

出國報告（出國類別：開會研習）

赴瑞士參加第 13 屆「IPFA/PEI 血液病原監測與篩檢研討會」暨第 19 屆「血液病原基因擴增技術標準化會議」
並參訪製造廠

服務機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局

姓名職稱：楊依珍 薦任技正

派赴國家：瑞士

出國期間：95.06.10-95.06.18

報告日期：95.09.08

摘 要

本次奉派出國係赴瑞士伯恩參加第 13 屆「IPFA/PEI 血液病原監測與篩檢研討會 (IPFA/PEI NAT Workshop on Surveillance and Screening of Blood Borne Pathogens)」及第 19 屆「血液病原基因擴增技術標準化會議(Standardization of Genome Amplification Techniques, SoGAT)」，並順道參訪當地之血液製劑製造廠。IPFA/PEI NAT 研討會主要探討血液中病原監測與篩檢之核酸擴增技術最新進展與相關規範，值得注意的是，此次會議中亦提及微陣列平台與奈米技術應用於血液檢測方面之可能性，然而對於這些新技術同樣需要考量到法規與品質保證等要求，因此適當的法規與指引尚待建立。SoGAT 發展方向與任務仍為致力於血液、組織與器官之 NAT 檢測標準化及 WHO 國際標準品製備等議題。藉由參與國際研討會獲取血液病毒核酸擴增技術檢測之新知與各國之管理現況，應用於本局建立血液中病毒核酸檢測體系及相關標準品之製備，並藉機建立與他國相關領域專家之溝通管道，以便日後能隨時掌握最新技術發展及建立共同合作關係。

目 次

摘要	2
目次	3
一、前言與目的	4
二、行程紀要	8
三、內容	9
(一) IPFA/PEI 血液病原監測與篩檢研討會	9
(二) 血液病原基因擴增技術標準化會議	28
(三) 參訪 ZLB Behring AG 血液製劑製造廠	46
四、心得與建議	49

一、前言與目的

近年來由於性汙濫與毒癮患者共用針頭行為遽增，使得經由體液傳染之疾病諸如 B 型肝炎、C 型肝炎、愛滋病等之蔓延日益嚴重，因此確保所使用之血液製劑的安全性也更突顯其重要性。對於血液製劑之病毒安全性，在現行法規要求下，經由捐血者之選擇、血液檢體進行 HBsAg、Anti-HCV、Anti-HIV 等篩檢項目、以 mini-pool 方式篩檢 HCV, HIV 及 HBV 病毒核酸、於製程中加入經確效之病毒去除/不活化之步驟，以及製造廠遵循現行藥品優良製造規範進行製造，已能相當程度地確保血液製劑之病毒安全性。由於血液製劑在國際間醫療使用上仍佔有一定之比例，近來又由於人體細胞組織物之相關發展，使確保血液相關病毒安全性更顯重要，亦是目前世界各國衛生主管機關持續努力之任務之一。對於血液製劑病毒之安全性，除了於血液製劑製程中須加入經確效之病毒去除/不活化步驟外，致力於篩檢出血漿原料及混合血漿中之污染病毒，進而降低污染病毒量，為世界各國持續努力之方向。由於目前病毒檢測仍有技術上之極限，也就是所謂的空窗期 (Window period)，而利用核酸擴增技術 (Nucleic Acid Amplification Technology, NAT) 可以縮短空窗期；歐盟已規定自 1999 年 7 月起對於製造成血液製劑之混合血漿均應以 NAT 檢測 HCV RNA，檢驗結果為陰性之混合血漿製成之血液製劑方可被放行，美國 FDA 已要求血液製劑製造廠於 2002 年 6 月前進行以 NAT 檢測血漿原料中 HCV 與 HIV 病毒核

酸，近期亦已核發多張分子診斷試劑許可證；日本赤十字社已自 1999 年 7 月起針對所有血品進行以 NAT 檢測 HBV、HCV 與 HIV-1，且厚生省已規範自 2000 年 3 月起全面實施；世界衛生組織亦已製備各種核酸國際標準品與工作試劑(Working Reagent)供 NAT 診斷試劑之研發與檢測體系標準化所用。另外，由於研究顯示無套膜病毒如 Parvovirus B19 較不易為病毒去除/不活化步驟所清除，已有文獻指出曾於血液製劑中檢測出 B19 病毒核酸，因此如何避免血液製劑遭受無套膜病毒（如 B19 病毒）污染，亦是目前世界各國正著重努力之方向。歐洲藥典已規範自 2004 年起製造抗 D 免疫球蛋白之血漿混合液及以溶劑清潔劑處理之血漿混合液，必須以 NAT 檢測 Parvovirus B19，未超過 10^4 IU/mL 者方能進一步製造血液製劑，FDA 亦以建議製造廠將 B19 NAT 與 HAV NAT 列為製程管制項目。我國衛生署於 90 年 11 月 6 日衛署藥字第 0900071621 號公告之「人用血漿製劑查驗登記審查準則」已規範製造血液製劑之混合血漿均應以 NAT 檢測 HCV 之病毒核酸；91 年 8 月 30 日衛署藥字第 0910054156 號公告新增由人血漿製得血漿製劑之管理規定（草案）亦已將 HBV 與 HIV 檢測項目納入，並要求以溶劑及清潔劑處理之人用血漿藥品，應加入另一道病毒去除/不活化步驟，其確效資料應顯示可有效去除/不活化 HAV 至少 10^4 IU/mL 以上，否則應以 NAT 檢測 HAV 為陰性後使得供作血漿原料；此外並建議於混合血漿或迷你混合血漿施行 Parvovirus B19 之 NAT 檢驗，結果低於 10^4 IU/mL 方可供作進一步製造血漿藥品之原料。

由於愛滋病與 CJD 等疾病於西方國家盛行率較高，同時由於本國血漿

可能具備區域性疾病如腸病毒、B 型肝炎病毒等抗體，世界衛生組織亦曾呼籲各國使用自製血漿及其衍生之製劑以降低各項危險因子。此外，目前因國際政局不穩定造成之恐怖攻擊事件影響各國血液製劑供應，造成仰賴進口之國家常處於因缺貨而危及生命安全之恐懼中，行政院科技顧問組評估我國發展血漿製劑產業，具有帶動我國相關生物產業技術與提供國人較安全血液製劑兩項優勢，故於民國 85 年 12 月 5 日行政院第十七次科技顧問會議通過推動我國血漿製劑方案，開始推動國產血漿製劑自給自足計畫。行政院已於 90 年 5 月 8 日台 90 衛字第 026815 號函核準備查「國血國用」衛生政策，於 90 年 7 月 16 日行政院台 90 經字第 042646-1 號函核准經濟部核定之「推動血液製劑工業措施」。總統並於 94 年 1 月 19 日頒布「血液製劑條例」，以達到血液製劑自製自給自足之最終目的，顯示「國血國用」政策勢在必行。為因應「國血國用」及政府鼓勵發展生物科技產業之政策，目前台灣血液基金會已公開徵求廠商委託製造國血製劑，預計近年內將成立國內第一座血液製劑製造廠，建廠階段則將血漿原料運至國外血液製劑製造廠委託製造成國血製劑供國內醫療使用，落實「國血國用」的目標。

本局身為國家血液製劑與診斷試劑品質管理機關，且因應「國血國用」國產血液製劑之檢驗管理，業已積極著手進行相關病毒核酸檢測技術之建立與病毒核酸國家標準品之製備，以加強我國對血液製劑病毒安全性之檢驗管理，保障國人使用血液製劑之安全。另核酸國家標準品除供本局將來對國產血液製劑之血漿原料進行 NAT 檢測用，亦可提供我國捐血中心與血液製劑製造廠、診斷試劑製造廠作為 NAT 篩檢血液、血漿原料或分子診斷

試劑製造品管之對照標準品，以提升其製造與檢驗水準，有助我國生物技術產業之推動，邁向亞太生技中心之目標。故藉由持續參與國際相關研討會議，獲取血液病毒安全相關新知，除作為我國對血液製劑與血品品質管理之參考，並藉機建立溝通管道，以便日後能隨時掌握最新技術法規發展及建立共同合作關係，同時亦將邀請各國相關單位參與我國核酸國家標準品之共同標定，以增進我國國家核酸標準品之公信力，進而爭取我國參與國際標準品共同標定之機會。

由於此次會議於瑞士伯恩舉辦，當地恰有一血液製劑製造廠 ZLB Behring AG，該廠目前雖無最終產品輸入我國，但部分自德國輸入國內之血液製劑前段製程之血漿分餾部份於該廠進行。因此藉赴當地參與研討會機會順道參訪了解該廠實際運作情形、血漿原料篩檢設施與流程、Fraction V 製造過程與製程管制等關鍵重點，實地了解該公司輸入國內之血液製劑製造品質與安全，有助於我國對於血液製劑之檢驗管理。

二、行程紀要

<u>日期</u>	<u>工作紀要</u>
6月10日	啓程
6月11日	抵達瑞士
6月12日	參加第13屆IPFA/PEI血液病原監測與篩檢之核酸擴增技術研討會
6月13日	參加第13屆IPFA/PEI血液病原監測與篩檢之核酸擴增技術研討會
6月14日	參加第19屆血液病原基因擴增技術標準化會議
6月15日	參加第19屆血液病原基因擴增技術標準化會議
6月16日	參訪ZLB Behring AG血液製劑製造廠及BTS SRC (Blood Transfusion Service, Swiss Red Cross)
6月17日	返程
6月18日	抵台

三、內容

(一) 第 13 屆 IPFA/PEI 血液病原監測與篩檢之核酸擴增技術研討會 (IPFA/PEI 13th NAT Workshop on Surveillance and Screening of Blood Borne Pathogens)

本年度由血液病原監測與篩檢之核酸擴增技術研討會先召開，該會係由國際血漿分劃協會 (International Plasma Fractionation Association, IPFA) 與德國生物藥品國家檢定機構 Paul-Ehrlich Institute (PEI) 共同舉辦，該會議自 1994 年起每年舉辦一次，主要目的為提供主管機關、血液製劑製造廠、診斷試劑製造廠、捐血機構與檢驗實驗室相關專家討論血液病原核酸擴增技術之最新進展與相關規範，以提升各國血液病原篩檢相關領域之知識技術與 NAT 檢測水準。

本次為第 13 屆研討會，於 2006 年 6 月 12 至 13 日在 Allegro Kursaal 飯店附設之會議中心舉辦，參與者包含各國主管機關、血液製劑製造廠、診斷試劑製造廠、捐血機構、檢驗實驗室、公私立研究機構與學校等代表參與，計有 129 位來自歐洲各國、美國、埃及、日本、台灣與南韓等國代表參與該會。會議內容包含：(1) 血液篩檢相關議題、(2) 全球議題、(3)

HBV 相關議題、(4) 其他病原篩檢、(5) 技術之進展、(6) 新興技術與在血液篩檢方面之應用、(7) 改善之技術與篩檢平台、(8) 檢體儲存庫之有效利用等八部份，其內容重點如後述。

1. 血液篩檢相關議題

美國 FDA CBER 之 *Dr. Indira Hewlett* 概要地敘述國際間（主要為美國與歐盟）有關血液篩檢方面之相關法規架構與調和一致化的工作。在美國方面，血液與血漿收集處理與配送是由私人機構負責，依據公共衛生服務法（Public Health Service Act, PHS Act）及聯邦食品藥物化妝品管理法（Federal Food, Drug and Cosmetic Act, FD&C Act），該部分由 FDA 負責管理之；此外，捐血機構亦需同時符合州政府法律與相關協會的自願性標準（如 AABB）。FDA 依據 PHS Act 與 FD&C Act，公佈相關法規於聯邦法規第 21 篇（21 CFR）內，因此具有國家法律之強制力，目前有關捐血者篩檢、暫緩捐血與通知均分別規範於 21 CFR 610.40, 610.41, 630.6，另外 FDA 亦會隨時公布指引文件，代表 FDA 當時的想法，業者如採取與指引文件不同的替代方案，只要能滿足申請狀態及法規的要求，則是可以被接受的；目前規定之捐血者病原檢測項目為 HIV（NAT, Ab），HBV（HBsAg, Anti-HBc, NAT 屬自願性），HCV（NAT, Ab），HTLV（Ab），西尼羅病毒（West Nile Virus, WNV）（NAT），梅毒與巨細胞病毒 CMV；供血液製劑製造用之血漿則另建議自願性以 NAT 檢測 Parvovirus B19 與 HAV。對於 HCV 與 HIV NAT 檢測方法之合格標準，CBER 目前更新為與歐盟一致，即對於血

漿混合液，其檢測靈敏度需能檢測到 100 IU/mL，推算回個別捐血者，HCV NAT 必須能檢測到 5,000 IU/mL，HIV NAT 必須能檢測到 10,000 IU/mL。她並提供美國捐血機構執行 NAT 篩檢成果如下表：

Virus	Dates	Units tested	NAT+/Ab-
HCV	4-10/99 to 12/04	53.3 million	230 (1/230,000)
HIV	4/99-12/00 to 12/04	50.3 million	18 (1/3.1 million)
HBV	8/02 to 12/04	1.4 million	4 (1/352,000)
WNV	7/03 to 12/05	13.1 million	1332 (1/10,000)

Table 1. Results of NAT Screening in U.S. (*Stramer et al & Busch et al, NEJM, 2005 (updated by S Stramer)*)

在歐盟方面，指令 2004/33/EC 提供了相關法規標準之依據，如 Annex III 為捐血者合適性標準，另外供製造血液製劑用之血漿尚須符合歐洲藥典之品目。在血液製劑方面，為了降低血漿混合液中之 HCV 病毒量，歐盟生技工作小組 (Biotechnology Working Party, BWP) 率先公告 HCV NAT 之相關規定，該檢測方法靈敏度需能檢測到 100 IU/mL，並明訂 1999 年 7 月 1 日起正式實施，其後歐洲藥典亦將之納入於” Human Plasma for Fractionation” 品目中成為正式規定；此外，目前歐洲藥典亦已將 B19 NAT 納入，規定製造抗 D 免疫球蛋白之血漿混合液與溶劑/清潔劑處理的血漿混合液均應以 NAT 檢測 B19 DNA，結果低於 10,000 IU/mL 者方能供進一步製造血液製劑用；對於其他病毒 (HIV, HBV, HAV 等) 之 NAT 檢測，目前仍

維持業者自願性執行狀態。在日本方面，製造血液製劑的血漿必須以 NAT 篩檢 HBV、HCV 與 HIV 為陰性，方可進一步供製造用，NAT 檢測方法靈敏度需能檢測到 100 IU/mL；日本赤十字社執行 NAT 多年後，由於發現靈敏度不足以致造成輸血感染事件，於 2004 年 8 月將其檢體混合數 (pool size) 自 50 降至 20。

目前歐盟與美國在血液篩檢方面之調和一致化工作可說是透過 WHO 來運作，如生物學標準化專家委員會 (Expert Committee on Biological Standardization, ECBS) 負責決定英國 NIBSC 製備之標準品是否能成為國際標準品，建立國際性參考物質，以及提供血液與血液製劑相關諮詢；美國 FDA 為 WHO 生物性標準之共同合作中心，提供體外診斷試劑、血漿蛋白、NAT 等方面之標準或共同合作建立標準；英國 NIBSC 則為 WHO 國際標準品之主要負責機構，主辦生物性標準品的共同合作研究。在 NAT 調和一致化的工作方面，除了前述各單位的努力外，尚有 IPFA/PEI/SoGAT 每年的會議與 PPTA 圓桌會議。另一方面，由於法規議題眾多，可能有必要先訂定調和一致化工作的優先順序標準；最後，*Dr. Hewlett* 強調：調和一致化並非指最低的共同分母，而是指有相同的血液製劑品質。

德國 Paul-Ehrlich Institute (PEI) 之 *Dr. Micha Nübling* 介紹有關血液篩檢方面新興議題之調和一致化情形。在血漿方面，他提出一些議題供大家思考，如是否要依現行技術更新 NAT 檢測靈敏度？目前 HCV NAT 檢測靈敏度規定為 100 IU/mL，他提出的原因是由於目前市售之 HCV NAT 診斷試劑之分析靈敏度 95% 檢測極限均已達 50 IU/mL 以下，同時 PEI 於 2006

年至今檢測之 331 個血漿混合液中只有 1 個為陽性 (0.3%)，相較於 1996 年檢測之 873 個血漿混合液中有 155 個為陽性 (17.8%) 之結果，顯示 NAT 檢測技術已大為進步。另一個議題是 Parvovirus B19 NAT 方法標準化之需求，由於曾有文獻報告 B19 會經由溶劑/清潔劑處理之血漿混合液傳染，因此歐洲藥典已將 B19 NAT 納入，規定製造抗 D 免疫球蛋白之血漿混合液與溶劑/清潔劑處理之血漿混合液均應以 NAT 檢測 B19 DNA，美國則建議所有製造血液製劑的血漿混合液均以 NAT 檢測 B19 DNA，檢驗結果低於 10,000 IU/mL 之血漿混合液方能供進一步製造用，但目前已知有部份市售診斷試劑無法一致地檢測到某些基因型 (genotypes)，同時為避免製造廠與官方檢驗機構之間定量結果不一致，Parvovirus B19 NAT 方法標準化實有其必要性，而 B19 genotype panels 之建立亦有其必要性。另外在血液成分方面，他也提出一些議題供大家思考，如是否要依現行技術更新 NAT 檢測靈敏度？目前 HCV NAT 檢測靈敏度規定為必須能檢測到個別捐血者 5,000 IU/mL，他提出的原因是目前市售之 HCV NAT 診斷試劑之分析靈敏度 95% 檢測極限均已達 50 IU/mL 以下，同時德國自 1999 年實施 HCV NAT 檢測後已無經血液傳染 HCV 之案例發生，僅有 2005 年一例 HCV genotype 2 未被篩檢出而造成輸血傳染之報告。另一個議題是 Combi (Ag+Ab) 檢測法是否可能取代 NAT 檢測法？他們以 48 組 panels 及 34 組 panels 分別對 HIV 與 HCV 各式檢測試劑進行評估之結果顯示，NAT 檢測法之檢測靈敏度仍明顯優於 Combi (Ag+Ab) 檢測法。

2. 全球議題

我國台大醫學院附設醫院之劉俊人醫師概述亞洲地區輸血後感染 HBV 的問題。他首先指出輸血相關議題在亞洲開發中國家與在已開發國家所討論之主題是不同的，在開發中國家討論的內容是輸血服務機構之整合、自願捐血者之招募、臨床用血之教育、篩檢系統品質之提升以及人員訓練之擴增，而在已開發國家所討論的，在血清學檢測方面如加強自動化、控制過程、增加靈敏度及檢測 HBsAg mutants 等內容，在 NAT 檢測方面如減少檢體混合數 (pool size)、加強自動化、同時檢測多種病原之 multiplex、成本效益分析等內容。另外在亞洲有一個獨特的問題—Occult HBV 感染，Occult HBV 是指血液或組織中存在 HBV DNA (通常低於 1,000 copies/mL)，但不存在 HBsAg，其他如 Anti-HBc, Anti-HBe, Anti-HBs 等標記則可能有不同的診斷結果，經整理文獻結果發現，如只有 Anti-HBc 為陽性時，其 HBV 病毒量較高。對於已開發且 HBV 盛行率低的國家，捐血篩檢之策略是排除目前與過去曾感染者，簡而言之，即排除 HBsAg 或 Anti-HBc 陽性者，隨著 NAT 檢測之實施，更進一步減少輸血後感染案例；對於亞洲 HBV 盛行率高的地區，捐血篩檢之策略是排除 HBsAg 陽性與 ALT 值較高者，因 Anti-HBc 陽性者過多而無法逕予排除，如此雖可預防大部分的輸血後感染，但卻無法避免 Occult HBV 感染之潛在風險。

	Low	Intermediate	High
Countries	Australia, Japan, New Zealand	India, Thailand, Korea, Malaysia, Pakistan, etc	Taiwan, Indonesia, South Asia, SEA, Mongolia, etc
HBsAg (+)	<2%	2-7%	≥8%
Previous HBV infection	4-15%	16-55%	40-90%
Occult HBV	<5%	--	4-25%

Table 2. Prevalent Overt and Occult HBV Infection in Asia

劉醫師他們團隊評估研究台灣 4,448 位受血者中的 456 位 Anti-HBc 與 HBV DNA 陰性受血者，經後續追蹤 6 個月，追蹤資料完整的 327 位中有 5 位確認遭輸血後感染 HBV，該研究與 2002 年發表之另一項研究報告所推測台灣輸血後感染 HBV 之風險相當一致，分別為 100/10⁶ units 與 200/10⁶ units。結果顯示在亞洲 HBV 盛行率高的國家，輸血後感染 HBV 的發生率明顯高於西方已開發且 HBV 盛行率低的國家，因此，為增加輸血安全，採用新的篩檢策略（增加 HBV NAT 檢測項目）以排除 Occult HBV 捐血者實有迫切之必要。

南非 National Blood Service 的 *Dr. Robert Crookes* 說明 HIV 在該國是主要的議題，他們透過一些盛行率調查結果進行統計分析，進而對輸血後感染進行風險管理，訂定相關策略以減低輸血後感染之風險，如捐血者篩選程序、未來捐血者之教育、採用自願無償捐血策略等。此外並藉由盛行率統計分析結果確認以個別檢體檢測 NAT (ID NAT) 之理由，如 HIV

在南非族群中的某一世代其盛行率相當高，mini-pool NAT 將無法顯著降低檢測空窗期，而以 ID NAT（檢測極限低於 50 copies/mL）來進行篩檢，將可大幅減少輸血後感染案例。

3. HBV 相關議題

德國 National Consulting Laboratory for HBV and HDV 之 *Dr. Wolfram H. Gerlich* 報告目前 HBV 病毒安全缺口的局面。首先亦是著眼於 Occult HBV 感染，他舉出一些文獻報告有關遭 HBsAg 陰性輸血感染的案例，經回溯分析發現部分原因為捐血時尚未進行 HBV DNA 篩檢，而部分原因則為 HBV DNA 篩檢之靈敏度不足，如 2004 年一例感染案經回溯分析發現其 HBV DNA 含量低於 12.5 IU/mL（以 single donation 檢測），而捐血篩檢時採用之 mini-pool 檢測極限為 50 IU/mL；另外他也舉例說明 Anti-HBc 與 Anti-HBs 均為陽性的捐血者也未必安全，因為他們可能帶有具感染力的 escape HBV mutants。*Dr. Gerlich* 最後歸納一些造成 HBsAg 篩檢失敗的原因，如感染早期、Occult HBV 感染、escape mutants、以及 HBsAg 篩檢試劑之檢測靈敏度與對 variants 的檢測能力等，針對失敗原因訂定策略方能有效改善捐輸血安全。

瑞士 BTS SRC (Blood Transfusion Service, Swiss Red Cross) 之 *Dr. Christoph Niederhauser* 報告他們的 HBV 篩檢策略。目前瑞士對於捐輸血之 HBV 病毒安全要求僅規定 HBsAg 篩檢項目，他們擬藉由 BTS Berne

與 BTS VD 兩中心的共同研究評估 Anti-HBc 或 HBV NAT 之可行性，其中 HBV NAT 僅由 BTS Berne 採用 Roche Cobas Ampliscreen HBV 試劑執行，檢體混合數 (pool size) 為 24，BTS VD 採用兩種 Anti-HBc 試劑執行。研究結果顯示，BTS Berne 篩檢之 18,143 支檢體中，Anti-HBc 與 HBV NAT 均為陰性者有 17,593 支，約為 96.97%，Anti-HBc 陽性但 HBV NAT 陰性者有 549 支，約為 3.03%，Anti-HBc 與 HBV NAT 均為陽性者有 1 支，約為 0.02%，進一步對 550 支 Anti-HBc 陽性者以確認試驗 (Confirmation tests) 進行確認，發現 HBV ID NAT 檢測結果均為陰性，評估其 Anti-HBc 盛行率約為 1.44%；BTS VD 篩檢之 4,186 支檢體中，兩種 Anti-HBc 試劑檢測結果均為陰性者有 3,981 支，約為 94.96%，其中一種 Anti-HBc 試劑檢測結果為陽性者有 205 支，約為 5.04%，進一步以確認試驗進行確認，評估其 Anti-HBc 盛行率約為 2.05%。

4. 其他病原檢測

美國 Blood Systems Research Institute 之 *Dr. Michael Busch* 說明以 NAT 檢測細胞相關病毒 (Cell-associated viruses) 之現況及相關技術之發展需求。他指出需要發展大量自動化進行全血檢體核酸萃取、擴增與檢測系統的原因是：目前現行血液成分 (白血球、紅血球與血小板) 之傳染性病毒 NAT 篩檢是檢測血漿，因此一些細胞相關病毒之 NAT 檢測方法是受限的，如 CMV, EBV 與 HHV-8 等 Herpes viruses 與 HTLVs, PTLV (Primate T-lymphotropic virus) 及 SFV (Simian foamy virus) 等 Retroviruses，

曾有文獻提及自血漿中檢測到 CMV DNA 陽性之比例極低，192 支檢體中僅有 3 支。目前已有一些與紅血球或血小板相關之 HIV RNA 評估研究、全血或相關血球細胞中 HCV RNA 檢測值高於血漿、以及紅血球細胞中 WNV RNA 檢測值高於血漿等文獻報告。其他尚有與輸血後淋巴增生症狀有關之 EBV、愈來愈多輸血傳染證據顯示之 HHV-8、以及跨種傳染人類之靈長類反轉錄病毒 SFV, SIV, SRV (Simian type D retrovirus) 等細胞相關病毒均需更加深入研究。最後 *Dr. Busch* 提醒我們應多關注於細胞相關病毒對於輸血所造成之風險，因為現行以 NAT 篩檢血漿的系統可能不完全有效，亟待建立快速靈敏之細胞相關病毒篩檢系統。

德國 Robert-Koch Institut 之 *Dr. Matthias Niedrig* 以該機構的相關研究數據綜述歐洲一些重要病媒傳播之病毒感染現況，內容包含登革熱、黃熱病、西尼羅病毒 (West Nile Virus, WNV) 感染及蜱傳腦炎 (Tick-borne encephalitis, TBE)，西尼羅病毒 (West Nile Virus, WNV) 雖主要流行於美國與加拿大，但其媒介為候鳥，同時亦仍有可能會藉由國際間旅行頻繁而傳入歐洲；另外，蜱傳腦炎案例近年來在歐洲有顯著增加之趨勢，大約每年新增 1 萬例，可能因目前每年約有 6 千萬歐洲人到蜱傳腦炎流行區旅行的緣故；他最後並建議以 NAT 檢測病毒方能及早診斷，目前他們評估實驗室以 NAT 檢測 TBE 病毒能力之研究結果發現多數實驗室尚有改善空間。

5. 技術之進展

澳洲 Australian Red Cross Blood Service 之 *Dr. Angelo Margaritis* 報告該機構進行兩大最新自動化系統同步檢測 HCV/HIV RNA 與 HBV DNA 之評估比較研究結果，包含系統特色、分析靈敏度與特異性、操作性能與可靠性，並以香港捐血中心捐血檢體進行臨床評估，同時獲取該族群 HBV DNA 陽性/HBsAg 陰性之盛行率，了解進行 HBV NAT 之效益，以及檢體混合數 (pool size) 對於 HBV NAT 之影響。目前最新的兩大系統為：(1) Chiron 公司 Procleix Ultrio Assay 篩檢試劑，搭配 Procleix Tigris 儀器之整套血液篩檢系統，是整套全自動之 HCV, HIV-1 與 HBV 血液篩檢系統，採個別檢體檢測 (Individual donor testing, IDT) 之形式進行；(2) Roche 公司 Cobas Taqscreen MPX Test 篩檢試劑，搭配 Cobas s 201 儀器之整套血液篩檢系統，是整套全自動之 HCV, HIV-1/2 與 HBV 血液篩檢系統，採 6 支檢體混合檢測 (Pooled donor testing) 之形式進行。其系統特色比較表如下：

Characteristic	Chiron Procleix Ultrio Assay & Procleix Tigris	Roche Cobas Taqscreen MPX Test & Cobas s 201
NAT Technology	TMA	Real-Time PCR
Testing Configuration	HIV-1/HCV/HBV + Discr Individual donor testing	HIV-1,2/HCV/HBV Pooled donor testing
Platform Configuration	Single instrument System	Modular system
Facility Requirements - Minimum space requirement - Room separation required - Operating conditions - Air flow requirement	2.4m×3.3m (7.9m ²) No Temp: 15-25°C Humidity: 20-85% NL	4.5m×2.8m (12.6m ²) No Temp: 15-30°C Humidity: 15-80% NL
Throughput 200 samples/day	7 hours (200 tests)	7 hours (34 tests)

分析靈敏度評估是以系列稀釋之 WHO 標準品 (HIV-1 RNA, HCV RNA, HBV DNA) 分別於兩套系重複進行 24 次，以 Probit analysis 統計分析其 95% 檢測極限，結果如下表，只有 HCV 部分有顯著差異：

WHO Standard	95% Detection Limit (IU/mL)		
	Procleix Ultrio	Cobas MPX	Significance (p<0.05)
HIV-1 (97/650)	42.2 (24.8-99.3)	50.5 (29.6-118.2)	No
HCV (96/798)	2.0 (1.4-7.4)	6.0 (3.9-12.5)	Yes
HBV (97/746)	12.2 (7.3-29.2)	8.4 (5.0-21.7)	No

以香港捐血中心 10,397 支捐血檢體進行臨床靈敏度評估，總計 72 支為兩系統檢測結果均為陽性，其中 71 支均為 HBV DNA 陽性/HBsAg 陽性，1 支為 HCV RNA 陽性/Anti-HCV 陽性；另有 6 支為兩系統檢測結果不一致，值得一提的是，其中 1 支為 HBV DNA 陽性/HBsAg 陽性，但僅有 Cobas MPX 檢出而 Ultrio 未檢出，另有 4 支為 HBsAg 陰性但 HBV DNA 陽性，由兩系統分別檢出兩支不同的陽性檢體，依此結果初估該地區 HBV DNA 陽性/HBsAg 陰性之盛行率，了解其 HBV NAT 之效益約為 0.04%。此外他們並探討檢體混合數 (pool size) 對於 HBV NAT 之影響，將原經兩系統檢測為陰性之 3,025 支檢體再以個別檢體單支檢測方式評估 Cobas MPX 系統之檢測能力，結果比原先以 6 支檢體混合檢測方式額外多檢測出 1 支陽性；將原經兩系統檢測為陽性之 71 支陽性檢體再分別以 1:4 及 1:8 稀釋之檢測方式評估 Ultrio 系統之檢測能力，結果 1:4 稀釋時該 71 支均仍能檢出，但 1:8 稀釋時之檢出率則為 67/71；顯示 Cobas MPX 系統如改以個別檢體單支檢測方式將可增加檢出率，而 Ultrio 系統如改以 8 支檢體混合檢測方式將會降低檢出率。整體而言，兩系統之分析特異性結果分別為 99.73% (Cobas MPX) 與 99.90% (Ultrio)，在操作性能與可靠性方面，Tigris 之系統失敗率、試驗無效率與儀器故障率均低於 Cobas s 201，但後者之儀器停工與修復時間較短。

法國 EFS (French Blood Services) 之 *Dr. Azzedine Assal* 亦報告該機構進行兩大最新自動化系統同步檢測 HCV/HIV RNA 與 HBV DNA 之評估比較研究結果。評估之兩大系統為：(1) Chiron 公司 Procleix Ultrio

Assay 篩檢試劑，搭配 Procleix Tigris 儀器之整套血液篩檢系統，是整套全自動之 HCV, HIV-1 與 HBV 血液篩檢系統，採個別檢體檢測(Individual donor testing, IDT) 之形式進行；(2) Roche 公司 Cobas Taqscreen MPX Test 篩檢試劑，搭配 Cobas s 201 儀器之整套血液篩檢系統，是整套全自動之 HCV, HIV-1/2 與 HBV 血液篩檢系統，採 6 支檢體混合檢測 (Pooled donor testing) 之形式進行。評估內容包含分析效能與例行工作流程影響兩方面，分析效能方面進行分析靈敏度、特異性、臨床靈敏度、再現性與交叉汙染等評估研究；分析靈敏度評估亦是以系列稀釋之 WHO 標準品及 BBI 標準品 (HIV-1 RNA, HCV RNA, HBV DNA) 分別於兩套系重複進行 24 次後統計分析其 95%檢測極限，結果如下表 (為利於比較，僅顯示 WHO 標準品部分)，與澳洲血液中心測試結果相符，在 HCV 部分，Ultrio 優於 Cobas MPX，在 HIV 部分，Cobas MPX 優於 Ultrio：

WHO Standard	95% Detection Limit (IU/mL)	
	Procleix Ultrio	Cobas MPX
HIV-1 (97/650)	32.9 (23-52)	47.6 (33-76)
HCV (96/798)	7.5 (5.1-12.3)	17.9 (11.9-30.7)
HBV (97/746)	10.9 (7.5-17.8)	4.12 (2.91-6.49)

再現性評估是對特定濃度檢體分別進行 4 天 8 重複之方式來進行，研究顯示所有結果均於可接受之範圍，交叉汙染是將陽性與陰性檢體交叉放置於同一組上機檢體之方式來評估，結果顯示均無交叉汙染；另外在基因型檢測能力方面，綜整兩大系統結果如下表：

Genotype panels (n=12)	95% Detection Limit (IU/mL)	
	Procleix Ultrio	Cobas MPX
HIV-1 A	42.2	94.3
HIV-1 B	48.2	54.3
HIV-1 C	17.5	43.7
HIV-1 D	199.0	347.0
HIV-1 E	20.8	51.3
HIV-1 O	38.8	5187.0
HIV-2 A	-	43.4
HCV 1	18.4	27.4
HCV 2	15.3	26.0
HCV 3	28.3	41.2
HCV 4	29.0	106.0
HCV 5	25.5	93.3
HCV 6	32.6	81.0
HBV A	195.0	37.5
HBV B	90.7	69.4
HBV C	72.1	29.5
HBV D	78.5	9.2
HBV E	73.1	14.6
HBV F	76.7	29.2
HBV G	38.1	74.0

臨床靈敏度是以每種病毒各取 5 組 seroconversion panels 來評估該系統縮短檢測空窗期之時間，初步看來 Ultrio 縮短檢測空窗期時間略長，但是否有顯著差異或其他因素，尚需進一步分析評估。

6. 新興技術與在血液篩檢方面之應用

美國 Agilent Technologies 之 *Dr. David L. Hirschberg* 介紹一套可大量檢測多種病原之系統。Agilent 的微陣列平台 (Agilent Microarray

Platform), 主要包含 60mer 寡核苷酸基因晶片與晶片掃描儀, 該公司已具有相當完整之不同物種基因晶片產品, 其專利噴墨技術 (In situ inject printing) 可在玻片表面原位合成 60mer 寡核苷酸探針, 而該探針序列的設計除了經電腦程式考慮其 T_m 值、二級結構、特異性等外, 均經實驗證明在該生物系統內確有表現, 具有高靈敏度與再現性之優點。*Dr. Hirschberg* 主要在介紹該公司所發展之可快速且靈敏地區分病原之檢測晶片 GreeneChip, 該晶片包含 98,310 種脊椎動物病毒之完整或部份序列 (涵蓋 1,710 種病毒), 整個工作流程毋需 10 小時, 他亦呈現一些圖片顯示以晶片檢測西尼羅病毒 (West Nile Virus, WNV)、人類冠狀病毒 OC43 (Human coronavirus OC43)、人類冠狀病毒 229E、A 型/B 型流行性感冒病毒等常見病毒之研究結果。整體而言, 由於檢測靈敏度等相關議題, 微陣列平台目前尚不可能取代現行血液篩檢技術, 但其不失為補充現行篩檢平台之工具, 如作為鑑別陽性檢體基因型或評估其他問題的便利工具。

德國 Institute of Experimental and Clinical Transfusion Medicine 之 *Dr. F. K. Gehring* 介紹具有供血液診斷用潛力之新技術—奈米技術。他首先說明一些奈米技術方面之專有名詞, 如奈米結晶 (Nanocrystals)、奈米線 (Nanowires) 等, 接著介紹以奈米粒子為標記之相關應用, 如 Quantum Dots 因其極佳之光化學穩定性而可被利用來當生物結合物 (bioconjugates), 猶如理想之螢光物質, 應用於 DNA 序列分析、臨床檢測、基礎分子生物學。整體而言, 奈米技術在血液篩診方面之應用雖

於目前尚未成熟，但其一般運用性進展神速，預期也將會帶動這方面領域應用之加速發展。

7. 改善之技術與篩檢平台

美國 Roche Diagnostics 之 *Dr. James. Gallarda* 介紹該公司之血液篩檢系統-cobas s 201 系統搭配 cobas TaqScreen MPX 試劑套組，目前該套系統已取得 CE Mark，但在美國仍處於 IND 階段。該系統是整套全自動 TaqMan-based 之血液篩檢系統：涵蓋 Pooling manager Workstation 電腦（檢體資料輸入）、Hamilton Microlab STAR Pipettor（將檢體混合）、Cobas AmpliPrep（核酸萃取）、Cobas TaqMan Analyzer（核酸擴增與檢測）、Amplilink Workstation 電腦（連結兩儀器資料送 PDM 伺服器）、PDM 伺服器（三台 Workstation 電腦之連結）、Data Manager Workstation 電腦（檢驗結果報告）。他宣稱該套系統之研發製造均符合體外診斷試劑製造廠之要求，如品質系統、設計管制（特別強調光 cobas s 201 系統就有 400 份 design history records，cobas TaqScreen MPX 試劑亦有 350 份 design history records）、製程管制、人員要求、設施與環境、設備與校驗、文件與變更管制、標示、包裝、儲存、配送與稽核等。目前在英國 SNBTS、法國 EFS（French Blood Services）、義大利 Rome、西班牙 Valencia、葡萄牙 Porto 與澳洲 Australian Red Cross Blood Service 進行產品評估，評估項目有靈敏度、特異性、耐變性（Robustness）、效能可靠性等，並以捐血者檢體來進行臨床評估。

美國 Chiron 之 *Dr. Andrew Heaton* 與 Gen-Probe 之 *Dr. Jeff Linnen* 介紹該公司之 Ultrio 篩檢試劑搭配 Tigris 儀器之整套血液篩檢系統，是整套全自動之 HCV, HIV-1 與 HBV 血液篩檢系統。Ultrio 試劑於比利時、義大利及南非等國進行之評估數據顯示，其對於 HIV-1, HCV 與 HBV 之 95% 檢測極限，於是否搭配 Tigris 儀器之間並無顯著差異，然而一些因素造成自動化系統的趨勢逐漸上揚，如全球目前使用 Ultrio 試劑者中有 75% 以上都採用個別檢體檢測方式，而自動化可改善系統特異性，減少重試或捐血浪費，更可減少對於熟練技術人員的需求，以減少試驗無效的情形，另外，自動化亦可簡化試劑之管理；而該系統操作上之優勢似乎也很重要，如設備簡單毋需工作站，且具有未來新增檢測項目之能力。此外他特別強調個別檢體檢測的方式與現行 EIA 模式較一致，特別是針對 HBV IVD NAT 之高檢出率建議我們應重新評估檢體混合數 (pool size)。對於 HBV NAT 檢出效果低於 HIV/HCV，Chiron 目前正嘗試進行一些調整來改善 HBV 檢測靈敏度，另外亦針對基因型檢測靈敏度進行一些調整；初步結果顯示，調整後之系統對於 HBV NAT 檢測靈敏度提升 3 倍，而 HIV-1 與 HCV 檢測靈敏度則維持相同未受影響。

8. 檢體儲存庫之有效利用

ISBT Working Party on Transfusion Transmitted Infectious Disease (WP-TTID) 之 *Dr. K. Roth* 介紹他們建立全球檢體儲存庫之計畫。以 HIV-1 基因變異性為例，WHO 亦曾指出，HIV-1 之基因變異性對於愛滋病

之診斷與治療，以及疫苗研發均增加了許多挑戰；基因變異性在檢測方面所造成之主要衝擊為檢測靈敏度不足，為使篩檢試驗之研發與評估過程均能充分地考量周全，有足夠多樣性之檢體可供應用是相當重要的環節，建立全球檢體儲存庫之想法即因此而產生。全球檢體儲存庫可提供試驗檢體來支援與補足篩檢試驗之研發與評估過程之需求，亦可謂達到互通有無之目的。該儲存庫實際上是虛擬儲存庫，檢體仍將由提供者持有，WP-TTID 則擁有軟體與資料庫，他的功能是當作媒介；運作上之大致構想為：檢體資料由提供者藉由網路輸入，WP-TTID 會訂定檢體分類與特性鑑定之標準，並選擇參考實驗室鑑定檢體相關特性，亦將會訂定檢體特性、儲存與運送條件等品質標準。

(二) 第 19 屆血液病原基因擴增技術標準化會議 (International Scientific Working Group on the Standardization of Genomic Amplification Techniques for The Safety Testing of Blood, Tissues and Organs for Blood Borne Pathogens, SoGAT XIX)

英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 長期以來持續為 WHO 建立國際標準品，為 WHO 生物性標準品實驗室；為提升各國血液病原篩檢相關領域之 NAT 檢測水準，自 1995 年起召開基因擴增技術標準化會議 (Standardization of Genome Amplification Techniques, SoGAT)，該會議主要目的為提供主管機關、血液製劑製造廠、診斷試劑製造廠、捐血機構與檢驗實驗室相關專家就核酸擴增技術 (Nucleic Acid Amplification Techniques, NAT) 及其應用等議題交換觀點，以提升各國相關領域之 NAT 檢測水準。該會議之優先工作即為建立血液相關病毒之 NAT 檢測體系，NIBSC 並已藉該會議發表討論所完成之多項 NAT 檢測用國際標準品 (International Standard) 與工作試劑 (Working Reagent) 之製備工作與國際共同標定研究情形。

本次為第 19 屆會議，於 2006 年 6 月 14 至 15 日在同一地點舉辦，參與者包含各國主管機關、血液製劑製造廠、診斷試劑製造廠、捐血機構、檢驗實驗室、公私立研究機構與學校等代表參與，計有約 122 位來自歐洲各國、美國、澳洲、日本、台灣與南韓等國代表參與該會。會議內容包含：(1) 標準化的進展、(2) HBV 相關議題、(3) NAT 檢測法靈敏度/檢測極限、(4) 外部品質評估計畫、(5) 新興/再度出現之病原、(6) 組織器官捐贈之 NAT 篩檢、(7) 細菌篩檢相關議題、(8) Parvoviruses 相關議題、(9) HIV 與其他病毒基因型等 9 部份相關議題，其內容重點如後所述。

1. 標準化的進展

奧地利 Baxter AG 之 *Dr. Gerold Zerlauth* 發表他對於 SoGAT 任務完成與否之看法，他認為 SoGAT 已經完成許多顯著的任務，如：建立 WHO HCV RNA 國際標準品 (1st & 2nd)、WHO HIV RNA 國際標準品 (1st & 2nd)、WHO HBV DNA 國際標準品、WHO B19 DNA 國際標準品、WHO HAV RNA 國際標準品；但仍尚有其他任務待進行，如：西尼羅病毒 (West Nile Virus, WNV)、subtype panels 及新興病原等標準品建立工作，以及維持現有國際標準品之供應，將來並可提供一些聲明來定義一般原則及最低要求，如靈敏度、IU vs. copies 等；此外，亦可對新挑戰及未來發展提供一些構想，如新興病毒建立策略方面、對於 genotypes 提供評估構想及建立新標準品套組方面等。

美國 Roch Molecular Diagnostics 之 *Dr. Roberta Madej* 代表工業
聯繫委員會 (Industry Liaison Committee, ILC) 報告他們使用合成物質
(Synthetic materials) 作為 calibrators 或對照標準品之確效研究進
展。她首先介紹 ILC 參與 NAT 標準化之歷史背景，因應 2002 年 WHO 在日內
瓦召開的諮詢會議 (該會議是針對供病毒核酸體外檢測用之國際標準品相
關討論會議) 討論內容，進行以合成物質 (Synthetic materials) 作為
calibrators 或對照標準品之可行性研究，ILC 業於 2003 年進行 Phase I
評估研究並於 SoGAT 會議中報告，2005/2006 年重新設計並執行 Phase II
評估研究；在 Phase I 評估研究中，由 AcroMetrix 將 HCV 病患檢體製備
成 4 個稀釋階的 panel，之後 ILC 以 4 種不同的 NAT 方法定量分析，並以
synthetic calibrator 重新計算定量數值之後進行比較分析，結果發現 4
種 NAT 方法定量各稀釋階樣品的數值差異均在 0.6 Log 內，證明 synthetic
calibrator 的可行性，接著 ILC 進一步以 Bayer 的 Synthetic RNA、Asuragen
的 armoured HCV RNA, PEI reference (80,000 IU/mL), HCV positive serum
sample, HCV positive EDTA plasma sample, WHO 2nd HCV 國際標準品
(96/798, 100,000 IU/mL)，使用 Bayer VERSANT HCV RNA 3.0 Assay (bDNA)/
HCV RNA TMA QN Assay, Roche COBAS AmpliPrep/ COBAS TaqMan HCV, Abbott
RealTime HCV 進行平行測試，目前 Phase II 評估研究正在進行中，將於
10 月份進行數據分析。

英國 NIBSC 之 *Dr. Sally Baylis* 報告她們建立惡性瘧原蟲 (*Plasmodium falciparum*) NAT 標準品及接替之 HBV 與 HCV 國際標準品等相關工作進度。她們製備了 4 個惡性瘧原蟲 NAT 候選標準品，Sample AA 是由病患血液所製備而成的凍晶乾燥製品 (~10% 寄生蟲血症)，Sample BB 是由體外培養惡性瘧原蟲所製備而成的溶液製品，Sample CC 是由病患血液所製備而成的溶液製品 (~7% 寄生蟲血症)，Sample DD 是由病患血液所製備而成的溶液製品 (~0.007% 寄生蟲血症)，於 2005 年 4 月開始著手進行共同標定研究，來建立惡性瘧原蟲 NAT 國際標準品，總計 14 個實驗室參與共同標定，其中 2 個實驗室是採用定量分析方法，其餘採用定性分析方法，NIBSC 收集結果後進行統計分析，結果 Sample AA 之 “Log¹⁰ equivalents” /mL 平均值為 8.51，Sample BB 為 8.45，Sample CC 為 8.35，Sample DD 為 5.51，同時安定性研究評估顯示凍晶乾燥的 Sample AA 相當穩定，適合長期使用，因此擬建立 Sample AA 為第一支國際標準品 (NIBSC code 04/176)，建議訂定濃度為 10⁹ IU/mL，每瓶含量為 5×10⁸ IU/mL，報告將於 7 月前提交 WHO 生物學標準化專家委員會 (Expert Committee on Biological Standardization, ECBS) 來決定是否成為 WHO 國際標準品。另外，在接替之第二支 HBV 國際標準品進度方面，由於第一支 HBV NAT 國際標準品 (NIBSC code 97/746) 庫存量已很低，因此他們著手進行國際標準品接替工作。由於先前 HBV NAT 國際標準品共同標定研究中的候選標準品 BB 與後來成為國際標準品的候選標準品 AA 來自同一 Stock，而且當時標定結果顯示兩者間並無顯著差異，因此再進行研究證明兩者間之相當性，以確認候選標準品 BB 成為接替之國際標準品的可行性，該研究 (第

二支 HBV NAT 國際標準品共同標定研究) 是採小規模方式進行，僅有 6 個實驗室參加，結果顯示候選標準品 BB 與第一支國際標準品於長期(約 4.5-5 年) 儲存下仍很穩定，且兩者之間並無顯著差異。因此擬建立候選標準品 BB 為第二支國際標準品 (NIBSC code 97/750)，建議訂定濃度為 10^6 IU/mL，報告將於 7 月前提交 WHO 生物學標準化專家委員會來決定是否成為 WHO 國際標準品。最後，在接替之第三支 HCV 國際標準品進度方面，他們取得 3 個均為 HCV 抗體陰性，genotype 1a 之 donations，進一步製備成候選標準品，目前正在邀請實驗室參與國際共同標定。

2. HBV 相關議題

日本 Hiroshima University 之 *Prof. Hiroshi Yoshizawa* 報告他們以黑猩猩來探討 HBV (genotype A & C) 的感染劑量，並以急性感染前期的黑猩猩來評估 HBV 之 doubling time 及 log time。他們以捐血中心發現的 HBV DNA 陽性之新鮮冷凍血漿 (genotype A, Anti-HBc 陰性, HBV DNA 6.9×10^4 copies/mL) 注射黑猩猩 (靜脈注射 1mL) 後，每週採血分析 HBV DNA, HBsAg, Anti-HBc 及 ALT，取 57 天後之血清 (Anti-HBc 陰性, HBV DNA 2.6×10^6 copies/mL) 系列稀釋後再注射其他黑猩猩，結果顯示 10 copies HBV DNA 就會使黑猩猩感染 HBV，於注射後約 55-76 天可測得 HBV DNA；另以捐血中心發現的 HBV DNA 陽性之新鮮冷凍血漿 (genotype C, Anti-HBc 陰性, HBV DNA 5.3×10^5 copies/mL) 進行相同研究，靜脈注射量為 5mL，取 29 天後的血清 (Anti-HBc 陰性, HBV DNA 3×10^6 copies/mL) 系列稀釋後再注

射其他黑猩猩，結果亦顯示 10 copies HBV DNA 就會使黑猩猩感染 HBV，於注射後約 35-50 天可測得 HBV DNA；研究結果顯示：genotype A 之 doubling time 及 log time 分別為 2.7-4.4 天及 9-14.7 天，genotype C 之 doubling time 及 log time 分別為 1.7-2.5 天及 5.6-8.3 天。

3. NAT 檢測法靈敏度/檢測極限

德國 Paul-Ehrlich Institute 之 *Dr. Michael Chudy* 報告 HCV NAT 檢測法之分析靈敏度與診斷靈敏度。由於 2005 年德國境內發現一起輸血感染 HCV 的案例，這是實施 HCV NAT 檢測後 6 年來首次發生，捐血者篩檢是採用 Roche 公司的 Ampliscreen 試劑套組，檢體混合數 (pool size) 為 24，進行回溯研究結果發現該例 HCV 為 genotype 2b，而 WHO 的 HCV NAT 國際標準品為 genotype 1a。

德國 DRK Blutspendedienst (Red Cross Blood Transfusion Service) NSTOB 及 West 兩大捐血中心之 *Dr. Christine Jork* 與 *Dr. Lutz Pichl* 分別報告他們以 Roche COBAS AmpliPrep 與 COBAS TaqMan96 整個自動化 NAT 系統執行 HCV, HIV-1, HBV, B19 與 HAV 檢測之經驗。DRK-BSD NSTOB 自 2005 年 11 月 1 日起開始使用，至今年 5 月已檢測約 66 萬 8 千個檢體，DRK-BSD West 則自同年 7 月 1 日起使用，至今年 5 月已檢測約 84 萬 3 千個檢體，檢體混合數 (pool size) 少於或等於 96，硬體失誤造成之失敗率分別為 0.9%與<1.2%，只有 NAT 檢測結果為陽性者，DRK-BSD NSTOB 有 HIV-1 二例

與 HBV 一例，DRK-BSD WEST 有 HCV 四例與 HBV 一例；整體而言，導入自動化系統的優點為完全自動化，縮短傳送時間，無須 virus enrichment 步驟，但其缺點為系統複雜須加強維護保養及所需檢體量大（1050 ul）等。

瑞士 BTS SRC (Blood Transfusion Service, Swiss Red Cross) 之 *Dr. Martin Stolz* 報告他們執行 Procleix TIGRIS System 的評估研究結果。該系統是全自動的 NAT 篩檢系統，可同時偵測 HCV, HIV-1 及 HBV，評估研究的設計是以日常例行條件來進行該系統的靈敏度、特異性、耐變性/強度與交叉汙染等確效評估，例行條件如日常檢體、採用 8 支檢體為 1 pool 或單支檢體、以 Tecan 進行 pooling 等；評估結果顯示：HIV-1, HCV 與 HBV 靈敏度分別為 24.9 IU/mL, 3.7 IU/mL 及 7.6 IU/mL，精密度、再現性及避免交叉汙染能力均經確認，然特異性評估中，以 8 支檢體為 1 pool 的部分偽陽性較高。

4. 外部品質評估計畫 (External Quality Assessment Scheme, EQAS)

澳洲 NRL 之 *Dr. Elizabeth Dax* 報告他們應用網路基礎來持續進行血液病原檢測標準化之作業。NRL 為使品質監測具及時性，建立了 EDCNet，為網際網路介面之品質監測系統，實驗室輸入品管檢體數據到資料庫可即時顯示品質監測圖表，具即時性與機密性，同時亦可監測實驗室本身與實驗室間之 variation、儀器試劑之效能與操作員之技能。另一位 *Ms. Thu-Anh Pham* 報告他們應用網路基礎來促進 NAT 外部品質評估計畫 (External

Quality Assessment Scheme, EQAS) 之全球合作。NRL 提供外部品質評估計畫已有 15 年歷史，他們提供品管檢體與評估套組 (panels) 來監控確保分析方法與實驗室之效能，在血清學方面有 HIV, HCV, HTLV, HBV, CMV 及梅毒之 EQAS，在核酸擴增檢測方面有 HIV, HCV, HBV, 捐血篩檢 (HIV/HCV/HBV)，基因型定型 (HIV/HCV)，HAV, CMV, B19, HSV-1/2 之 EQAS。透過外部品質評估計畫除了達到監控實驗室效能，預先找出潛在問題，持續改進或維持檢測品質之目的外，更重要的是要發展共同合作的國際實驗室網，因此 NRL 擬藉由改善供應之檢體類型與來源、提供報告的回應與作業完成時間等部份來提供世界級的 EQAS 服務，目前他們的全球合作是藉由連結 2 個主要的合作單位來達成，其一為 Acrometrix，另一為 HealthMetrix，前者致力於研發製造許多分子診斷方面之標準品、外部品管檢體與效能評估套組，並已取得 ISO 認證，後者為加拿大重要的 EQAS 提供單位，他們發展以網路為基礎之” DigitalPT”，可供實驗室線上送交 EQAS 結果及取得相關報告，DigitalPT 目前已經廣泛應用於 28 個國家的 3,400 個實驗室，並已獲得 CAP 等單位認證，NRL 自 2005 年導入 DigitalPT 後，目前參加該單位 EQAS 的實驗室也多已選擇採用網路作業；至今全球合作運作結果顯示，除了可提供全球各種基因型與亞型之品管檢體的優點外，更因網路作業方式縮短作業時間，並且擴展參與機構至全球。

歐洲醫藥品品質管理局 (European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM) 之 *Dr. Karl-Heinz Buchheit* 報告 EDQM 舉辦以 NAT 檢測混合血漿中 B19 virus DNA 之能力試驗最新結果。由於歐洲藥典已經規

定自 2004 年 1 月起製造抗 D 免疫球蛋白之血漿混合液必須以 NAT 檢測 Parvovirus B19，未超過 10^4 IU/mL 者方能供進一步製造用，因此官方檢驗實驗室與製造廠均需建立 B19 NAT 檢測體系；於是 EDQM 自 2004 年起每年舉辦一次 B19 NAT 能力試驗，由 PEI 之 *Dr. Micha Nübling* 擔任技術諮詢，2004 年有官方檢驗實驗室與製造廠等總計 16 個單位參與，2005 年則有 22 個單位參與，本局亦透過 *Dr. Nübling* 介紹，接受邀請參加 EDQM 首次舉辦之能力試驗，兩次試驗內容檢體均涵蓋陰性血漿、不同濃度之陽性血漿及 A6 variant 檢體；兩次結果顯示大部分實驗室對於 parvovirus B19 檢測能力尚稱滿意，但兩次試驗中均各有 9 個單位無法檢測到 A6 variant 檢體，同時亦再次證明 Roche B19 DNA 定量分析套組無法檢測到 A6 variant 檢體，而 Artus B19 DNA 定量分析套組則無此問題。

德國羅伯特－科赫研究所（Robert Koch Institut, RKI）之 *Dr. Matthias Niedrig* 報告首次針對西尼羅病毒（West Nile Virus, WNV）分子診斷之國際能力試驗評估研究。他們以病毒感染之細胞培養上清液製備外部品管檢體，上清液經由 56°C 加熱處理 1 小時及 30kGy 放射線照射，並以細胞培養法確認感染能力後，再以血漿系列稀釋後分裝進行凍晶乾燥。總計 28 個單位參與能力試驗，15 個單位採用定量 PCR，11 個單位採用 RT-PCR，2 個單位採用市售套組，結果顯示不同方法間並無顯著差異；此外在核酸萃取方面，28 個單位中有 19 個單位採用 Qiagen 試劑，5 個單位採用 Roche 試劑，4 個單位採用其他試劑，結果亦顯示不同試劑間並無顯

著差異；7 個單位試驗結果極佳（靈敏度 100%），然而有 10 個單位靈敏度較差，需要改善檢測方法，另外有 4 個單位有偽陽性結果產生。

5. 新興/再度出現之病原

美國 Blood Systems Research Institute 之 *Dr. Mike Busch* 報告他們以 TMA 方法檢測巴西與宏都拉斯捐血者登革熱病毒 RNA 之評估研究。WHO 估計全球於 2004 年約有 5 千萬到 1 億個登革熱感染案例，其中有 50 萬例發展成出血性休克症候群，有 2 萬例死亡，更由於全球暖化及交通發達等因素，使病媒蚊擴大版圖，登革熱將成爲最重要的節肢動物攜帶性病毒疾病 (Arboviral disease)。 *Dr. Busch* 他們以 TMA 方法檢測宏都拉斯與巴西捐血者登革熱病毒 RNA 結果發現：2,994 位宏都拉斯捐血者中有 12 位初測陽性，9 位複測陽性，11 位以其他分析法確認為陽性；3,239 位巴西捐血者中有 8 位初測陽性，3 位複測陽性，目前正以其他分析方法確認中；同時，他們目前也正在澳洲進行同樣的評估研究。此外，他們也計畫進行輸血感染登革熱病毒之相關研究。

英國劍橋大學之 *Dr. Jean-Pierre Allain* 報告他們對於迦納捐血者、婦人與小孩進行 GB 病毒 C 型 (GBV-C，或稱 G 型肝炎病毒)、西尼羅病毒 (West Nile Virus, WNV) 及登革熱病毒之篩檢研究結果。該研究是以 triplex NAT 來進行，偵測三種病毒的探針分別以不同螢光物質 (Cy5/GBV-C, FAM/WNV, HEX/Dengue) 標示；再以特定之 nested RT-PCR 來進行確認試驗，

如確認為陽性再以單一病毒之定量 PCR 方法進行定量分析，此外並進行基因型定型與分子演化分析 (Phylogenetic Analysis)。結果顯示 GBV-C 在迦納的盛行率相當高，且 genotype 1 為主要基因型，同時也顯示 GBV-C 陽性之愛滋病患其 HIV-1 病毒量較低。另外，登革熱病毒似乎並未盛行於迦納。

6. 組織器官捐贈之 NAT 篩檢

荷蘭 Sanquin Diagnostic Services 之 Dr. Theo Cuypers 報告他們為確保組織移植之病毒安全性，建立以 4 支遺體檢體 (cadaveric samples) 為一混合液 (small pool) 檢測 HCV 與 HIV 核酸之確效研究成果。每支捐贈者檢體各取 50 μ L (EDTA plasma)，以 0.8mL 陰性血漿稀釋到 1mL，以 NucliSens extractor 進行核酸萃取，隨後分別採用 Ampliscreen HCV v2.0 及 Ampliscreen HIV v1.5 進行後續之核酸擴增與檢測程序，該單位之捐血者篩檢試驗亦同樣採用這套系統。該系統之確效評估結果：在靈敏度部分，捐贈者血漿之 HCV NAT 之 95% 檢測極限為 165 IU/mL，HIV NAT 則為 806 IU/mL；對於冷凍檢體的 Robustness 評估，其 invalid 結果為 0.5%，尚在可接受範圍內。

美國 American Red Cross 之 Dr. Susan L. Stramer 代表數家血液及造血前驅細胞 (Haematopoietic Progenitor cell, HPC) 中心說明他們於 2006 年細胞治療聯絡會議 (Cell Therapy Liaison Meeting) 中所提及之

NAT 相關議題與數據。由於目前取得 FDA 許可之 Roche 與 Gen-Probe 的 HCV/HIV NAT 試劑套組，其操作說明書所載用途為「供血液或血液成分（及原料血漿）之個別捐贈者檢測（individual donor testing）或混合檢測（pooled testing）用」，其後因為美國聯邦法規 21 CFR 1270 規定人體細胞組織捐贈者應以 FDA 核准之篩檢試劑進行檢測，試劑廠商申請新增並獲核准用途為「供活體捐贈者（living donors）、器官捐贈者（organ donors，指仍有心跳者）及遺體捐贈者（cadaveric donors，指無心跳者）個別檢測用，未核准供混合檢測用」；許多機構認為週邊血液幹細胞、臍血幹細胞等造血前驅細胞符合血液成分之定義，因此早在 21 CFR 1270 生效前（2005 年 5 月），執行造血前驅細胞捐贈者篩檢時均比照捐血者篩檢，以 mini-pool 的方式進行；然而由於美國 FDA 在一份製造工業指引草案中建議對於人體細胞組織產品之活體捐贈者（如：造血幹細胞/前驅細胞捐贈者及精子捐贈者）以 FDA 核准之 HCV 與 HIV NAT 捐血者篩檢試劑進行檢測，明確指明造血前驅細胞捐贈者屬於人體細胞組織產品之活體捐贈者；則依篩檢試劑操作說明書，造血前驅細胞捐贈者之 HCV 與 HIV NAT 篩檢必須以個別捐贈者檢測方式來執行，尚無法接受混合檢測方式，AABB / ISCT 與 FDA 於 2005 年 11 月 9 日之電話會議中，FDA 也明確表達此意。然而對於血液及造血前驅細胞中心而言，自動化系統的篩檢作業方式需因血液或造血前驅細胞捐贈者不同而有不同之作業程序，恐會因作業複雜而增加錯誤率，同時由於以往個別捐贈者檢測方式的偽陽性較高之考量，因此共同進行回溯性與後續評估研究，以了解造血前驅細胞捐贈者的傳染性疾病盛行率與 NAT 檢出率是否與一般捐血者相同，評估研究數據與結果於 2006 年細胞治療聯絡會

議中報告，結論為（1）造血前驅細胞捐贈者與一般捐血者的傳染性疾病盛行率之間並無顯著差異，（2）造血前驅細胞捐贈者與一般捐血者的 NAT 檢出率之間並無顯著差異，（3）對於造血前驅細胞捐贈者以混合檢測方式篩檢，與一般捐血者以相同方式篩檢相較並無新增危險；他們會將數據結果分送 FDA 與診斷試劑製造廠，提供未來新增核准用途之參考。

7. 細菌篩檢相關議題

荷蘭 Sanquin Diagnostic Services 之 *Dr. Theo Cuypers* 報告他們以即時定量 PCR 對血小板濃厚液進行細菌篩檢之評估研究。他們所建立之檢測方法中，核酸萃取是採用 Roche 自動核酸萃取設備 MagNa Pure，檢體萃取量為 200uL，以 HLA-DQA DNA 作為對照組；核酸擴增與檢測是採用 ABI-PRISM 7000，以 *Bordetella avium* DNA 作為對照組；在定量部份，以系列稀釋之 *Staphylococcus aureus* DNA (ATCC 25923) 建立標準曲線。將所建立之即時定量 PCR 檢測法與 BacT/Alert 自動培養系統進行比較，同時檢測 2,000 個檢體（約 10,000 個捐血者），前者檢測時間僅需 4 小時，而 BacT/Alert 自動系統約需 24 小時方可獲得結果，結果顯示兩者之靈敏度與特異性相當（均檢出 18 例陽性）；另外並以 Spike 方式針對 *B. cereus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. acnes*, *P. aeruginosa* 進行檢測靈敏度評估，結果顯示 1 CFU/mL 各組均於第一天可檢測到，其他 10 CFU/mL 與 100 CFU/mL 各組則於 Spike 後 2 小時後即可檢測到；同時，*Dr. Cuypers* 亦提及發展相關標準品或標準套組之需求。

美國 SeraCare Life Sciences/ BBI Diagnostics 之 *Dr. Mark Manak* 介紹他們所發展供菌血 NAT 檢測用之品管標準品。菌血症一般檢驗法是採細菌培養方式，然而血液培養之限制為較不靈敏也較耗時，通常約需 24-48 小時方能獲得結果，且 30%以上有偽陰性情形發生，因此診斷試劑製造廠亦嘗試發展利用即時定量 PCR 平台之檢測試劑，如 Roche SeptiFast Test，可快速檢測革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌與真菌，全程僅需 5 小時。BBI Diagnostics 研發之供菌血 NAT 檢測用品管標準品 ACCURUN 500 是取 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans*，經由不活化、以陰性血漿稀釋為低濃度（約 300 CFU/mL）等程序所製備而成，用途為供實驗室評估檢測精密度及檢驗品管對照用。以 Roche SeptiFast Test 進行評估研究結果顯示該組對照標準套組線性關係佳，實驗室間檢測結果與不同批次間之再現性極佳，安定性試驗結果顯示於 37°C /14 天與重複冷凍解凍 7 次等條件下均仍維持穩定。

8. Parvoviruses 相關議題

英國 NIBSC 之 *Dr. Jacqueline Fryer* 報告她們與美國 Blood Systems Research Institute 之 *Dr. Eric Delwart* 合作研究新發現的 Parvovirus 4 (PARV4) 與 variant PARV5 在人類血漿中檢出的情形。由於 PARV4 在 2005 年才被發表於文獻，因此他們想了解新發現的 PARV4 與 PARV5 在人類血漿中檢出的比率。他們設計針對 PARV4 ORF1 之高特異性引子以確保不會與 Parvovirus B19 有交互反應，核酸萃取是採用 Roche 自動核酸萃取設備

MagNa Pure，檢體萃取量為 1mL，隨後以傳統 PCR 及即時定量 PCR 進行核酸擴增檢測，NIBSC 共計檢測 137 個來自 9 家不同製造廠送驗之血漿混合液，結果僅有兩家製造廠之血漿混合液檢測出，檢出陽性比率分別為 5/12 及 2/6，總計約有 5%血漿混合液檢測出，檢出頻率低於一般 Parvovirus B19，. 定量分析結果亦顯示病毒含量較低；進一步序列分析結果確認 5 個陽性中的 4 個為 PARV5，分子演化分析結果顯示 PARV4 與 PARV5 核苷酸間約有 92% 是相同的。Blood Systems Research Institute 則在 2005 年檢測洛杉磯地區之捐血者，總計 300 個混合液（pool size 為 16）中檢出 29 個為陽性，另外 200 例個別檢測結果有 4 例檢測出，檢出陽性率分別為 9.6% 與 2%；目前尚未了解 PARV4 與 PARV5 在人類疾病中所扮演的角色。

美國 FDA CBER 之 *Dr. Mei-ying W. Yu* 報告她們調查第八凝血因子製劑中 Parvovirus variants 之研究結果。由於曾有文獻報告第八凝血因子製劑檢測出 Parvovirus B19，因此她們也想了解 Parvovirus variants 在第八凝血因子製劑中的情形；核酸擴增檢測之引子設計在 NS1 區，以利檢測出 genotype 1-3，然後再以 *MfeI* 限制酶作用 PCR 產物以區分 genotype 1 與 genotype 2/3，genotype 1 會被切成 36bp 與 67bp 之片段，genotype 2/3 則維持完整 103bp，對於 genotype 2 與 genotype 3 之區分則需再進行序列分析與分子演化等程序。調查研究結果發現：1984 年以前製造之 3 種產品共計 60 批次均未檢測出 genotype 2, 3 與 PARV 4/5，1998 年以前製造之 6 種產品共計 53 批次中有兩批次檢測結果為陽性，分別檢出 genotype 2 與 PARV 5，2002-2004 年間製造之 6 種產品共計 89 批次亦均未檢測出 genotype

2, 3 與 PARV 4/5，這 89 批次同時檢測 Human Bocavirus（與 PARV 4 同於 2005 年發表之另一 Parvovirus，核酸序列較接近 Bovine Parvovirus 與 Minute Virus of Canines，故名爲 Human Bocavirus，PARV 4 及 Bocavirus 與 B19 均屬於 Parvoviridae）結果亦均未檢出。進一步分析檢出爲 genotype 2 陽性的批次其定量分析結果爲 10^3 geq/mL，該批次爲 1997 年製造，以濕熱法進行病毒去除/不活化的產品；檢出爲 PARV 5 陽性的批次爲 1988 年製造之同型產品。綜整研究結果顯示 Parvovirus variants 在第八凝血因子製劑之檢出率極低，因此這些 variants 對於血漿製劑之病毒安全性所造成的衝擊尙待繼續評估。

9. HIV 與其他病毒之基因型等相關議題

美國 FDA CBER 之 *Dr. Indira Hewlett* 報告她們以 HIV variants 評估 FDA 核准的相關診斷試劑之研究。由於考量新興 HIV variants 對於血清學或 NAT 檢測試劑檢測靈敏度的潛在衝擊，CBER 開始與喀麥隆衛生部共同合作研究 HIV 的多樣性與檢測試劑效能評估，因爲喀麥隆具有所有已知的 HIV subtypes 以及 variants，研究目的爲評估現有的捐血篩檢試劑、快速檢測試劑及其他診斷試劑對於多樣的 HIV subtypes 檢測能力。以收集自喀麥隆首都雅恩德附近的 240 支血液檢體分別評估 FDA 核准之 9 種診斷試劑，這 9 種診斷試劑中有 4 種爲 HIV 抗體 EIA 試劑，1 種爲 p24 抗原試劑，1 種爲西方墨點法確認試劑，2 種爲 HIV 核酸定性試劑，1 種爲 HIV 核酸定量試劑；檢測結果爲陽性的檢體將繼續進行基因型分析，對於結果不一致

的檢體將以自行建立的 ELISA 方法評估 HIV group 0。240 支檢體中，喀麥隆使用快速檢測試劑檢驗結果為陽性者有 149 支，其他診斷試劑檢測結果有 133 支一致確認為陽性，但有 5 支均一致為陰性，9 支結果不一致，2 支為 HIV-2 陽性，3 支為 p24 陽性；而喀麥隆檢驗結果為陰性者有 91 支，其他診斷試劑檢測結果有 60 支一致確認為陰性，但有 2 支均一致為陽性，17 支結果不一致，12 支為 HIV-2 陽性，以自行建立的 ELISA 方法評估結果不一致的檢體均未發現 HIV group 0，陽性檢體之基因型分析結果顯示 CRF02_AG 為喀麥隆最主要的 HIV 病毒株（62.9%），其次為本次研究中新鑑定之 ISRs（12.4%）。研究結果顯示現行 FDA 核准之 HIV 抗體與核酸檢測試劑均能檢測到大部分的 HIV 亞型及重組變異株（recombinant HIV variants），然而至少有一廠牌診斷試劑無法檢測到少部份之 CRF02_AG，同時亦發現喀麥隆檢驗結果為陰性之檢體，其實際陽性率仍很高；由 HIV 基因變異性顯見它正快速進行全球性地演化，最近也有文獻報告不同亞型會有不同的疾病進展速率，顯示持續監測現有及新興 variants 並建立相關對照參考物質實有其必要性，同時 HIV variants 亦應被涵蓋於 HIV 或其他反轉錄病毒檢測分析之效能評估檢體中。

奧地利 Baxter AG 之 *Dr. Matthias Gessner* 提出一些有關基因型檢測的問題和看法。由於近年來一些病毒新基因型或亞型的發現，使 NAT 檢測方法之效能評估均聚焦於基因型的檢測能力上，如：經常被要求提供數據證明檢測方法具備檢測 Parvovirus B19 之 A6 與 V9 之能力、具備檢測所有 HCV 基因型之能力、具備檢測所有 HIV 亞型之能力等，他提出問題供大家

深思：是否每一種 NAT 檢測方法都需要能檢測到所有已知的基因型？且是自發現時開始就須具備該項檢測能力？以現行分子生物技術及血液篩檢趨勢來看，未來仍將持續新增許多基因型，但該些新增基因型盛行率如何？誰來決定最基本必須能檢測到的基因型？哪裡可以取得可被接受且明確定義的相關檢測檢體以確保效能評估結果有效？因此他認為所有基因型都必須要被統一評估其合理性，方能聚焦於檢測方法之效能上；同時有關基因型測試檢體應以可接受的標準程序來明確定義其數量及基因型，並有足夠數量可以可接受的費用提供給需要使用者。最後 *Dr. Gessner* 認為 SoGAT 的另兩項任務即為建立評估基因型須被納入檢測方法效能評估之合理性標準，以及建立基因型測試檢體製備之相關標準。

(三) 參訪 ZLB Behring AG 血液製劑製造廠

位於瑞士伯恩之 ZLB Behring AG 血液製劑製造廠目前並無最終產品輸入我國，該廠本身全程製造之產品有白蛋白製劑、免疫球蛋白製劑與抗 D 免疫球蛋白製劑，但目前僅部分自德國輸入國內之血液製劑前段製程之血漿分餾部份於該廠進行。此次恰藉赴瑞士伯恩參與研討會機會順道參訪了解該廠實際運作情形、血漿原料篩檢設施與流程、Fraction V 製造過程與製程管制點等關鍵重點。考量本報告屬公開性質，恐部分資料係屬各廠之商業機密，不便詳述部分僅概述之。

血液製劑之原料為血漿，由於生物性來源潛在之危險性一經血液傳染病原，以及最終成品亦無法高溫高壓滅菌之產品特殊性，其製造管理除須遵循一般藥品 cGMP 外，尚須仰賴對於血漿原料之品質管制與血源管理、以及於製程中加入經確效之病毒去除/不活化步驟來保障其產品安全性。對於血漿原料之品質管制與血源管理部分，歐盟規定製造廠應有血漿管制標準書 (Plasma Master File) 記載血漿來源、捐血者標準、緩捐標準、病毒篩檢項目、篩檢用診斷試劑要求、回溯 (Look back) 程序、血袋及抗凝血劑規格、血漿品質規格及血漿原料收集機構清冊等，且至少每年更新一次。

該廠目前使用之血漿原料約有 80%來自美國，20%來自歐洲，故除了當地少部份血漿原料之病毒核酸檢測是由 BTS SRC (Blood Transfusion Service, Swiss Red Cross) 執行外，其餘病毒核酸檢測均統一委由美國 NGI 公司進行，德國衛生主管機關並為此赴 NGI 進行查核。在 BTS SRC 幫我們說明的 *Dr. Martin Stolz* 也剛好有參加 SoGAT 會議，並於會議上報告他們執行 Procleix TIGRIS System 的評估研究結果。*Dr. Stolz* 說明該機構目前例行篩檢 HIV-1, HCV 與 HBV 是採用 Cobas AmpliScreen，對於 Parvovirus B19 及 HAV 是採用自行建立的方法 (ABI 7700 系統)，所建立的方法均進行確效研究評估並檢送報告到衛生主管機關審查；該機構亦定期參加多種外部品質管制系統，如 INSTAND, CLB, NEQAS 等系統，並參加 EDQM 因應歐洲藥典對於 Parvovirus B19 之規定所舉辦之能力試驗，結果顯示該機構建立之方法能檢測到 Parvovirus A6 variant；此外，他們也定期接受 ZLB Behring AG 的稽核與瑞士官方 Swissmedic 的查核。

ZLB Behring AG 血液製劑造廠已通過瑞士官方 Swissmedic 的 GMP 查核，符合瑞士相關法規、PIC/S 規範與歐盟相關指令；為降低血漿於製程中遭受微生物污染或導入外來物質之機率，自血漿解凍與混合作業起即至少於潔淨等級 C/D 級區內進行，工作人員均穿著適當工作服，配戴口罩與手套，並定期進行環境微生物監測；廠房之規劃動線亦均有所區隔，以避免交叉污染或導入外來污染源。該廠介紹人員特別花費較長時間介紹的部分有：該廠自血漿入庫起開始以電腦控管，製造流程開始時再經由每一血袋以讀碼機判讀合格放行，甚至由血袋解凍到混合亦為自動化輸送帶流

程，作業人員僅需於血袋經過時以刀片劃破血袋即可，自動化設備會將外袋與血漿區分開，徹底避免人員直接接觸血漿之機會，減少相互間微生物污染與環境交叉污染之機會；此外，甚至連緩衝液槽（Buffer Tank）也是由電腦自動監控，需要配製時會發出警訊，由於緩衝液槽相當大，因此配製作業亦由電腦監控就地作業，即緩衝液槽有探測點，如 pH 不符合規格時，電腦會自動計算須添加之 NaOH 量，現場並有秤重設備連線秤重，添加後自動確認 pH 無誤方完成該項作業，各設備之間以電腦連線控制，人員僅需依電腦指令作業，除避免人為因素之失誤外，亦能增加作業效率，如毋需取樣送樣、等待品管檢測結果，並能減少設備搬動對製造環境造成之衝擊；同樣的，血漿分餾過程使用之過濾膜，亦採用電腦化之 CIP 方式作業，由電腦自動控制輸送設備將濾膜送入水槽清洗，除能減少人員工作負擔，避免人為因素之失誤外，亦能減少設備搬動對製造環境造成之衝擊。整體而言，整個製造流程均以電腦系統控管，每位工作人員均必須插入個人卡片方能操作電腦，但依個人權限有不同的讀取或輸入管制；同時，他們最引以為傲的是該廠之電腦系統已通過美國 FDA part 11 電腦系統確效查核。

四、心得與建議

- (1) 我國因 Anti-HBc 陽性者過多而無法逕予排除捐血，也因此無法避免 Occult HBV 感染之潛在風險，同時研究數據亦顯示輸血後感染 HBV 之發生率明顯高於西方已開發且 HBV 盛行率低的國家。為增加輸血安全，採用新的篩檢策略（增加 HBV NAT 檢測項目）以排除 Occult HBV 捐血者實有迫切之必要。同時需注意的是，可能半數慢性帶原者其 HBV DNA 含量極低 ($<10^2$ geq/mL)，以 mini-pool NAT 篩檢仍常會造成偽陰性。
- (2) 為提升血品之病毒安全性，歐美日各國血液中心目前幾乎均已利用核酸擴增技術對捐血進行 HCV 與 HIV-1 篩檢，以縮短病毒檢測空窗期，我國捐血中心則尚在規劃中，為確保國人用血安全，實應儘速納入常規檢驗項目中，對於 HBV NAT 應採用更靈敏之 Individual Donor NAT 以檢測出極低病毒含量之慢性帶原者。
- (3) 病毒一直在演化，新興病毒也一直被發現，實有必要即時獲取有關血液病毒核酸擴增技術相關新知與各國對於血液病毒之檢測與管理現況，作為我國對血液製劑與血品品質管理之參考，以提升我國血液製劑與血品之品質與病毒安全性。
- (4) 檢驗體系標準化極為重要，建立 NAT 標準化檢驗體系必須考量所應用之檢驗方法是否可以檢測出病毒常見之 subtype 與 genotype、檢體混合數

(pool size)、檢測靈敏度、特異性與再現性，NAT 之品質保證系統包含分析方法確效、檢驗試劑與儀器之品質管理與優良實驗室操作規範、並以標準品進行檢驗體系之品管與品保。

- (5) 對於細胞、組織與器官移植捐贈者之篩檢技術持續研發，一般輸血篩檢試劑仍需經由確效評估方能使用於遺體捐贈者檢體篩檢，此外亦須密切注意細胞相關病毒之 NAT 檢測技術之發展。
- (6) 由於檢測靈敏度等相關議題，微陣列平台目前尚不可能取代現行血液篩檢技術，奈米技術在血液篩診方面之應用雖於目前尚未成熟，但其一般運用性進展神速，預期也將會帶動這方面領域應用之加速發展。值得注意的是，對於這些新技術同樣需要考量到法規與品質保證等方面，因此適當的法規與指引亟待建立。
- (7) 藉參與會議機會當面與參與我國 Parvovirus B19 NAT 核酸國家標準品共同標定研究之各國專家討論共標結果；並藉機當面邀請澳洲 NRL 參與本局今年度之 HBsAg sensitivity panel 共同標定研究。另外，英國 NIBSC 製備第三支 HCV NAT 國際標準品之 *Dr. Sally Baylis* 亦口頭邀請本局參與共同標定研究，並說明屆時將視各單位參與數目與地理分布狀況正式通知受邀單位。
- (8) 參加該項國際性會議不僅可獲取血液病原檢驗之相關現況與新知，除提升本局血液製劑品質管理能力與相關病毒檢測及核酸標準品製備技術，並藉此與各國相關領域專家建立溝通管道，有助於我國病毒核酸標準品

之國際共同標定研究，提升我國標準品之公信力，對促進國際合作與交流有極大助益；更有助於穩固雙方實質關係並進而建立新管道，增加與國內外管理機關之經驗交流，與國際接軌。