

口服小兒麻痺疫苗

Poliovirus Vaccine (Oral)

別名：口服脊髓灰白質炎疫苗 Poliomyelitis Vaccine (Oral)

本品為含有沙賓病毒株三型中任一型、或為第一型與第三型混合或三型混合之適當減毒小兒麻痺口服疫苗。製備疫苗所使用之病毒株與細胞株須建立種批系統 (seed lot system) 與細胞庫系統 (cell bank system)。若使用初代猴腎細胞，用於製備增殖細胞之動物須經檢疫，必須健康且未帶任何病原體。本品可含少量酸鹼指示劑。

分裝前檢驗：疫苗使用之病毒株與製造方法應確保成品之免疫原性、安全性及一致性。除非另經核准，用於生產最終疫苗之病毒自主種批 (master seed lot) 繼代培養不得超過 2 代。於分裝前製造過程中之病毒增殖用受質、病毒種批、病毒增殖與收集液 (propagation and harvest)、單價原液 (monovalent bulk) 及最終原液，應適時取樣，至少完成下列各項試驗：

一、病毒增殖用受質

病毒株可以人類二倍體細胞株、連續細胞株或初代猴腎細胞及由初代猴腎細胞連續繼代之細胞進行增殖生產。用於增殖病毒之初代猴腎細胞應符合下列規定。

(1) 動物來源

使用經主管機關核准之動物物種，該動物健康狀況良好且未曾用於其他試驗。用於疫苗生產與做為對照組之猴腎細胞，應取自受監控、封閉圈養環境之猴隻。

(2) 動物飼養環境

此段敘述之所有操作應於非疫苗生產區域進行。

猴隻應飼養在建造良好且充分通風的動物室中，籠間儘可能遠離，應採取適當的預防措施以避免籠間之交叉感染。每籠不得超過 2 隻猴且不得交換籠伴。於使用前，應對猴隻進行隔離檢疫至少 6 週，在同室進行隔離檢疫之猴群中各猴隻須使用獨立食器與清潔器具，並避免與其他猴隻接觸。檢疫期間若同批猴群之任一室或多室猴群死亡率高於 5%（非感染性疾病或意外死亡之猴隻不列入計算），整批猴群應再隔離檢疫至少 6 週。完成隔離檢疫至使用前，猴群仍應維持隔離狀態，當一隔離室內所有猴隻皆已完成使用，該室須經徹底清潔與除污後才可引進新猴群。

使用之猴隻不得具有猴病毒四十型（simian virus, SV40）抗體、猴免疫缺陷病毒（simian immunodeficiency virus, SIV）抗體及泡沫病毒（spumaviruses）抗體。用於檢測 SV40 抗體之血液檢品，其取樣時間應盡可能接近腎臟摘取之時間點。若使用 *Macaca* 屬之猴隻，亦不得含有疱疹 B 病毒（cercopithecoid herpesvirus 1）抗體。由於操作疱疹

B 病毒相當危險，可使用人類疱疹病毒（human herpesvirus）作為無疱疹 B 病毒抗體之指標。用於生產新種批之猴須證明不具有猿猴巨細胞病毒（sCMV）抗體。

摘取腎臟之猴應進行全面性檢查，且應證明未受結核菌與疱疹 B 病毒感染。除非證明不影響產品之安全性，製備病毒種批或疫苗之猴隻病理檢查異常時，不得使用該猴與同隔離室剩餘之猴隻。

(3) 用於疫苗生產之初代猴腎細胞培養

無病變之猴腎臟得用於製備細胞培養。用於生產疫苗之病毒需以無菌操作技術培養，增殖細胞時可添加動物血清，但在接種病毒後之細胞培養液不得有血清殘留。

二、病毒種批

所使用之小兒麻痺病毒株應具備來源資訊與後續操作等紀錄。以原始沙賓病毒株製備主病毒種批，不得超過主管機關核准之繼代數；工作病毒種批則由主病毒種批經 1 次繼代培養製備而得，病毒種批大量製備後應儲存於 -60° 以下。符合下列規定之病毒種批始得用於病毒增殖。

(1) 鑑別—工作病毒種批以小兒麻痺病毒特異性抗體進行試驗，鑑別其型別。

(2) 病毒含量—檢測主病毒種批與工作病毒種批之病毒含量，以監控

產品製程之一致性。

(3) 外來物質—若工作病毒種批是由人類二倍體細胞株或持續性細胞株生產，須符合病毒性疫苗外來物質試驗法（通則 7011）病毒種批之規定。若以初代猴腎細胞培養工作病毒種批，須符合下列病毒增殖與收集液、單價原液及病毒性疫苗外來物質試驗法（通則 7011）病毒種批中成熟小鼠、吮乳期小鼠及豚鼠接種試驗之規定。除此之外，用於疫苗生產且以初代猴腎細胞製備之病毒種批，須以已確效方法確認該種批未含猿猴巨細胞病毒。工作病毒種批另須確認未含可偵測之 SV40 之 DNA 片段。

(4) 神經毒性—以適當方法於基因轉殖小鼠或猴測定病毒之神經毒性，各主種批與工作種批均應符合口服小兒麻痺疫苗神經毒性試驗規定。由新病毒種批製備而得之單價原液，至少前 3 批（連續 3 批）檢品須符合口服小兒麻痺疫苗神經毒性試驗規定。

(5) 表現型或基因型 marker（標誌）試驗—各病毒種批均須符合 MAPREC（mutant analysis by PCR and restriction enzyme cleavage）試驗之規定，須利用已確效的 MAPREC assay 分析各主病毒種批與工作病毒種批並記錄各突變量之百分比。於完成 MAPREC 試驗確效後，依「四、單價原液」一節中敘述，測試各主病毒種批與工作病毒種批於 36~40°之複製特性。

三、病毒增殖與收集液

細胞庫製備與細胞培養必須於無菌條件下進行，操作區域不得同時操作其他種類之細胞或病毒。細胞培養液可添加人以外經確認可使用之動物血清、酸鹼指示劑如酚紅及最低有效濃度之抗生素，但在工作病毒種批增殖時之細胞培養液不得含有動物血清。操作過程中若使用動物血清與胰蛋白酶須證明其不含外來物質。以工作病毒種批接種疫苗生產用細胞當日，應保留部分未感染之細胞（不得低於 5% 或 1000 mL，取其較少者）作為對照組細胞（control cells）。若使用初代猴腎細胞，於對照組細胞上另有規定，參照(4)初代猴腎細胞培養試驗②對照組細胞。工作病毒種批接種後，將細胞培養於 33~35° 間之一合適之固定培養溫度，培養期間溫度變動應維持在 $\pm 0.5^\circ$ 內，並於病毒接種後 4 日內收集病毒懸浮液。對照組細胞之培養條件及時間與生產用細胞相同。

符合下列規定之單一收集液始得用於製備單價原液。

- (1) 病毒含量—檢測病毒收集液中之病毒含量，以監控產品製程之一致性，並決定用於最終原液之病毒稀釋倍數。
- (2) 製程一致性之分子測定—除非另經核准，每批單一收集液皆需執行 MAPREC 試驗，並訂定每批工作病毒種批之允收標準。
- (3) 對照組細胞—對照組細胞應符合鑑別與病毒性疫苗外來物質試驗

法（通則 7011）之規定。若使用初代猴腎細胞，於對照組細胞上另有規定，參照下節。

(4) 初代猴腎細胞培養試驗—若使用初代猴腎細胞培養增殖病毒須符合以下規定。

① 細胞培養接種試驗—於接種工作病毒種批當日，應檢測細胞培養是否有因感染物質所致之變性情形，若發現細胞培養含有外來物質，則該批細胞培養不得使用。取接種工作病毒種批之細胞培養液至少 30 mL，均分為二等分。取其中一等分接種至取自與疫苗生產所使用之猴腎細胞來源動物相同物種、但非同隻動物之猴腎細胞，另一等分接種至取自不同物種之猴腎細胞中，使至少有一物種對 SV40 具感受性，於 35~37° 培養至少 4 週觀察，不得含有 SV40 病毒與其他外來物質。取細胞培養液至少 10 mL，接種至兔腎細胞培養中，於 35~37° 培養至少 2 週觀察，不得含有疱疹 B 病毒與其他病毒。上述個別細胞培養接種試驗，其檢品於維持培養基（nutrient medium）中之稀釋比率不得大於 1：4，每 mL 檢體之細胞生長面積至少為 3 cm²。取細胞培養液至少 10 mL，接種至對麻疹病毒具感受性之人類細胞培養中，於 35~37° 培養至少 2 週觀察，不得含有其他外來物質。若經證明含有疱疹 B 病毒，應停止生產並通報主管機關。

② 對照組細胞—接種工作病毒種批當日，取適當數量細胞懸浮液作

為對照組細胞，以相同條件進行培養至少 2 週並觀察是否產生細胞病理變化，若超過 20% 對照組細胞非因意外而死亡，則該試驗無效。若對照組細胞經證明含有外來物質，則該批病毒收集液不得使用。

③ 附血性病毒 (haemadsorbing viruses) 試驗—於收集同時或接種病毒後 4 日內，取 4% 對照組細胞依病毒性疫苗外來物質試驗法 (通則 7011) 進行附血性病毒試驗，並於對照組細胞培養觀察期結束後以同法對其餘對照組細胞進行試驗。

④ 其他外來物質—於收集同時或接種工作病毒種批後 7 日內，取對照組細胞培養液至少 20 mL，以 2 種猴腎細胞培養，並依前述(4)初代猴腎細胞培養試驗 ①細胞培養接種試驗進行測試，並於對照組細胞培養觀察期結束後，取 20 mL 對照組細胞培養液以 2 種不同猴腎細胞與兔腎細胞重複進行培養測試。若經證明含有疱疹 B 病毒，則該批病毒收集液不得用於生產疫苗。可混合於收集病毒同時與觀察期結束時收取之對照組細胞培養液，取 2% 混合細胞培養液進行前述外來物質試驗。

⑤ 單一收集液—取經特異血清中和後之單一收集液至少 5 mL，接種至取自與疫苗生產所使用之猴腎細胞來源動物相同物種、但非同隻動物之猴腎細胞培養中，於 35~37° 培養 4 週觀察，不得含有 SV40 病毒與其他外來物質。上述細胞培養接種試驗，其檢品於維持培養基中

之稀釋比率不得大於 1:4, 每 mL 檢品之細胞生長面積至少為 3 cm²。

取經特異血清中和後之單一收集液至少 10 mL, 接種至對麻疹病毒具感受性之人類細胞培養中, 不得含有其他外來物質。

四、單價原液

數個同型病毒之單一收集液可混合成單價原液, 以細菌滯留過濾器過濾, 來自連續細胞株培養之單價原液可另經純化。符合下列規定之單價原液始得用於製備最終原液。

- (1) 鑑別—以特異性抗體進行病毒中和之細胞培養試驗。
- (2) 病毒含量—以病毒感染細胞培養試驗檢測單價原液之病毒含量。
- (3) 表現型或基因型 marker 試驗—使用經確效之病毒種批 MAPREC 試驗進行測試。分析沙賓第一型小兒麻痺病毒基因體 480-A 與 525-C、第二型小兒麻痺病毒基因體 481-G 及第三型小兒麻痺病毒基因體 472-C 出現比例, 並與相同型別之國際標準品突變量比較, 因第三型小兒麻痺病毒具有較高的神經毒性, 若單價原液 MAPREC 試驗結果突變率高於 1%, 則該單價原液不得使用。第一型或第二型小兒麻痺病毒單價原液突變率之規範由主管機關另訂之。
- (4) 神經毒性試驗—單價原液需符合神經毒性試驗之規定。
- (5) 初代猴腎細胞培養—若使用初代猴腎細胞培養增殖病毒時, 則需進行下列試驗。

① 反轉錄病毒試驗—以反轉錄酶試驗法檢測之，不得含有反轉錄病毒。

② 家兔接種試驗—取體重約 1.5~2.5 kg 之家兔 10 隻以上，各以 1 mL 檢品分別於各部位施以皮內注射(各部位最大注射體積 0.1 mL)，另 9 mL 施以皮下注射，觀察 21 日以上，觀察期間，不得有任 1 隻家兔呈疱疹 B 病毒或其他外來病毒感染症狀，且存活率應在 80% 以上。注射後 24 小時內死亡或出現病徵之家兔，皆需進行解剖檢查，並取出大腦與其他器官以釐清原因。

③ 豚鼠接種試驗—若進行培養增殖病毒的初代猴腎細胞非由封閉繁殖猴群取得，則單價混和原液需符合豚鼠接種試驗之規定。取體重約 350~450 g 之豚鼠 5 隻以上，各以檢品 0.5 mL 施以腹腔注射及 0.1 mL 施以腦內注射(以 0.05 mL 注射每一大腦半球)，其後觀察並測量肛溫 42 日，結束後，解剖檢查所有豚鼠；另取 5 隻以上豚鼠，各以檢品 0.5 mL 施以腹腔注射，觀察 14~21 日，結束後取血液與肝臟或脾臟組織懸浮液，再注入 5 隻以上豚鼠體內，其後觀察並測量肛溫 14~21 日。結束後，解剖檢查所有豚鼠。觀察期間，豚鼠不得呈現絲狀病毒 (filoviruses) 感染症狀，且存活率應在 80% 以上。

注射後 24 小時後死亡、或因出現病徵而犧牲、或連續 3 日體溫高於 40.1° 之豚鼠，需解剖進行組織學檢查以檢測是否有絲狀病毒感染。

另取 3 隻以上豚鼠，以其血液或肝臟或脾臟組織懸浮液施以腹腔注射，若發現絲狀病毒感染情形，需另以血清學方法確認之。

五、最終原液

最終原液係由單價原液或單價混合原液直接製備而得，可加入適當之矯味劑與安定劑。符合下列規定之最終原液始得用於製備成品。

無菌試驗—取最終原液 10 mL 分別接種至各培養基，依無菌試驗法（通則 7001）測定之，應符合其規定。

性狀：本品為淡黃色或淡粉紅色懸浮液。

鑑別：取本品以特異性抗體鑑別其對應型別之小兒麻痺病毒。

雜質、不純物限量、一般檢查及其他規定：

- (1) 無菌試驗—本品應符合無菌試驗法（通則 7001）之規定。
- (2) 異常毒性試驗—本品應符合血清疫苗異常毒性試驗法（通則 6001）之規定。若其製造方法經確效證實生產之產品符合異常毒性試驗之規定，則本項試驗得予免作。
- (3) 熱安定性試驗—取本品至少 3 瓶，於 36~38°培養 48 小時，依效價測定法測定之。與未經加熱培養之本品相比，其效價差值不得超過 0.5 log₁₀。

效價測定：

取至少 3 個獨立包裝成品，分別進行病毒感染細胞培養試驗；另取適當對照病毒 1 瓶進行 3 重複試驗以做確效。若疫苗含有多於一種小兒麻痺病毒型別，需以具型別特異性之抗血清或單株抗體中和疫苗中其他型別病毒，分別計算疫苗成品與對照病毒之各型別病毒含量。

若對照病毒 3 重複試驗之 95% 信賴區間 ($P=0.95$) 超過 $\pm 0.3 \log_{10}$ CCID₅₀，或對照病毒含量與其既定值 (established value) 之差超過 $0.5 \log_{10}$ CCID₅₀，則該試驗無效。若檢品病毒含量之 95% 信賴區間 ($P=0.95$) 超過 $\pm 0.3 \log_{10}$ CCID₅₀，則應重新進行試驗。僅取有效試驗結果計算檢品效價。

三價小兒麻痺疫苗每人體劑量所含之第一型小兒麻痺病毒不得低於 $6.0 \log_{10}$ CCID₅₀、第二型小兒麻痺病毒不得低於 $5.0 \log_{10}$ CCID₅₀ 及第三型小兒麻痺病毒不得低於 $5.5 \log_{10}$ CCID₅₀。單價或雙價小兒麻痺疫苗所含最低病毒效價，由主管機關另訂之。

包裝與儲存：本品應置於無菌玻璃容器內密封，其有效期限依產品安定性試驗結果計算。

標誌：本品之包裝標籤上除依藥事法之規定外，應載明疫苗製造所使用之細胞或細胞株、病毒株、單一人體劑量中各型別病毒之最低含量

及貯藏方法等，並附以載明用法及注意事項之說明書。

用途分類：主動免疫劑。

疫苗