

出國報告（出國類別：研究）

參加血液病原基因擴增技術標準化研討會 20 週年大會暨參訪 NIBSC 報告

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：楊依珍 科長

派赴國家：英國

出國期間：104.06.23-104.06.28

報告日期：104.09.14

摘要

本次奉派出國係赴英國倫敦參加血液病原基因擴增技術標準化研討會 (SoGAT) 20 週年大會，並藉機順道參訪英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC)。本次研討會並與臨床診斷領域之基因擴增技術標準化研討會合併舉辦，參與該研討會獲知 WHO 目前於血液安全領域及臨床診斷領域之國際標準品建立情形，其他如二級參考物質、Digital PCR 等新興技術之應用等議題亦值得我們密切關注。為提升血液及血漿原料病毒安全，納入更靈敏之 HBV、HCV 及 HIV NAT 已是國際趨勢，藉參與國際研討會獲取血液安全領域之病毒核酸擴增技術檢測新知與國際標準品現況，應用於本署血液相關病毒核酸檢測體系及相關標準品之建立，並藉機建立與他國相關領域專家之溝通管道，邀請各國相關單位參與我國核酸國家標準品之共同標定，提升我國生物性標準品之公信力。本次並於邀請 NIBSC 參與本署 HBV 核酸標準品共同標定研究時獲知該單位正進行 WHO HBV 新一代國際標準品製備工作中，對方並建議可合併舉辦共同標定研究。另本單位之前受邀參與由 NIBSC 舉辦之 WHO 第 5 支 HCV 國際標準品共同標定研究，由報告草稿內容獲知標定結果均落於主要分布族群，成果相當良好。此行順道藉參與研討會之便參訪英國 NIBSC，了解其標準品製備設施，並與業務相關領域之專家會面討論，包含與 WHO EV71 抗血清國際標準品共同標定研究主辦人討論本單位所參與標定之結果等，並持續與流感疫苗及肉毒桿菌毒素製劑檢驗研究實驗室等專家進行技術交流與討論。

目 次

摘要	-----	2
目次	-----	3
一、目的	-----	4
二、行程紀要	-----	6
三、內容	-----	7
四、心得及建議	-----	22

一、目的

血液製劑係由人血漿製備而成，仍有潛藏經血傳染感染原之風險，而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如 B 型肝炎、C 型肝炎、愛滋病等之蔓延日益嚴重，因此確保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，近年來又由於細胞治療等人體細胞組織物臨床研究與應用之相關發展，使得確保血液相關病毒安全性更顯重要，為目前世界各國衛生主管機關持續努力之任務之一。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，持續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，世界衛生組織亦持續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。

血液病原基因擴增技術標準化研討會 (Scientific Working Group on the Standardization of Genomic Amplification Techniques for the Safety Testing of Blood, Tissues and Organs for Blood Borne Pathogens, SoGAT) 係 WHO 委託英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 辦理之國際性科學技術研討會議，NIBSC 為 WHO 之 Collaborating Center，長期以來負責為 WHO

製備與供應生物性國際標準品，舉辦該研討會之主要目的為報告相關國際標準品製備情形，並提供各國主管機關及相關領域專家就血液病原 NAT 標準化等議題交換觀點，以提升各國血液病原之 NAT 檢測水準。衛生福利部自前藥物食品檢驗局及食品藥物管理局時期，基於血液製劑與第三等級體外診斷試劑之品質檢驗管理，亦曾多次派員參與該研討會議，除獲取血液病原檢測之相關現況與新知，了解 WHO 國際標準品製備現況，與國際接軌，同時亦藉此會議保持與各國相關領域專家建立溝通管道，以便隨時掌握最新技術法規發展及建立共同合作關係，不僅因而順利邀請到各國官方實驗室（包括英、美、德、日、澳等國）參與本署建立國家病毒核酸標準品過程之國際共同標定研究，提升我國標準品之公信力，進而爭取參與 WHO 國際標準品共同標定研究之機會，增加國家能見度。

本次適逢該研討會 20 週年大會，並將藉機邀請與會相關機構參與本署 HBV genotype C 核酸標準品之共同標定研究，待完成標準品之共同標定研究，所建立之核酸國家標準品除供本署因應血液製劑風險管理之 NAT 檢測體系用，亦可提供我國捐血中心、臨床檢驗單位與診斷試劑製造廠作為 NAT 檢測方法與分子診斷試劑研發品管評估用，以提升其製造與檢驗水準，除保障國人用血安全，亦有助於我國生物技術產業之推動，達成與國際接軌之目標。此外，本次因該研討會於英國倫敦舉辦，擬藉此機會順道參訪英國國家生物標準品暨管制研究所中業務相關領域實驗室，以了解該機構於生物藥品領域之品質管制研究近況，共同討論本單位所參與 WHO 國際標準品共同標定研究結果，並持續建立技術交流溝通管道。

二、行程紀要

<u>日期</u>	<u>工作紀要</u>
6月23日	啟程與抵達英國倫敦
6月24日	參訪英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC)
6月25日	參加血液病原基因擴增技術標準化研討會 20週年大會
6月26日	參加血液病原基因擴增技術標準化研討會 20週年大會
6月27日	返程
6月28日	抵台

三、內容

(一) 參加血液病原基因擴增技術標準化研討會 20 週年大會

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 年起召開血液病原基因擴增技術標準化會議，鑒於核酸擴增技術及相關市售診斷試劑迅速發展，製備對照標準品有其需求性，該研討會之優先工作即為建立血液相關病毒之 NAT 檢測體系，NIBSC 並於會上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，並提供主管機關、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 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。SoGAT 於過去 20 年來在血液安全方面已經完成許多顯著的任務，例如：建立 WHO HCV RNA 國際標準品 (1st, 2nd, 3rd, and 4th) 及 Genotype Panel、WHO HIV RNA 國際標準品 (1st, 2nd, and 3rd) 及 Genotype Panel、WHO HBV DNA 國際標準品 (1st, 2nd, and 3rd)、WHO B19 DNA 國際標準品 (1st, 2nd, and 3rd) 及 Genotype Panel、WHO HAV RNA 國際標準品 (1st, and 2nd) 等。近年來由於血液相關病毒之 NAT 檢測用國際標準品 (International Standard)、Genotype Panels 與工作試劑均已陸續建立，同時鑒於分子檢測在臨床病毒診斷上日益普遍，但卻缺乏相關之國際標準品與工作試劑可供使用，NIBSC 希望 SoGAT 能將在血液安全領域的知識經驗也貢獻於臨床病毒診斷領域，以更能符合公共衛生之需求，因此於 2008 年將 SoGAT 分為 2 部分：(1) SoGAT-BT (Blood/Tissues Safety)，又名 SoGAT-BV (Blood Virology)，仍針對血液安全方面持續辦理，惟改為每 2 年舉辦一次；(2) 由於臨床病毒診斷領域明確提出 NAT 檢驗技術標準化之

需求，鑒於 SoGAT 部分與會者與此領域並不相關，因此成立臨床診斷領域之基因擴增技術標準化研討會，簡稱 SoGAT-CD (Clinical Diagnostics)，每 2 年舉辦一次，與 SoGAT-BT 交錯舉辦，但試行幾年後發現兩個會議間的標準化主題其實有共同的主軸，因此於 2012 年起又開始合併舉辦。

本次為 20 週年大會，於 2015 年 6 月 25 至 26 日在英國倫敦舉辦，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、臨床檢驗實驗室、外部品質評估機構、公私立研究機構與大學院校等代表，計有約 103 位來自歐洲各國、美國、澳洲、加拿大、巴西、土耳其、日本、中國與台灣等國代表參與該會。

本次研討會採互動討論的方式，就 (1) 國際標準品、(2) 第二級參考物質、(3) 未標準化分析方法、(4) 血清國際標準品的誕生、(5) 抗原相關國際標準品、(6) 總結與 SoGAT 未來 (核酸擴增技術與血清學分析) 等 6 部份與標準化相關之議題進行討論，相關內容重點如後所述。

1. 國際標準品

本議題由英國 NIBSC 之 Dr. Clare Morris 與 Dr. Jacqueline Fryer 主持，由 Dr. Clare Morris 先簡報後再開放討論。Dr. Clare Morris 首先簡短地介紹 WHO 國際標準品目前的進展，以及本年度完成之國際標準品共同標定研究結果，包含 JC Polyomavirus 標準品、BK virus 標準品、HCV 標準品及伊波拉病毒 (Ebola virus) 標準品等，其中提及 NIBSC 舉辦之 WHO 第 5 支 HCV 國際標準品共同標定研究，本單位亦受邀參與，由報告內容獲知本單位之標定結果均落於主要分布族群，成果相當良好。NIBSC 目前正進行標準品之安定性評估研究，將於完成報告後提交給 WHO 生物學標準化專家委員會 (ECBS)，供其決定是否建立成為 WHO 國際標準品。

該議題的目的是希望能增進大家對於使用國際標準品的了解，鼓勵實驗室檢測結果的單位能追溯到 IU（如果有國際標準品存在的話），以利不同檢驗方法所得結果的比較。此部分討論的重點包含：購買 WHO 國際標準品的機構如何使用國際標準品、WHO 國際標準品的供應量是否足夠、如何增進大家對於使用國際標準品的了解、如何讓大家正確使用國際標準品、如何鼓勵大家使用國際標準品並以 IU 為單位來呈現檢測結果、國際標準品更新時是否需要隨之更新等。各界意見相當多，例如有部分使用者表示如依 WHO 標準品說明書的指示（復溶後不重複使用），則各單位每年限購 5 瓶的數量是不足的；也有專家建議由英國 NIBSC、美國 FDA 及德國 PEI 等具專業權威之官方實驗室負責建立能追溯到 WHO 標準品的第二級標準品，因為製造廠或實驗室進行診斷試劑效能評估研究或分析方法確效時需使用足夠量且具有公信力之官方標準品；另有專家建議向能力試驗機構或在研討會推廣使用 IU 為單位來呈現檢測結果；此外，也有專家認為隨著次世代定序儀（Next Generation Sequencing, NGS）的問世，建議未來提供病毒標準品之相關資訊應包含其核酸序列。

一般而言，國際標準品係供官方實驗室、製造廠及臨床實驗室追溯校正其第二級參考物質用的，如果將國際標準品拿來作為分析方法確效用，甚至於作為例行試驗之品管對照用，將會導致國際標準品永遠供不應求，因此 NIBSC 呼籲大家要正確使用國際標準品，未來她們將會多加利用網頁提供相關資訊，以利外界更加了解如何使用國際標準品，減少不當使用國際標準品，以減緩國際標準品之消耗量。

另一個議題由美國 St. Jude Children's Research Hospital 之 Dr. Randall Hayden 先簡報後再開放討論。Dr. Randall Hayden 首先簡短地介紹參考物質的互通性（Commutability）評估議題。由於臨床病毒學領域之巨細胞病毒（Cytomegalovirus, CMV）國際標準品被報告其可能缺乏互通性，因而引發此議題之討論。Dr. Randall Hayden 的實驗室也藉由 8 個實驗室 10 種不同的及時定量 PCR 分析方法來評估 WHO 巨細胞病毒國際

標準品的互通性，結果顯示該標準品的確缺乏互通性。而另一實驗室對於 EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 國際標準品之評估研究結果則顯示其互通性相當良好。

由於生物性對照標準品相當複雜，其檢測方法也相當複雜，「互通性」之目的就是要使各實驗室檢測結果能全球協同化，一個參考物質能夠像臨床檢體一樣適用於所有檢驗方法，即稱之為「有互通性 (Commutable)」。

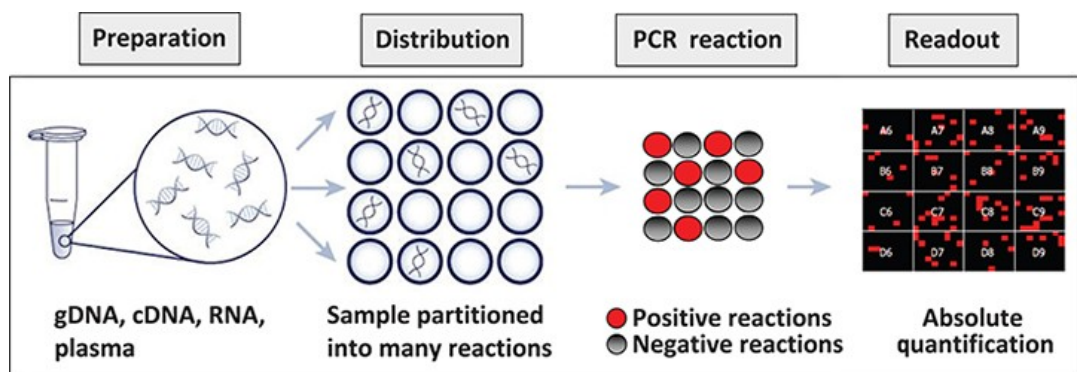
亦即，應用不同的檢驗方法同時對某參考物質和臨床檢體進行檢測，所得到的結果具有相同的比率時，該參考物質即被認為具有互通性。確定參考物質互通性的需求首先源自於臨床化學，在臨床檢驗中常使用各式各樣之檢驗方法來檢測患者檢體中的某項特殊目標偵測物，這些檢驗方法是以不同的物理化學或生物化學原理來檢測複雜生物分子中的一些分子組成，這些檢驗方法對於參考物質和臨床檢體基質之間的差異可能會引起不同程度的干擾，例如核酸萃取方法、分析方法設計因子、目標序列之多型性 (Polymorphisms) 及核酸的片段化 (Fragmentation) 等因素均可能會影響，所以不能將此種情形造成之偏差歸咎於是檢驗方法的問題，或者歸咎於是參考物質在不同檢驗方法間的反應差異所引起的偏差，因此，參考物質建立前即應考量到「互通性」的問題。一般而言，評估參考物質的互通性最簡單的方法是建立與兩種檢驗方法有關的互換性，同時用兩種檢驗方法檢測臨床檢體，再以線性回歸分析 (Linear Regression Analysis) 與對應分析 (Correspondence Analysis) 來確認這兩種檢驗結果之間的數學關係，線性回歸分析通常以 95% 預測區間來呈現臨床檢體檢測結果比率的分佈。如果參考物質以同樣兩種方法檢測所得結果的比率落在臨床檢體信賴區間內，則該參考物質即被認為具有互通性。

該議題的目的是希望能藉由指引的建立與改善臨床檢體的使用權來促進國際標準品的互通性研究 (Commutability Study)，過去血液病毒領域之 WHO 國際標準品未曾被報告過有互通性議題，推測可能的原因是這些標準品多源自血漿，而臨床病毒學領域之國際標準品可能由於臨床檢體取得

不易而多採細胞培養方式增殖，與實際檢體有所差異，亦或是病毒本身造成之因素等均尚待進一步研究，未來臨床病毒學領域可能須考量潛在之互通性議題，於共同標定研究設計時需包含臨床檢體來評估互通性，所以討論的重點均著重於如何促進互通性研究指引的建立，以及如何改善臨床檢體的使用權以供互通性研究用等。

2. 第二級參考物質

本議題由美國布朗大學之 Dr. Angie Caliendo 與英國 NIBSC 之 Dr. Neil Almond 主持，該議題的目的是要讓大家了解第二級參考物質如何被製造與校正追溯，由 Dr. Angie Caliendo 首先簡要地介紹實驗室與製造廠評估第二級參考物質的方法後再開放討論，所以此部分討論的重點在於實驗室與製造廠該如何校正第二級參考物質追溯至 WHO 國際標準品，她並認為，隨著新興儀器 Digital PCR 持續發展，未來可能可以直接以 Digital PCR 進行絕對定量，因其可以直接計算目標序列的拷貝數，毋須利用標準品建立標準曲線的方式來進行相對定量。Digital PCR 是採用微流體 (microfluidics) 或微滴化 (Droplet) 的方式，將核酸分配到大量獨立的微滴中，並使每個微滴中的核酸模板數少於或等於 1 個，經 PCR 擴增反應後，統計微滴中的陽性信號(代表有核酸分子)，最終根據 Poisson distribution 來定量 DNA 的濃度或拷貝數，其作用原理摘錄如下圖：



(摘自 <https://www.thermofisher.com/tw/zt/home/life-science/pcr/digital-pcr.html>)

另一議題的目的是要評估 WHO 第二級參考物質製備與校正追溯指引草案之適當性，由德國 Paul-Ehrlich Institute (PEI) 之 Dr. Michael Chudy 首先簡短地介紹他們與 NIBSC 目前正草擬之第二級參考物質製備與校正追溯指引後再開放討論，他首先說明他們於 2012 年開始提議草擬該指引，並說明該草案之部份內容，如：由製造廠所建立之 In-house 標準品，可以只用一種方法來標定，如果是國家標準品或區域性標準品，最好不要只用一種方法進行標定。此部分討論的重點包含：該指引是否符合當初建立的目的、該指引是否符合最終使用者與法規主管機關的需求、如何取得相關單位對於該指引的意見、及如何實行該指引等。他們同時亦於會上請與會者協助審視該指引草案，請各單位如有意見於兩週內回覆，他們將於彙整各界意見後提交給 WHO 生物學標準化專家委員會 (ECBS)，供其評估是否建立成為正式指引。

3. 未標準化分析方法

本議題由德國 Charité-Universitätsmedizin 之 Heinz Zeichhardt，與荷蘭 University Medical Center Groningen 之 Dr. Bert Niesters 主持，該議題的目的是要讓大家了解實驗室在缺乏高階參考物質的情況下如何進行分析方法確效，並改善製造廠及實驗室所使用之確效指引。分別由英國 Public Health England (PHE) 之 Dr. Simon Came 及英國 Fast-track Diagnostics 之 Dr. Bill Carman 簡要地介紹各界對於未標準化技術領域之概觀，Dr. Simon Came 以 HHV-8 及 Norovirus 為例，說明實驗室在缺乏高階參考物質的情況下如何進行分析方法確效，並提及未來在缺乏高階參考物質的情況下，是否可能以 Digital PCR 進行絕對定量；Dr. Bill Carman 則提及 Plasmids 不適合當作實際之品質管制對照組 (Real QC)，因為

Plasmids 毋須經過核酸萃取程序，而核酸萃取程序是檢驗結果變異性大的主要原因。

英國 LGC 之 Dr. Jim Huggett 簡要地介紹分子診斷試劑與 SI 單位的應用，他亦提及 Digital PCR 定量結果再現性相當良好，同時因為 Digital PCR 的結果判讀僅為有/無兩種擴增狀態，毋需依賴 Ct 值，且 Digital PCR 在實驗中的稀釋分配過程可以大大降低與目標序列有競爭作用的背景序列濃度，因此較不易受抑制物的影響，亦適合在複雜背景中檢測稀有突變，但目前 Digital PCR 尚未供臨床診斷用。

美國 NIST 之 Dr. Peter Vallone 簡要地介紹需要優先製備之參考物質與其挑戰，他舉例包含慢性骨髓性白血病 (chronic myelogenous leukemia, CML) 的 BCR/ABL、大腸直腸癌的 KRAS 及 EGFR 等腫瘤標記，他並建議要明確定義第一級及第二級參考物質。英國 NIBSC 之 Dr. Ross Hawkins 簡要地介紹診斷與篩檢癌症試劑之參考物質，他亦提及目前已經有利用次世代定序技術 (Next Generation Sequencing, NGS) 為檢測平台之診斷試劑取得 CE-Mark，並討論未來生物資訊學 (bioinformatics) 及 NGS 平台之對照標準品是否會成為標準化之焦點。之後開放與會者討論，此部分討論的重點包含：實驗室在缺乏高階參考物質的情況下該如何進行分析方法確效、SoGAT 該如何協助並優先處理新的國際標準品之需求、及是否須要將基因檢測納入未來會議中。

4. 血清國際標準品的誕生

本議題由澳洲 NRL 之 Dr. Joe Vincini 主持，該議題的目的是要讓大家了解血清學國際標準品。首先由英國 NIBSC 之 Dr. Philip Minor 簡要地介紹血清學國際標準品之發展歷史，他並提及血清學診斷相當複雜，牽涉到抗原抗體反應的試驗是否一種對照標準品就能符合所有的需求；過去

中和試驗是檢測中和抗體，現在許多 ELISA 試劑不一定是檢測中和抗體，所以標準品須視待測目標決定。由澳洲 NRL 之 Dr. Wayne Dimech 簡要地介紹傳染性疾病免疫分析方法標準化之挑戰，他並建議對照標準品應符合下列要求：(1) 分析物質要明確、(2) 基質 (Matrix) 要儘可能與臨床檢體相似、(3) 標準品所給定的數值要考量量測不確定度；他並建議在製備血清學標準品前要明確定義其目的及檢驗方法。由英國 Public Health England (PHE) 之 Dr. Brigitte Senechal 簡要地討論 Anti-HBs 的標準化議題，他首先介紹 WHO 之 Anti-HBs 標準品，同時指出研究發現 Anti-HBs 低於 10 mIU/mL 仍具有保護作用，詢問是否還需要 Anti-HBs 定量方法標準化。德國 Charité-Universitaetsmedizin 之 Heinz Zeichhardt 由最近的外部品質評估計畫討論 Anti-HBs 定量結果之高度變異性，他並提醒 HBV, HCV, HIV 常有 Co-infection 問題，而 Co-infection 對於診斷試劑可能是個挑戰。美國 Immuncor 之 John Saldanha 亦提及血清學分析較複雜，包含抗體親和力、抗體種類、個體免疫反應等差異均會影響血清學分析，不像核酸擴增技術分析方法只需要考量核酸序列之高度保留區 (Conserved Region)。

5. 抗原相關國際標準品

本議題仍由澳洲 NRL 之 Dr. Joe Vincini 主持，該議題的目的是要讓大家了解抗原相關國際標準品。分別由瑞士蘇黎世大學之 Dr. Beatrice Vetter 簡要地介紹供診斷試劑評估用之重組 HIV-1 Gag (p24) Virus-Like Particle Subtype Panel，他們實驗室鑑於 p24 標準試劑有限，因此以基因重組方式製造了一組包含 43 支表現 Structural Gag Proteins p24 的 Virus-Like Particles (VLPs)，涵蓋了 HIV-1 subtypes A-H, Circulating Recombinant Forms (CRF) CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF20_BG 及 Group 0，利用 11 種第四代 Ag/Ab 檢測試劑及 5 種 Ag 檢測試劑與 WHO p24

標準品同時進行評估，結果發現該些試劑對於該組 Panel 之檢測能力相當於 WHO p24 標準品，顯示此種模式可應用於原料來源有限之標準品建立工作。美國 Walter Reed Army Institute 之 Dr. Mark Manak 簡要地介紹評估第四代 HIV Ag/Ab Combo Assays 之 Standardized Panels 特性，他們發現第三代 HIV Assays (檢測 HIV-1/HIV-2 之 anti-HIV IgM and IgG 抗體) 的檢測空窗期約 3-4 週，第四代 HIV Ag/Ab Combo Assays (檢測 HIV-1/HIV-2 之 anti-HIV IgM and IgG 抗體及 HIV-1 p24 Antigen) 則約為 3-4 週。德國 Paul-Ehrlich Institute (PEI) 之 Dr. Sigrid Nick 簡要地介紹她們所建立之 WHO HCV 核心抗原 (Core Ag) 國際標準品，標準品原料是來自 HCV RNA 陽性 (HCV Genotype 1a), Anti-HCV 抗體陰性之血漿，參與共同標定研究的實驗室來自 9 個國家 12 個實驗室，標定結果建議候選標準品 (PEI code 129096/12) 建立成為 WHO 第一代 HCV 核心抗原 (Core Ag) 國際標準品，標定結果為 3,200 IU/mL (0.5 mL/vial)。之後再針對抗原及抗體標準品開放討論，此部分討論的重點在於檢討抗體相關標準品是否有用。

6. 總結與 SoGAT 未來 (核酸擴增技術與血清學分析)

最後議題由英國 NIBSC 之 Dr. Philip Minor 與澳洲 NRL 之 Dr. Joe Vincini 主持，由於前面各議題均為開放與會者討論，所以本議題的目的是希望能歸納出前面各議題所產出的未來規劃方向。大體而言，未來規劃方向包含：

- NIBSC 將會提供更多資訊於 SoGAT 網頁，並增加與標準品使用者之互動，教育大眾如何正確使用國際標準品。
- NIBSC 與 PEI 同時期待大家對於 WHO 指引草案提供意見，讓 WHO 指引文件更臻完善。

- NIBSC 將持續與 WHO ECBS 討論國際標準品之優先順序。
- Digital PCR 未來將會是 DNA 定量的良好工具，需持續關注其技術發展。
- 提供更多標準品資訊，例如標準品的核酸序列，也是未來的趨勢。
- 血清學標準品將會優先針對臨床病毒檢驗領域進行。

此外，討論的重點並包含本次會議模式改為互動式討論之效果，NIBSC 並發出問卷詢問與會者的反應，未來會議模式將視問卷評估結果來決定。

(二) 參訪英國國家生物標準品暨管制研究所 (NIBSC)

英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 是 WHO 生物性標準品實驗室，長期以來持續為 WHO 建立國際標準品，並供應全球 90-95% 之 WHO 生物性標準品；NIBSC 也是英國在歐盟的官方藥物品質管制實驗室 (Official Medicines Control Laboratories, OMCL)，負責英國與歐盟之生物藥品逐批放行工作及生物藥品相關檢驗研究工作。此外，NIBSC 也會協助 EDQM 進行 centrally authorized products (CAP) 檢驗，並協助 WHO 執行疫苗之 prequalification 程序，確保聯合國採購之疫苗的品質安全。

此行藉由赴英國倫敦參與研討會之便順道參訪 NIBSC。透過 Dr. Clare Morris 協助聯繫，除參訪標準品製備部門外，亦與部分業務相關實驗室專家會面進行技術交流討論，並有機會與 NIBSC 所長 Dr. Stephen Inglis 與副所長 (同時也是病毒部門主管) Dr. Philip minor 簡短寒暄。以下分

就相關實驗室摘要概述之(部分詳細內容因涉及需保密資訊,討論細節將不對外公開)。



攝於 NIBSC 主建築物入口處

1. 標準品製備部門

由標準品製備部門主管 Dr. Paul Jefferson 介紹該部門作業活動。Dr. Paul Jefferson 表示 NIBSC 約有 300 多人,但該部門只有 8 人,因為整個設施包含無菌充填設備、冷凍乾燥設備、嚴格控管溫度之儲存設備等均高度自動化,且屬製藥廠等級。他們自各部門接收標準品原液後須先隔離暫存,經過品管測試(一般而言是指微生物污染品管測試)通過後方能進一步進行分裝充填,充填使用之分裝容器需先以機器洗滌乾淨後滅菌,針對感染性之標準品原液會在 Isolator 中進行分裝充填,完成後整個 Isolator 會進行薰蒸消毒,冷凍乾燥過程的條件也必須依不同產品進行測試與確效,分裝充填完成後也會取樣進行品管測試,包含乾重、殘餘水分、氧含量及微生物實驗,生物活性部分則由各部門科學家執行。他們平均每年製備約 20 萬標準品(每批大約 1 萬 5 千瓶),製備過程可以說儘可能符合 GMP,儲存過程間亦須定期取樣進行監測,以確認標準品持續穩定可供使用。

2. 流感資源中心 (Influenza Resource Center, IRC)

流感資源中心隸屬於病毒部門 (Division of Virology)，30 餘年來在流感疫苗標準化與品質管制方面扮演重要之關鍵角色，且其科學專業在該領域備受國際推崇。NIBSC 在支援 WHO 建議流感疫苗病毒株、建立適合製造流感疫苗之候選疫苗病毒株(candidate vaccine viruses, CVVs)、以及建立流感疫苗標準化之試劑等方面均扮演核心要角。事實上，目前流感疫苗效價試驗用之 SRD 方法就是 NIBSC 於 1970 年間研發建立的，之後由 WHO 建議流感疫苗逐批放行時使用，並沿用至今成為不活化流感疫苗效價試驗方法之標準方法 (gold standard method)。每年季節流感疫苗之效價試驗用標準品固定由英國 NIBSC，美國 FDA/CBER (Food and Drug Administration/Center for Biologics Evaluation and Research)，日本 NIID (National Institute of Infectious Diseases)，及澳洲 TGA (Therapeutic Goods Administration) 等 4 個 WHO Essential Regulatory Laboratories (ERLs) 共同標定建立的，此與 WHO 病毒核酸標準品及抗生素標準品之共同標定研究模式略微不同。除了季節流感相關候選疫苗病毒株與試劑外，他們也協助建立 H5N1, H7N9 等具威脅性之流感病毒相關候選疫苗病毒株與標準試劑，惟其 H7N9 效價試驗用標準抗原雖已對外供應，但因共同標定研究尚未完成，故尚未提供標準抗原之標定值。NIBSC 除負責流感相關候選疫苗病毒株與標準試劑之製備與建立工作外，並負責流感疫苗逐批放行工作與相關檢驗研究工作。Dr. Othmar Engelhard 並在其生物安全第三等級實驗室外說明他們候選疫苗病毒株之培養製備工作是在設施完善之生物安全第三等級實驗室中進行。另 Dr. Othmar Engelhard 並同意本單位派員赴該實驗室研習，惟因該實驗室經常忙於流感疫苗逐批檢驗與相關候選疫苗病毒株及標準試劑之製備建立工作，故研習時間尚需進一步討論確認。

3. 舉辦腸病毒 71 型抗血清國際標準品共同標定研究之實驗室

本單位於本年度接獲 NIBSC 之 Dr. Gill Cooper 邀請，參與 WHO 腸病毒 71 型抗血清國際標準品共同標定研究，本實驗室已於期限內完成實驗並回覆結果，此次藉參訪 NIBSC 之便，順道會晤負責前揭國際共同標定研究之主要負責人，共同討論該共同標定研究結果。Dr. Gill Cooper 首先表達感謝本單位參與該共同標定研究之意，雙方並討論實驗數據之計算方式。她並說明該共標研究總計有來自 6 國 17 個實驗室回覆結果，雖然以細胞培養模式測定中和抗體的分析方法變異性較大，但經過 NIBSC 統計分析部門之統計分析結果顯示各實驗室間之標定結果並無顯著差異，因此建議候選標準品 14/140 可成為 WHO 腸病毒 71 型抗血清第一代標準品，標定值為 1,000 IU/ampoule，另候選標準品 14/138 可成為 WHO 腸病毒 71 型抗血清第二級或第二代標準品，標定值為 1,090 IU/ampoule。他們會等標準品之安定性評估研究完成後，將報告提交給 WHO 生物學標準化專家委員會 (ECBS)，供其決定是否建立成為 WHO 國際標準品。同時並獲知該實驗室正著手製備 WHO 腸病毒 71 型抗原標準品，未來亦將會邀請本單位參與該抗原標準品之國際共同標定研究。由於 NIBSC 原先取得之抗原標準品原料為腸病毒 71 型 C4 亞型，在獲知我國研發之腸病毒 71 型疫苗屬於 B4 亞型後，表示如有機會取得足夠量之 B4 亞型標準品原液，未來或許能將抗原標準品規劃製備成為 Panel，包含 B4 及 C4 亞型，筆者回台後已分別與國內有能力提供 B4 亞型標準品原液之兩家製造廠商聯繫，並提供聯絡人資訊給 Dr. Gill Cooper，由雙方進一步評估討論相關細節。此外，Dr. Gill Cooper 實驗室亦負責口服小兒麻痺疫苗、不活化小兒麻痺疫苗及黃熱病疫苗等檢驗研究工作，未來仍將持續洽談進一步合作之可能性。

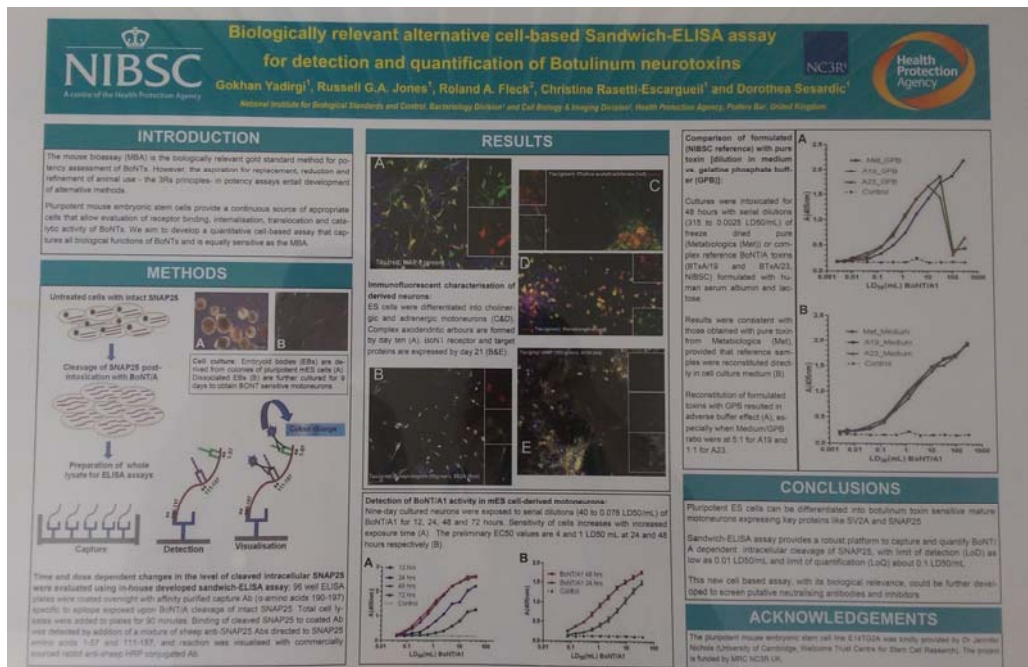
4. 血液相關病毒檢驗研究實驗室

血液相關病毒檢驗研究實驗室隸屬於病毒部門 (Division of

Virology), 負責血液相關病毒 WHO 國際標準品及 NIBSC 工作標準品之製備與建立工作, 並負責血漿混合液(plasma pool) 逐批放行工作, 以及籌辦 SoGAT 會議。此次與 Dr. Clare Morris, Graham Prescott, Jacqueline fryer 共同討論本單位過去參與之 WHO 國際標準品共同標定合作計畫、及 NIBSC 參與本單位過去舉辦之核酸標準品國際共同標定合作計畫。Dr. Clare Morris 等人對於部分國家濫用 WHO 國際標準品表示困擾, 因此相當讚賞我國利用 WHO 國際標準品來標定我國自行製備之標準品的作為。此行並藉機邀請 NIBSC 參與我國 HBV genotype C 核酸標準品之國際共同標定研究, 獲知 NIBSC 亦正準備進行 WHO 第 4 代 HBV 國際標準品之共同標定研究, 他們並建議兩者可合併舉辦國際共同標定研究, 一方面可節省參與共標實驗室之試劑與時間, 另一方面將使我國核酸標準品可直接追溯至最新之 WHO 國際標準品, 雙方後續將研議可行性。

5. 肉毒桿菌毒素製劑檢驗與研究實驗室

肉毒桿菌毒素製劑檢驗與研究實驗室隸屬於細菌部門 (Division of Bacteriology), 由 Dr. Thea Sesardic 說明他們負責肉毒桿菌毒素製劑逐批放行作業以及相關檢驗研究發展情形。雖然肉毒桿菌毒素製劑於歐盟並無強制規定需逐批放行, 但基於部份國家進口該製劑時要求檢附出產國檢定證明, 因此他們配合業者的需求, 執行肉毒桿菌毒素製劑逐批放行工作。NIBSC 經手的肉毒桿菌毒素製劑有 Dysport, Dysport 300 及 Azzalure 等產品, 鑒於一般肉毒桿菌毒素製劑之效價試驗需使用大量動物進行 LD₅₀ 試驗, NIBSC 基於實驗動物 3R 原則 (替代、減量、精緻化), 採用他們自行確效建立之 *in vitro* Endopeptidase Method 進行效價試驗。同時, 他們仍然致力於利用老鼠或人類幹細胞結合免疫分析方法來研究更靈敏更具代表性之 Cell-based 效價試驗方法。



攝於 NIBSC 肉毒桿菌毒素製劑檢驗與研究實驗室外壁報論文

四、心得及建議

- (1) 英國 NIBSC 與德國 PEI 此次報告之 WHO 生物性國際標準品共同標定研究有：WHO 第 5 代 C 型肝炎病毒國際標準品及伊波拉病毒國際標準品等，以及德國 PEI 建立的 WHO 第一代 HCV 核心抗原 (core Ag) 國際標準品等，我國仍需持續注意相關發展，以了解 WHO 生物性標準品製備重點，供本署規劃參考。
- (2) 由英國 NIBSC 報告 WHO 第 5 支 HCV 國際標準品之共同標定研究初步結果及交談內容，獲知本單位參與標定結果均落於主要分布族群，相當良好。參與該項國際性研討會除獲取血液病毒安全相關新知及相關 WHO 國際標準品建立情形，並藉此了解所參與之 WHO 國際標準品的標定情形，增加經驗交流，更有助於穩固雙方實質關係。
- (3) 英國 NIBSC 呼籲大家要正確使用國際標準品，未來她們將會多加利用網頁提供相關資訊，以利外界更加了解如何使用國際標準品，減少不當使用國際標準品，以減緩國際標準品之消耗量。
- (4) 過去血液病毒領域之 WHO 國際標準品未曾被報告過有互通性議題，推測可能的原因是這些標準品多源自血漿，而臨床病毒學領域之國際標準品可能由於臨床檢體取得不易而多採體外培養方式增殖，與實際檢體有所差異，亦或是病毒本身造成之因素等均尚待進一步研究，未來臨床病毒學領域之國際標準品可能須考量潛在之互通性議題，於共同標定研究設計時需包含臨床檢體來評估互通性。
- (5) 近年來隨著次世代定序技術 (NGS) 相關儀器的迅速發展，提供標準品之核酸序列等更多資訊，將會是未來的趨勢。此外，目前已經有利用次世

代定序儀為檢測平台之診斷試劑取得 CE-Mark，未來生物資訊學 (bioinformatics) 及 NGS 平台之對照標準品是否會成為標準化之焦點，我國仍需持續注意相關發展。

- (6) 與會多位專家均提及 Digital PCR，認為其定量結果再現性相當良好，同時較不易受抑制物的影響，且可直接計算目標序列的拷貝數，未來或許可以直接以 Digital PCR 進行絕對定量，毋須利用標準品建立標準曲線的方式來進行相對定量，特別適用於缺乏高階參考物質的情況下進行絕對定量，極具發展潛力，我國亦需持續注意相關發展。
- (7) 由標準品製備部門體會到「工欲善其事，必先利其器」，設施設備持續隨著時代與時俱進，展現高度自動化，且人員充分專業分工，方能達事半功倍之效。此外，與歐盟 EDQM 相同，生物性標準品原液多由製造廠捐贈，再由 NIBSC 或 EDQM 進行充填分裝。如此，方能迅速建立多項標準品供業界使用，提升國家生技產業製造水準與國際競爭力。
- (8) 獲知 NIBSC 正著手製備 WHO 腸病毒 71 型抗原標準品，未來亦將會邀請本單位參與該抗原標準品之國際共同標定研究。NIBSC 在獲知我國研發之腸病毒 71 型疫苗屬於 B4 亞型後，表示如有機會取得足夠量之 B4 亞型標準品原液，未來不排除將抗原標準品規劃製備成為 Panel (含 B4 及 C4 亞型)，筆者回台後已分別聯繫國內有能力提供 B4 亞型標準品原液之兩家製造廠商，並提供聯絡人資訊給 NIBSC，由雙方進一步評估討論相關細節。
- (9) 藉機邀請 NIBSC 參與我國 HBV genotype C 核酸標準品之國際共同標定研究，因而獲知 NIBSC 亦正規劃進行 WHO 第 4 代 HBV 國際標準品之共同標定研究，他們並建議兩者可合併舉辦國際共同標定研究，雙方後續將研議可行性。

- (10) 鑒於一般肉毒桿菌毒素製劑之效價試驗需使用大量動物進行 LD₅₀ 試驗，NIBSC 基於實驗動物 3R（替代、減量、精緻化）原則，持續致力於利用細胞培養結合免疫分析方法來研究更靈敏更具代表性之 Cell-based 效價試驗方法，我國亦可規劃進行相關檢驗研究。
- (11) 參與該項國際性研討會議不僅可獲取血液病原檢驗之相關現況與新知，並藉此與各國相關領域專家建立溝通管道，不僅能順利邀請到各國官方實驗室參與本署病毒核酸標準品之國際共同標定研究，進而爭取我國參與 WHO 國際標準品共同標定之機會，對促進國際合作與交流有極大助益。