

出國報告（出國類別：國際會議）

赴瑞士日內瓦參加國際生物製劑協會  
所舉辦『疫苗安定性評估』研討會

服務機關：行政院衛生署疾病管制局

姓名職稱：許國昌副研究員

派赴國家：瑞士

出國期間：九十七年十月二十五日至十月三十一日

報告日期：九十七年十二月二十三日

## 目 次

壹、摘要.....	3
貳、會議緣起.....	4
參、參加目的.....	5
肆、行程與工作記要.....	5
伍、國際生物製劑協會簡介 .....	8
陸、研修內容重點.....	10
柒、心得.....	16
捌、建議.....	18
玖、附錄.....	20

## 壹、摘要

近來衛生署為提昇國內藥廠品質，對 GMP 之推行由原有 GMP 到 cGMP，再推展至最近之 PIC/S GMP，國際化趨勢是唯一不變的原則，其中對品質之要求則不斷提昇，以往品質是由品質管制(Quality Control)而來，現今觀念為品質是由設計 (Quality by Design) 出來的。

『疫苗安定性評估研討會』是由國際生物製劑協會 (IABS) 主辦，美國國家過敏及感染症研究所 (AINID)、英國國家生物標準及控制研究所 (NIBSC)、德國 Paul-Ehrlich 研究所 (PEI) 及世界衛生組織 (WHO) 協辦，目的為告知及協助各國疫苗產業採用最近世界衛生組織 (WHO) 所制定之「疫苗安定性評估指引」為規範。此一指引也將是未來為國際及國內所採用之標準，此指引是以生命週期為對策 (A Life Cycle Approach)，透過對疫苗生命週期之瞭解，而設計出不同階段對疫苗安定性之要求，經由參與此研討會之討論，更加明瞭 WHO 專家學者群對疫苗安定性指引之設計理念，並落實品質是由設計出來的概念。

此次主辦及協辦單位均為國際上之知名權威單位，參與本研討會除獲得最新疫苗新知與訊息外，另外能與眾多國際知名之專家學者共聚一堂並向其請益，獲益良多。此外，與各國疫苗產業人士互相切磋，交換彼此心得與經驗，更是此行最寶貴的收穫。

## 貳、會議緣起

疫苗的安定性 (Stability) 對疫苗免疫計畫成功有重要之影響，也是保證疫苗品質之一部分，其中疫苗製品特性與一般藥品最大不同在於對溫度之敏感性，因為儲存溫度常會影響疫苗之效價，所以幾乎所有疫苗對 Cold Chain 的管制特別重視。在 1980 到 1990 年代初期，WHO 把溫度安定性評估視為產品放行 (Lot release) 之一部分，直到最近，即時 (real time) 儲存狀況及其他相關環境因子之研究逐漸受到重視，此外 WHO 對非臨床或臨床評估之指導手冊強調須要安定性資料以支持作為臨床試驗之許可，但目前為止並沒有很清楚的指導手冊討論到在不同疫苗發展階段如研發、生產、申請執照、批次放行及上市後 (postmarketing) 等之安定性評估。

在 WHO 第 51 次生物製劑標準化專家會議中建議設立疫苗安定性評估工作小組去執行這個議題，此工作小組的第一次會議於 2002 年二月在德國 Paul-Enrich Institute 舉行，主要議題包括確立要制定指導手冊；第二次會議於 2004 年六月在 WHO 所在地瑞士日內瓦舉行，工作小組建議所制定之指導手冊應包括安定性研究之設計理念，『疫苗安定性評估指導手冊』第一版草案於會議後草擬完成；工作小組第三次會議於 2005 年六月在 WHO 舉行，會後採納與會者意見制定了第二版本草案；2006 年十月 WHO 第 57 次生物製劑標準化專家會議中，『疫苗安定性評估指導手冊』獲得與會者採納，制定了最終版本，並於 WHO 技術報告系列文件中公佈。

2008 年國際生物製劑協會 (IABS) 協同美國國家過敏及感染症研究所 (AINID)、英國國家生物標準及控制研究所 (NIBSC)、德國 Paul-Ehrlich 研究所 (PEI) 及世界衛生組織 (WHO) 舉辦了此次國家研討會，目的為告知、互動討論並協助各國法規部門及其疫苗產業瞭解最近 WHO 所制定之「疫苗安定性評估指導手冊」之原理及策略，以引為規範。

## 參、參加目的

1. 瞭解 WHO 所制定之「疫苗安定性評估指導手冊」與國內衛生署所制定之安定性試驗之差異。
2. 藉由「疫苗安定性評估」研討會瞭解如何經由疫苗生命週期之全盤考量以落實品質是由設計出來之概念。
3. 與眾多國際知名之專家學者共聚一堂討論並向其請益，吸收疫苗新知。
4. 與各國疫苗產業人士互相切磋，交換彼此心得與經驗，並建立相關合作與連絡管道。

## 肆、行程與工作記要

赴瑞士日內瓦參加『疫苗安定性評估』研習行程表

日期	工作 日誌	地 點	行 程 內 容
97/10/25	啓程	台北→阿姆斯特丹	路程
97/10/26	抵達	阿姆斯特丹→日內瓦	抵達
97/10/27	受訓	日內瓦	研習
97/10/28	受訓	日內瓦	研習
97/10/29	受訓	日內瓦	研習
97/10/30	返程	日內瓦→阿姆斯特丹	路程
97/10/31	抵達	阿姆斯特丹→台北	抵達

## 『疫苗安定性評估』研討會課程表

IABS International Scientific Workshop CONFERENCE ANNOUNCEMENT



Paul-Ehrlich-Institut



27-29 October 2008 – Geneva International Conference Centre (www.cicg.ch/en)

# Stability Evaluation of Vaccines

## A Life Cycle Approach

[Please register by clicking here IABS Stability Workshop](#)

PROVISIONAL AGENDA (version Oct. 10, 2008)

Day 1: Monday, October 27, 2008		
Timeline	Topic	Speakers & Chairs
<b>Session 1</b>	<b>Welcome and Introduction</b>	C: James Southern R: Teeranart Jivapalsampong
09:00 – 09:10	Welcoming Remarks	IABS & WHO
09:10 – 09:40	WHO Approach to Stability Evaluation of Vaccines	Ivana Knezevic
09:40 – 10:00	Expectations from Developing Countries	Suresh Jadhav
10:00 – 10:45	Key Issues to be Addressed in the Workshop	Michael Pfleiderer
10:45 – 11:15	Coffee break	
<b>Session 2</b>	<b>Goals and Basic Principles of Vaccine Stability Studies</b>	C: James Southern R: Teeranart Jivapalsampong
11:15 – 12:30	Goals of Stability Evaluation throughout the Vaccine life cycle	Philip Krause
12:30 – 14:00	Lunch break	
14:00 – 15:00	Basic Principles of Stability	William Egan
15:00 – 15:30	Quality Attributes of Intermediates and Final Product	Michael Pfleiderer
15:30 – 16:00	Coffee break	
<b>Session 3</b>	<b>Stability Evaluation throughout the Vaccine Life Cycle</b>	C: Kathleen Zoon R: Michael Pfleiderer
16:00 – 17:30	Studies Supporting Clinical and Product Development	Philip Krause William Egan

Day 2: Tuesday, October 28, 2008		
Timeline	Topic	Speakers & Facilitators
<b>Session 3</b>	<b>Stability Evaluation throughout the Vaccine Life Cycle (cont'd)</b>	

IABS, 8, ch. de la Gravière, 1227 Acacias, Geneva 4, Switzerland  
 Tel: +41 22 301 1036, Fax: +41 22 301 1037  
 E-mail: [iabs@iabs.org](mailto:iabs@iabs.org) Website: <http://www.iabs.org/>

09:00 – 10:30	Studies Supporting Product Licensure	Timothy Schofield
10:30 - 11:00	Coffee break	
11:00 – 12:00	Stability Evaluation Post Licensure	Timothy Schofield
12:00 – 12:30	Stability Evaluation Post Licensure: Comparability Stability Plan (Case Study)	Isabelle Pierard
12:30 – 13:00	Stability Evaluation Post Licensure: Container-Content Compatibility Studies (Case Study)	Michel Duchene
13:00 – 14:15	Lunch break	
<b>Session 4</b>	<b>Special Considerations in Vaccine Stability Evaluation</b>	C: Dean Smith R: Philipp Krause
14:15 – 15:30	Annual Vaccines: Seasonal Influenza (Case Study with exercise)	Teeranart Jivapalsampong
15:30 – 16:00	Coffee break	
16:00 – 17:30	Vaccines Measured with Highly Variable Assays: Rabies (Case Study with exercise)	Teeranart Jivapalsampong
<b>Day 3: Wednesday, October 29, 2008</b>		
<b>Timeline</b>	<b>Topic</b>	<b>Speakers &amp; Facilitators</b>
<b>Session 4</b>	<b>Special Considerations in Vaccine Stability Evaluation (cont'd)</b>	C: Dean Smith R: Philipp Krause
09:00 – 10:00	Combined Vaccines: Stability Parameters Defined by an Extended Clinical Trial Program for MMR-Varicella (Case Study)	Michael Pfeleiderer
10:00 – 11:00	Combined Vaccines: DTaP-IPV (Case Study)	Teeranart Jivapalsampong
11:00 – 11:30	Coffee break	
11:30 – 12:15	Model Format for Stability Report & Software	Jinho Shin Timothy Schofield
12:15 – 13:30	Lunch break	
<b>Session 5</b>	<b>Conclusions</b>	C: Dean Smith R: Philipp Krause
13:30 – 15:00	Panel Discussion: (I) Compliance vs. Estimation Model: pros & cons; (II) Clinical Minimum Specification & Release Specification; (III) Questions from the audience	All speakers & session chairs
15:00 – 15:15	Workshop Evaluation	All participants
15:15 – 15:30	Closing Remarks	Chair
15:30	Close of meeting	

## 伍、國際生物製劑協會 (IABS ; International Association for Biologicals) 簡介

### 1. 歷史背景

創立於 1955 年法國里昂，是由一群專家學者基於有迫切需要改善生物製劑產品品質而成立，並可作為產品研發部門及法規單位對資料之可比較性之諮詢，其中所指生物製劑包括人用及動物二方面。是一個非營利之組織，總部位於瑞士日內瓦，為 WHO 所承認之諮詢單位，並與國際製藥公會聯盟 (IFPMA ; International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations) 有官方合作關係。

### 2. 組織

目前約有 350 個會員，分佈於 50 餘國，每二年會員選舉協會主席、副主席及會員代表，並設有幾個科技委員會負責促進介於製造商、研究人員及法規部門人員之間有關生物製劑品管、標準化及效價等議題之溝通。其機制為透過舉辦國際研討會及發表文章協會所辦之 Biologicals 及 Development in Biologicals 期刊等方式來達成目標。

### 3. 任務

對生物製劑相關醫藥科技之共同性及急迫性議題，經由各學科間之討論、開會及合作，以促進共識之建立。

### 4. 目標

- 甲、建立研究、發展、臨床、公衛、製造及法規部門人員之持續溝通介面。
- 乙、生物製劑之發明、開發及相關法規等議題之教育訓練。
- 丙、針對醫藥等重要相關議題，提供科學家或專業人士之研習會共同討論以達到共識。
- 丁、促進生技製藥產業、公衛部門、法規單位及學術研究單位之連繫。

### 5. 活動

- 創立 “Biologicals” 期刊：每年發刊六次
- 發刊 “IABS Newsletter” :報告 IABS 最近活動及會員相關信息。
- 會議：已組織 125 個會議或研討會
- 發表 IABS symposia series 於 “Development in Biologicals” 期刊

### 6. 過去成果

- 1960s Led the effort to convince regulators of the safety of viral vaccines produced in human diploid cell lines.
- 1970s Led the effort to convince regulators that purified viral and protein products could be prepared safely from continuous cell lines (e.g., Vero, Namalva for



human biologicals & BHK-21 for veterinary vaccines).

- 1980s Led the effort to convince regulators that safe monoclonal antibodies and rDNA products from continuous cell lines (e.g., CHO) can be produced.
- 1990s Organized key scientific meetings on genetic stability, virus safety, specifications, cell substrates ...that led to the successful development of many of the WHO and ICH quality documents.
- 2000s Organized conferences in collaboration with regulatory agencies on transfusion safety issues and international veterinary regulatory requirements that resulted in improved regulatory decision-making.

Currently organizing discussions of novel cell substrate issues and reviewing issues associated with the potential immunogenicity of biotech products - particularly « follow-ons ».

Involved in discussions at different levels, leading to regulatory guidelines of biosimilars, and on INN issues. Most recently participated at WHO advisory meetings on these topics.

## 陸、研習內容重點：

- (一) 藥品安定性測試主要原則一般而言亦可用於生物製劑，但對於疫苗之適用性仍需一些特殊之考量。多數疫苗是由大分子或複雜的分子所組成，且環境因子常會影響其活性。疫苗主成分包括蛋白質、碳水化合物、脂質、去活化之微生物、及滅毒微生物等，其他成分包括安定劑、佐劑、保藏劑及其他有助於疫苗效價或安全性之物質，WHO 所制定之「疫苗安定性評估指導手冊」目的就是為疫苗「量身定做」的去推動疫苗安定性評估之程序。此評估議題除包括以往環境因子對生物製劑之敏感性影響外，亦包括影響效價之測試因素及不準確度。單一因子並不足以代表安定性，而需建立安定性整體面向，此外微生物因子之考量如微生物限量 (bioburden)，中間產物或成品之無菌性 (sterility) 及殺菌劑之效力等亦列評估之列。
- (二) 所有影響安定性之環境因子中，對疫苗均有影響的是溫度，濕度則因包裝方式，故對大多數疫苗並無影響，其他環境因子如光線在新疫苗研發時應被考量。苛酷試驗 (Stress testing) 如極限溫度或光度對疫苗安定性評估並非強制性的項目 (mandatory)，但當一個疫苗想要上市時應考慮其有可能暴露之實際最高溫度，苛酷試驗亦可藉由建立降解路徑來辨明降解產物，以明瞭疫苗本身內在 (intrinsic) 之安定性，苛酷試驗項目包括暴露疫苗高於建議儲存溫度、氧化劑、凍結回溶 (freeze thaw)、及 pH 範圍等。
- (三) 評估疫苗安定性最大的問題為許多疫苗具有特殊之之生物活性，不能經由單一生物或化學方法來分析其特性。生物分析 (Biological assay) 對疫苗之品管扮演很重要的角色。活體攻擊 (i.v. Challenge) 之效價試驗 (Potency test) 通常用來作為疫苗安定性試驗之指標變數。疫苗安定性測試是用來測定疫苗品質的改變，此品質改變包括免疫性及安全性二方面。疫苗安定性試驗測試項目有：效價測試、抗原含量測試或異常毒性檢定等，必須疫苗暴露於建議儲存溫度或較高溫度 (加速試驗) 之前及之後來測定。由於生物分析之變異性較大，標準品之使用對安定性資料分析及解釋影響很大，因此標準品必須以國際生物標準品 (International biological standard) 來校正，國際標準品之目的是為了全世界疫苗效價可具比較性。WHO 為了因應全球對標準品之需求，已經與其合作中心進行標準品之製作流程。而國際標準品之製作亦須考量批次之安定性，故安定性評估亦須符合 WHO 「疫苗安定性評估指導手冊」之規範。
- (四) 疫苗品保最新觀念為基於生產之一致性 (Consistency)，所有生產中製程 (In-Process control)，均須管制而非僅檢驗最終之批次。安定性測試應被視為從產品開發至取得許可執照到上市後追蹤之連續過程，雖然每個階段測試項目或環境因子不同，但安定性是一個持續 (ongoing) 之追蹤流程，須監測至疫苗整個生命週期。
  - 測試頻率及安定性評估變數之選擇：因為抗原特性及製程之不同，所以安定性評估變數 (Stability indicating parameters) 之選擇應隨個案而定 (case by case basis)，臨床上潛在可觀察之變化也應被考慮在其中。安定性評估變數在理想上可反應疫苗品質、有效性及安全性。對大部分疫苗而言，效價試驗被認為可反應環境狀況對疫苗有效性之安定性評估變數，舉例而言，訂定疫苗效價之上下限規格，下限規格可反應疫苗臨床上之最低有效性，上限劑量可顯示疫苗的安定性。當疫苗在研發階段就應考慮疫苗在臨床試驗

之生物活性（毒性，效價）、安全性及有效性，疫苗製造商應訂定安定性之評量表，以保證產品特性之改變可以經由適當之物理、化學或生物性分析來偵測。對於活性減毒疫苗而言，中和效價（titre）可作中間產品及最終批次之安定性評估變數，其他影響有效性、安全性或品質之變數也應加入。這些變數包括抗原成分、外觀、pH 值、一般安全試驗、特異毒性、殺菌劑含量、無菌性、佐劑劑量及物化性質等。對非活菌疫苗而言，效價試驗可用來直接顯示中間產物及最終批次之安定性評估變數。至於測試頻率之選擇，一般藥典之規範並不適用於所有疫苗，因此適當之測試時間點應考量疫苗特性、量測變數之變化速率、測試目的、設計方法及相關資料之統計分析等。

- 中間產物：疫苗生產流程會涉及中間產物之產生，如菌體收穫、抗原純化、抗原佐劑吸附及最終原液（final bulk），除非不穩定否則這些中間產物會儲存一段時間甚至數年之久，此時安定性測試應在不同生產之中間產物執行，如個別收穫、個別抗原原液、多價混合抗原原液及最終原液，每個階段安定性測試應執行並予以文件化，此中間產品之安定性試驗應在即時狀況下測試。此安定性試驗並應經確效，測試頻率也應確定。
- 抗原在最終產品之累積年齡：最終產品安定性必須保證能維持整個架儲期（Shelf life），與中間產品用於生產製品之年限不同。在產品架儲期終了，所有產品成分之年齡總和稱為產品之總累積年齡，實際上最終製品之安定性資料應包括在最終配方中之不同階段中間產物年限之資料。但此資料在取得執照時並不會函蓋其中，故廠商應被鼓勵收集此資料在持續性追蹤上並呈報於政府法規單位。中間產品之儲存狀況及年限應被規格化，並直到證明中間產品年齡並不會影響產品之品質、安全性及有效性。加速安定性試驗也可被執行去顯示不受中間產品年限之影響。國家法規單位應要求及評估此資料。
- 最終批次
  - 疫苗配方：最終批次之安定性視中間製品及最終配方之安定性而定，此資料應呈交給國家法規部門。以 combined vaccine 為例，每一成分之安定性應被評估，累積之安定性潛在對產品質之影響，應小心評估。
  - 疫苗容器封蓋系統：除了最終配方安定性資料外，其他在使用時影響疫苗安定性的因素也應被測試。疫苗和容器封蓋是否有交互作用，尤其產品為液體時特別重要。封蓋系統對疫苗安定性和品質之影響應藉由暴露樣品於不同貯存位置來測試，這些位置應模擬實際運輸及儲存狀況，且疫苗和封蓋系統接觸可能為正放、平放或倒立。
  - 凍結乾燥疫苗之安定性：安定性資料應包括稀釋液復原後之最大儲存時間，疫苗殘留水分含量應被規範，稀釋液之安定性也應單獨進行測試。
  - 短時間暴露於標示溫度外之疫苗安定性：一般而言疫苗之製造，儲存、運送及使用均應保存於標示溫度內，但有時短時間暴露於標示溫度外是不可避免的，特別是當運輸處理及疫苗使用時。因此須模擬暴露於不同溫度及時間，其安定性評估變數包括效價、抗原成分、分子分佈曲線等。

(五) 法規面考量疫苗安定性評估：安定性評估是疫苗品質評估重要之一部分，安定性評估之目的是去肯定在生命週期結束時其有效性及安全性均可達到可接受之品質。安定性研究可以決定疫苗中間產物之儲存時期，疫苗最大保存期限，最終產品之最低放行標準，及上市後疫苗安定性監測。安定性研究另一目標是可以提供當製程或配方變更時，作為資料之比較，並可確保上市產品在其有效期限內均可符合規格。另外，安定性研究是一個持續進行的過程，國家法規部門應確認所有製造階段均有安定性研究，製程之變更均須執行額外的安定性研究並經法規部門許可。

- 臨床試驗許可階段安定性研究：在臨床 Phase III 前所開發疫苗之所有特性應已研發，且有充分資料去分析臨床批次之安定性，但因此階段之疫苗有效性等相關性資料並未完成，故很難找到適當之效價試驗作為安定性評估之變數。僅能以臨床 Phase I 或 Phase II 資料作為評估模型。除了實際長期儲存時間資料外，加速安定試驗資料亦可提供潛在降解產物情形，數學統計模型亦可用來評估臨床試驗疫苗之效價。
- 申請執照階段安定性評估：疫苗依安定性所提出之有效期限及儲存狀況，應該以實際長期安定性研究結果提出。安定性研究應以最終製程及配方來執行。當最終產品在處理或運送時超出標示溫度時，加速安定性資料可用於支持最低之放行規格。在產品研發階段，有許多測試建立作為安定性評估變數，其中最精確的安定性預測是基於生物性相關安定性評估變數的數學模型，但須數學模型須以製程之一致性，分析變數之定量化及適當的資料分析為前提。至少有實際儲存狀況 6 個月安定性資料呈交給國家法規部門，但少於 12 個月資料之數學模型推測風險性很高，變數之選擇與放行標準必須訂定，加速試驗之安定性模型推估可測量產物降解情形，雖可為輔助但不能取代實際狀況之長期安定性實驗。
- 上市後之安定性監控：取得許可執照後，仍需進行疫苗安定性之持續監控 (Ongoing monitoring)，此監控之主要目的為支持產品之效期規格，而且可更精緻看到疫苗安定性之面貌，可於年度報告中提出此監控資料。
- 產品放行之不同溫度 (Thermal) 安定性測試：Thermal 安定性測定可提供作為疫苗生產一致性之批次放行指標，其適用範圍為活的減毒疫苗如 OPV, MMR, Yellow Fever。WHO 建議此測試可作為個別疫苗產品放行之規格。但對去活化 (inactivated) 之疫苗則不一定適用，例如暴露於較高溫度後抗原成分測定不一定與疫苗的有效性或免疫性相關，因此此一測試應視個案而定。

(六) 實驗設計與統計分析考量：每個階段疫苗生命週期之安定性目標不同，可歸納為①決定有效期限及儲存狀況去支持取得執照②上市後監控疫苗安定性③可藉由不同製程產品安定性之比較性以支持製程之變更。疫苗安定性之設計應明白指出研究目的，結果之分析及資料之解釋，此外生物分析之變異性及資料分析的選擇也都應小心考量。疫苗安定性研究須填寫計畫書，詳述分析方法、次數及間隔時間點，參考品之安定性也是很重，安定性測試結果可訂定允收標準來評估或是經由數學統計分析去評估疫苗安定性之特性。

- 疫苗安定性研究設計之統計考量：經由統計設計來解釋疫苗安定性研究結果以評估疫苗包括安全性及有效性之風險。統計實驗設計須增加測試次數

及時間間隔點來避免量測不準度 (Uncertainty)，但卻增加了實驗室之負擔，但可利用籃式及矩陣分析方式 (bracketing and matrixing) 來減少測試次數、訂定效期及最低允收標準。

- 樣品之選擇與測試：當最終配方有不同劑型時，籃式設計可用來作為樣品之選擇，亦即效價相同但同三種以上不同包裝劑型時，籃式安定性設計選擇以最小及最大容器包裝作為所有劑型代表來測定安定性。對每一樣品而言，至少包括三批疫苗，才可以得到較可信賴之安定性評估。為了確定抽取樣品具有代表性，可用矩陣分析法在不同抽樣點抽取樣品。
- 安定性測試之分析方法與結果之表示：安定性分析方法必須可定量且有明確之數值顯示，描述性之報告 (如通過或不通過) 不應採用，而僅能為分析之參考。安定性評估之分析方法確效十分重要，其策略為減少安定性分析方法之變異性 (variability)。在分析資料時，標準品及對照參考品是否已經校正亦很重要，另外可利用 unincubated 之批次樣品來降低分析方法之變異度，先把測試批次樣品儲存在-70°C，當進行安定性試驗時再其取出與標示溫度下之其他儲存樣品一起進行實驗，這樣可減少分析方法之不準確度。
- 產品申請執照時之實驗設計：疫苗有效期限及放行標準應以實際長期儲存時間為主。當疫苗研發至須瞭解效價之動力學 (kinetics) 或其他影響因子時，如此的研究就應進行。安定性研究對象包括最終製程之中間產物、將上市之包裝產品及早期研發具潛能之產品，且應全程比較之製造及研發批次之異同，這些研究之目的為訂定最低之放行效價及最大有效期限，有時也可用來確保臨床試驗降解之產品不會超出安全範圍。上市產品之安定性研究應包括預期偏離標示溫度 (如包裝、稽核、裝運) 之評估；只要產品在某一儲存狀況下是安定的，加速試驗和長期安定性試驗可進行進行之。已上市產品之長期安定性研究可收集許多資料去顯示產品之動力學及其生命週期。如果產品之動力學並非直線，而是早期會有變化者，則早期之檢測間隔點應增加，後期之檢測間隔點則減少。製程中間產物之安定性研究，可建立中間產物之儲存時間，我們可以用固定間隔來測試所擬定之中間產物儲存時間，例如原液可儲存在-70°C 下三年，我們可每隔半年取樣測試，得到之資料可顯示三年內產品可維持其安定性或是利用統計迴歸方法來評估效期。至少須三批以上之產品進行試驗，以得到較可信賴之資料，所得的資料經統計分析後可用來決定產品之有效期限及放行標準，且在其生命週期內均可確保其有效性及安全性。
- 疫苗上市後安定性持續監視之實驗設計：疫苗上市後安定性研究是用來監測疫苗安定性之一致性。一批或多批疫苗置於長期安定性監控中，安定性變數應包括能影響安全及有效性之變因。一些變數可能是容器封蓋或產品之完整性如無菌相關者可在實驗結束時檢測。物理、化學或微生物完整性如染劑穿透性測試、真空測試、微生物浸潤測試可依既定時程進行，這些測試如容器裂痕偵測，可降低無菌試驗偽陽性的可能。安定性實驗時間點之數目與間隔應記載於計畫書中，從這個研究所得之分析資料可與以往批次資料相比較如允收標準或斜率等，安定性持續監視變數計畫所得資料，可用來更新產品之安定性評估。
- 安定性研究用來支持製程變更之實驗設計

■ 安定性研究用來支持製程變更之設計

加速安定性研究可用來支持可能會影響疫苗安定性之製程變更，至少三批新製程產品與現有製程產品在至少三個不同溫度下比較，溫度與時間之選擇視產品特性而定，加速安定性可得到安定性改變之評估資料，如果安定性動力學是直線的，二個時間點（最初及最終時間點）的加速試驗有利於統計上之計算，若動力學是非直線的，則須三個以上時間點之安定性試驗，此加速試驗可用來比較溫度間、製程間統計學上之差異以建立製程改變之可接受性，且資料之分析及允收標準應於計畫書中訂定，而製程變更後之長期安定性可由上市後產品之持續監控來評估，其資料分析是比較不同批次間新舊製程安定性變數之差異。

- 支持製程變更之資料分析：當製程改變，短期加速試驗結果證明製程變更不會影響疫苗安定性，利用降解速率來比較新舊製程是可接受的，其方法是利用統計分析之 t test 來比較，公式如下：

$$\bar{y}_N - \bar{y}_0 \pm t_{\alpha} s \sqrt{1/n_N + 1/n_0}$$

where  $\bar{y}_N$  and  $\bar{y}_0$  are the average natural log loss rates across lots, for the old and new process materials;

$t_{\alpha}$  is a statistical constant related to the degree of confidence (usually 95%);

$s$  is the pooled variability in natural log loss rates for old and new process materials;

$n_N$  and  $n_0$  are the number of new and old process lots in the study.

如果允收標準介於-0.10 至 0.10 間，而計算所得為 -0.08 至 0.02，則表示可接受，新舊製程是可以變更的，但此分析不能外推超出標示溫度以外，製程變更後長期性安定性之一致性仍須由上市後安定性試驗來監測。

(七) 資料分析：疫苗安定性研究在進行前應先提出安定性計畫書予以文件化，計畫書應說明每個資料是與允收標準比較或是採取統計分析方法來評估；若用統計分析方法應說述明採用何種統計分析來解釋或說明統計結果。

- 以允收標準來比較安定性測量結果：安定性資料分析與允收標準比較，每個資料點均須符合允收標準，此評估方法並未保證測量誤差已加入允收標準中。
- 安定性變數已包含測量變異度之評估：利用如迴歸分析之統計分析模式來分析安定性研究資料，此模式須有多於三個時間點資料方可執執行，早期分析因資料少較後期含全部生命週期之分析可信性較低，所以分析資料時應很小心，後期大量批次及時間點資料產生較精確的疫苗安定性評估。
- 失效期或最低放行效價之計算：在許多國家，失效期的計算是依照已設定批次、已設定時間點，當疫苗安定性測量低於允收標準之第一個時間點作為失效期。此方法好處是簡易，但可能產生因測量誤差而得到之假結果，且此一方法並不能作進一步統計分析。如採用迴歸分析之統計分析模式，則可分析實際狀況之安定性資料，並利用信賴區間決定批次符合允收標準之最大失效期。另外疫苗製造廠也希望計算在疫苗生命週期有效期限內均符合允收標準之最低放行標準，這包括有效期、溫度（包裝或裝載及使用時）以及量測不

準度之考量，評估最低放行規格之公式如下：

$$\text{MinimumReleaseSpecification} = \text{ClinicalMinimum} + \sum t_i \hat{b}_i + z_{\alpha} \cdot \sqrt{\sum t_i^2 s_{b_i}^2 + s_{\text{Assay}}^2}$$

where Clinical Minimum = the lowest dose of vaccine that shows adequate immunogenicity or efficacy, usually reported as percent response or percent protected in the tested population,

$t_i$  = time at the  $i^{\text{th}}$  temperature,

$\hat{b}_i$  = loss rate at the  $i^{\text{th}}$  temperature,

$z_{\alpha}$  = a statistical constant, associated with 95% confidence,

$s_{b_i}$  = standard error of estimate of  $\hat{b}_i$ , and

$s_{\text{Assay}}$  = release assay variability, expressed as standard error.

如果市售之批次檢驗結果超過最低放行規格，就可放行上市販售。

- 上市後安定性研究之資料分析：上市後安定性監控之資料分析完全視研究目標而定，其中一個方法為比較每個時間點與效期終了時之允收標準，符合允收標準可確保安定性分析無誤，另外利用如迴歸分析之統計模式亦可用來評估上市後之安定性監控，由迴歸線所得之預測值可評估每一批次之特性且可降低不準度。

#### (八) 混合疫苗之安定性評估

在混合後每個疫苗成分應被測試去確認與原先取得執照時相同，混合疫苗生命週期之決定應以成分中最短的生命週期為主，並且單價疫苗之資料應支持混合疫苗的安定性，但不能外插單價疫苗作為結果。中間產物累積年齡對疫苗品質及最終產品之安定性影響應小心考量。

#### (九) 標示

標籤之標示應充分明白，且符合國家對標籤標示之要求，與安定性相關的失效期及儲存狀況應清潔明白地標示於標籤，疫苗對環境因子（如光與冷凍）之敏感性應與建議措施放在一起（如疫苗不能冷凍且應避光）。

## 柒、心得

- (一) WHO 所制定之「疫苗安定性評估指導手冊」與我國衛生署於民國 94 年所修訂之「藥品安定性試驗基準」其主要差異如下：
- ①對象不同：WHO 針對疫苗類藥品，而衛生署則廣泛地指一般性藥品。
  - ②目的不同：WHO 以疫苗全部生命週期來探討，衛生署則主要以申請上市之新藥之架儲期為目的。
  - ③規範不同：WHO 針對不同疫苗建議以 case by case 模式來規範，衛生署則作一般性之規範。
  - ④要求不同：WHO 要求從疫苗材料、原料，中間產物，最終產品及至產品上市後監控均須進行安定性評估，而衛生署則偏向最終產品之安定性試驗。
  - ⑤理念不同：WHO 以品質設計為理念，衛生署則以品質督導查核為概念。
- (二) 有關訂定疫苗效價之上下限規格，下限規格可反應疫苗臨床上之最低有效性，上限劑量可顯示疫苗的安全性。這一點在研討會上引起廣泛的討論，因為大多數國家法規或藥典均只訂定下限而無上限，但與會專家學者認為訂定上限劑量是基於安全性之考量，目前研發中之新藥、活性減毒疫苗及多合一疫苗基於風險管理仍應訂定效價之上限規格。
- (三) 中間產物保存期限及其安定性試驗之訂定，目前在本局疫苗中心裡並無規定，只初步規定每二~三年原液須再驗，研討會中曾詢問身旁之 GSK 藥廠人員，他們回答，他們每個製程之每個中間產物均有詳細規定儲存期限。因此關於此點，我們應向其學習。
- (四) 抗原在最終產品之累積年齡是否與疫苗之安定性相關，除了涉及中間產品之儲存期限外，亦與疫苗配方及最終產品有效期限相關，因影響因子複雜，在研討會上學者，提醒大家這才是疫苗的完整生命週期，累積年齡是否會影響最終產品之有效期限，仍須建立相關資料，以為上市後之持續安定性監控。
- (五) 當最終產品在處理或運送時超出標示溫度時，加速安定性資料可用於支持最小放行規格。目前本中心所生產生物製劑，均屬須冷藏之製品，並未進行加速安定性試驗，但製品在搬運，包裹或使用時仍有超出標示溫度之風險，故仍應建立其加速安定性資料，以為超出標示溫度時之準備。
- (六) 研討會中有某知名藥廠專家演講時提出其某項臨床試驗時所進行之安定性評估，以疫苗安定性測量低於允收標準之第一個時間點作為失效期，結果被其他專家詰問為何不依統計數學模式進行並質疑其資料之可信性，這位演講面紅耳赤地回答因該臨床試驗時 WHO 所訂定之安定性評估指導手冊尚未公告，所以僅用較簡單之方式進行。此一幕影像至今仍歷歷在目，故



安定性評估之計畫書或資料之呈現應以較科學性或合理之方式呈現，方具有說服力

- (七) 在研討會議總結討論時，許多國家代表提議 WHO 專家學者群為疫苗安定性評估建立樣版範例 (Template)，以便於利用此樣版範例來建立各個廠商之疫苗安定性評估之計畫書，會議中經專家學者之討論後，否決了此項提議，其主要理由有二，其一為每種疫苗特性不同且每家藥廠製程亦不同，各家藥廠應最瞭解其製程及疫苗特性，WHO 若建立樣版範例，不一定符合每家藥廠之需求。另一理由為 WHO 若建立樣版範例，必為各國法規單位所引用，但目前 WHO 以疫苗生命週期為導向所制定之「疫苗安定性評估指導手冊」尚屬推廣階段，至今能符合指導手冊者寥寥無幾，故為避免對許多國家造成壓力，就像會議結束時主持人所說的這類研討會仍將繼續舉辦，期待下次會議時大家相見時都已有成果並能提出意見討論。
- (八) 參與本研討會除獲得最新疫苗新知與訊息外，另外能與眾多國際知名之專家學者共聚一堂並向其請益，獲益良多。此外，與各國疫苗產業人士互相切磋，交換彼此心得與經驗，更是此行最寶貴的收穫。
- (九) 此研討會共有來自世界各地之五、六十國家人員參與，主辦單位除了歡迎各國疫苗藥廠參加外，亦希望各國的法規部門人員參與，可惜台灣方面除了職代表本局疫苗中心參加外，國內另一家疫苗製造廠---國光生技公司因事未能參與，國內法規部門人員---藥政處或藥檢局亦未能如會，十分可惜。反觀對岸中國除了疫苗廠商外，中央法規部門亦派員參加此次會議，足見對此研討會之重視，與其談話中亦明瞭其 GMP 之推行及對疫苗品質之要求也逐漸提高，凡此種種，均深深惕勵自己要更努力精進。
- (十) 為因應知識經濟時代來臨，人員之再教育訓練不可或缺，才能因應時代潮流所趨及符合新的法令規範。此次疫苗安定性評估研討會，透過專家學者之教育訓練宣導及實例之討論解說，讓與會者更能瞭解 WHO 制定「疫苗安定性評估指導手冊」之原理與理念，進而遵守與奉行，並達到品質系統之最終目的---不斷地改善精進。

## 捌、建議

- (一) 一般討論到疫苗安定性，其安定性評估變數以疫苗效價為主，此研討會提出除效價外，包括如抗原成分、外觀、pH 值、一般安全試驗、異常毒性、保藏劑含量、無菌性、佐劑劑量及物化性質等均可作為評估變數。建議此點可作為我們日後制定安定計畫書時之參考。
- (二) 有關疫苗在各個不同階段（臨床試驗許可階段、申請執照階段、上市後監視階段）之安定性評估，目前我國法規僅規範申請執照階段及上市後持續監視階段之安定性評估。在本疫苗中心裡，主要產品均已取得生產執照，故僅進行上市後持續監視階段之安定性評估，建議針對關鍵製程仍應進行中間產物之安定性研究，以為未來製程改進之參考。
- (三) 有關活菌產品放行之不同溫度安定性測試，此點列於 WHO 疫苗放行標準中，但在國內藥典中並未明確規範，有關此項測試建議先進行相關研究，明瞭其可行性，再考慮是否以個案方式，列為該製品放行之品質管制項目。
- (四) 針對凍結乾燥疫苗之安定性，WHO 認為安定性資料應包括稀釋液復原後之最大存放時間，疫苗殘留水分含量及稀釋液之安定性也應單獨進行測試。目前本中心有八項凍結乾燥製品，但僅進行稀釋液安定性測試，建議仍須逐步建立相關資料。
- (五) 目前本中心廠內之安定性評估以在有效期限內符合法定允收標準為主，並未進行相關統計分析工作，故建議採行 WHO 以數學統計模式來進行分析工作，以建立客觀之科學實驗數據分析。
- (六) 廠內製品之最低放行標準 WHO 定為：法定規格 + 有效期限內產品之降解度 + 分析方法量測之不準度。目前本中心之放行標準仍以法定規格為標準，若採用 WHO 定義之規格，勢必對本中心製品產生衝擊，建議進一步評估後再逐步採行。
- (七) 當製程改變時，目前本中心所進行之評估為執行三批製品之製程確效，並未進行新舊製程產品之安定性評估，今後若有製程變更將建議進行短期加速試驗，並以統計方法評估二者是否有差異性，以確保製品品質。
- (八) 研討會提到可利用 unincubated 之批次樣品來降低分析方法之變異度，先把測試批次樣品儲存在-70°C，當進行安定性試驗時再其取出與標示溫度下之其他儲存樣品一起進行實驗。有關此點將建議品管部門採行，以降低分析方法之不準確度。
- (九) 如同上述國際生物製劑協會 (IABS) 之簡介，其任務為對生物製劑相關醫藥科技

之共同性及急迫性議題，經由各學科間之討論、開會及合作，以促進共識之建立。並針對醫藥等重要相關議題，提供科學家或專業人士之研習會共同討論以達到共識，且提供生物製劑之發明、開發及相關法規等議題之教育訓練。參加協會，除獲得國際生物製劑最新訊息外，又可藉由所提供之教育訓練提昇人員素質，進而提高產品品質，且其會費便宜僅為 CHF90（約新台幣 2700 元），故建議本局可考慮參加此一國際性協會。

## 玖、附錄

會議舉辦地點：日內瓦國際會議中心



會議討論情形

