以 NAT 檢測 HBV、HIV、HCV，各病毒之檢測限度 HBV 為 < 10 geq/mL、HIV 為 < 100 geq/mL、HCV 為 < 25 IU/mL。接著至 NAT 檢測部門參觀檢驗情形，部門主管 Dr. C. Jochum 說明該廠對於 plasma pool 施行 HIV、HCV、HBV、HAV、及 Parvovirus B19 之 NAT 檢測，對 manufacturing pool 則施行 HIV、HCV、HBV 之 NAT 檢測。但本局檢測該公司生產之第八凝血因子中仍含 Parvovirus B19，再進一步查詢，其說明該廠所屬血液中心之血漿均施行五種病毒之 NAT 檢測，但血漿來源有部分係購自其他血液中心，可能僅施行 HIV、HCV、HBV 三種病毒之 NAT 檢測，且 manufacturing pool 未再對 HAV 及 Parvovirus B19 施行 NAT 檢測，可能是造成產品中含

Parvovirus B19 之原因。對於此點，我們建議該廠若是 plasma pool 未施行 Parvovirus B19 NAT 檢測，則對 manufacturing pool 應執行該項檢測，以避免產品中 Parvovirus B19 含量過高，有助於提昇安全性，該廠人員亦表示了解並將積極改善此項缺失。



#### 四、心得

1. WHO 基因擴增技術標準化 (SoGAT) 會議是由 WHO 生物製劑國際標準品實驗室--英國國家生物製劑標準品暨管制研究所 (NIBSC) 主辦，此次應邀於會議中發表演講，在當前我國無法參與世界衛生組織官方活動下，仍能於 WHO 相關會議中發表論文，不僅使與會之各國人員認識我國，更能增進與其他國家交流之機會。
2. 藉由參加此次國際性會議，可獲取有關核酸擴增技術之新知，並了解各國對血液病毒之檢測與管理現況，作為我國制定血液製劑原料血漿規範之參考，以因應國血國用血液製劑之原料血漿查核與檢測污染病毒之審核管理，提昇血液製劑之品質與安全性。
3. WHO 生物製劑國際標準品實驗室所製備之第一個 HIV-1 病毒核酸國際標準品，最近被發現內含 HBV 病毒核酸，雖不影響對單項 HIV-1 之 NAT 檢測，但並不適用於 HIV-1 及 HBV 之 multiplex NAT 檢測，NIBSC 目前已進行第二個 HIV-1 病毒核酸國際標準品之製備作業。該項經驗可作為各國製備 NAT 檢驗用病毒核酸標準品之借鏡。
4. 我國衛生署於 91 年 12 月公告「新增由人血漿製得血漿藥品管理規定」，要求製造血漿藥品之原料血漿應以 NAT 檢測 HIV、HBV 及 HCV 為陰性，且對製程中病毒去活化/去除處理步驟，及 HAV 與 Parvovirus B19 制定相關規範，可確保其安全性，且符合歐美等國對血漿

藥品病毒安全性之建議。

5. 會議期間與各國包括美國 FDA、歐盟 EMEA、德國 PEI、英國 NIBSC、澳洲 CSL、日本 NIID 等主管血液製劑病毒安全性之官員建立良好友誼與溝通管道。
6. 藉由參訪血液製劑製造廠，可實地了解製造廠對於血液製劑病毒安全性及製程中品質之監控與管理，並對其缺失提出改進建議。

## 五、建議

1. 建議能多鼓勵同仁參加國際性研討會，以汲取國外科  
技最新發展相關資訊及知識，更應積極爭取於會中發  
表論文或發言的機會，有助於提昇我國之國際知名度  
及與國際間接軌，希望能有助於推動我國參與世界衛  
生組織會員國之願景能早日達成。
2. 歐美日各區血液中心為提高使用血品之病毒安全  
性，目前幾乎已對捐血者血漿實施HCV及HIV-1之核  
酸增幅檢測（NAT）試驗，NAT可直接偵測血漿中病  
毒，縮短病毒檢測空窗期。然而我國捐血中心至今尚  
未進行NAT檢測相關病毒，實應儘速規畫並執行之，  
以提高血品安全性。
3. 有關新興病毒（Emerging Viruses）方面，北美地區於  
2002年發生West Nile virus（WNV）之傳播，該病毒  
可經由血液傳染。目前廠商已發展出WNV NAT定量  
檢測方法，美國FDA亦正在製備相關panels，用於對  
WNV NAT試驗之批次放行及上市後監督。我國對於  
新興病毒（例如SARS病毒）安全性之檢驗及管理，  
應可學習其他國家之經驗，建立相關規範，以保障國  
人健康。