計畫編號：DOH99-DC-2042

行政院衛生署疾病管制局九十九年度科技研究發展計畫

H5N1 流感疫苗接種後抗體檢測後續追蹤研究

Seroconversion after influenza A/H5N1 vaccination

研 究 報 告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局

計畫主持人：黃頌恩

研究人員：劉銘燦、鄒宗珮、劉敏芝

執行期間： 99 年 10 月 01 日至 100 年 6 月 30 日

＊本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見＊

目錄

一、 中文摘要 ……5

二、 英文摘要 ……7

三、 前言 ……9

四、 材料與方法 ……11

五、 研究結果 ……13

六、 討論 ……14

七、 結論與建議 ……16

八、 計畫重要研究成果及具體建議 ……17

九、 參考文獻 ……18

十、 圖表……20

中文摘要

研究目的：臺灣目前雖然尚未有禽類或人類 H5N1 禽流感的病例產生，然而，鄰近國家都曾報導過禽類或人類感染 H5N1 禽流感的病例。爲能有效運用本局儲備之 H5N1 疫苗並建立 H5N1 流感疫苗接種之平台，本局特別開放讓有意願施打疫苗之 H5N1 禽流感高暴露風險特定對象以降低其受 H5N1 流感病毒感染之風險。本計畫目的爲瞭解此疫苗在國人接種後可產生之免疫反應，包括血清保護力及血清轉換率；同時記錄接種後產生副作用之比例。

研究方法：本次研究於 2010 年 10 月在台灣中部某醫院招募受試者年齡於 20-59 歲之自願受試者，間隔三週給予施打二劑 Baxter 之 clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）人用流感 A/H5N1 疫苗。自願受試者於施打第一劑疫苗前及施打第二劑疫苗後三週分別抽血，採血凝抑制試驗進行抗體檢測。受試者血清測試之效價≥1：40 時，認定對該病毒株有血清保護力（seroprotection）。第二次測試效價較第一次高於≥4 倍時，認定有血清轉換（seroconversion）。並利用問卷收集接種後不良反應相關資訊。

結果：本研究於 2010 年 10 月共招募 64 名自願受試者，只有 24 名完成二劑疫苗注射及血清採檢。完成研究的受試者中，有 8 位（33％）爲男性；平均年齡爲

41.5 歲。5 名（21％）受試者於施打第一劑疫苗前已可測得≥1：40 之抗體效價，顯示已具有血清保護力。施打完二劑疫苗後，有 7 名（29％）受試者具有血清保護力，但只有三位（13％）受試者有血清轉換。主要不良反應爲局部疼痛。

結論與建議：接種完無佐劑之Baxter clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）人用流感A/H5N1疫苗後，受試者無重大不良反應，但疫苗施打二劑後血清保護率及血清轉換率偏低。一旦不幸發生H5N1人類禽流感大流行時，應保守使用本疫苗。

關鍵字：H5N1 禽流感，流感疫苗，血清保護力，血清轉換率

英文摘要

Objectives: Even though Taiwan has yet to report H5N1 avian influenza among poultry or human, Taiwan's neighboring countries have all been affected by avian influenza. To make use of the stockpiled H5N1 avian influenza vaccine and to establish a platform for vaccination, Taiwan Centers for Disease Control released stockpiled vaccine to be used among persons at high risk of becoming infected with H5N1 avian influenza. The objectives of this study are to assess vaccine induced immunity and vaccine safety.

Methods: During October 2010, volunteers aged 20-59 years were recruited from a hospital in central Taiwan. Volunteers were given two doses of the Baxter clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）human influenza vaccine three weeks apart. Sera were taken prior to vaccination and at three weeks after the second dose of the vaccine were administered. Antigenic characterization of the influenza virus was determined using the hemagglutination inhibition (HI) assays. A titer of ≥1:40 was considered positive for having antigenic response. Seroconversion was defined as demonstration of virus neutralization titer increase by a factor of at least 4.

Results: Of the 64 persons recruited, 24 persons completed the study. Of these, 8 (33%) were male; mean age was 41.5 years. Of these, 5 (21%) had antigenic response after two doses of the vaccine was administered; 3 (13%) had seroconversion. Other than 4 people who reported pain at injection site lasting less than 2 days, no major

adverse events were reported.

Conclusion: Vaccine induced seroprotection and seroconversion rates were low. In the event of an H5N1 avian influenza pandemic among humans, this vaccine should be used with caution.

Keywords: avian influenza H5N1, influenza vaccine, seroprotection, seroconversion

前言

自香港於 1997 年爆發 H5N1 禽類禽流感傳染到人類造成死亡後[1]，H5N1 禽流感在東南亞，中亞，非洲陸續造成人類的疫情[2]。在 2006 年，有專家曾呼籲應重視 H5N1 禽流感的嚴重性，因爲它不僅造成禽類的大量死亡，人類感染禽流感之死亡率更高達 70％[3]。因此專家們一致認爲 H5N1 禽流感可能造成全球大流行，進而影響到醫療照護系統及社會經濟 [4]。雖然全球已於 2009 年經過新型流感 A/H1N1 的肆虐 [5-6]，未來 H5N1 大流行可能產生的嚴重影響仍不可忽視。

台灣目前雖然尚未有禽類或人類 H5N1 禽流感的病例產生，然而，鄰近國家，包括中國、韓國、日本、菲律賓、香港、越南等國，都曾報導過禽類或人類感染 H5N1 禽流感的病例[7-8]。這些國家也是台灣在商務或旅遊時常出入的地方。

爲能有效運用本局儲備之 H5N1 疫苗並建立 H5N1 流感疫苗接種之平台，本局特別開放讓有意願施打疫苗之 H5N1 禽流感高暴露風險特定對象，如：醫療相關人員、防檢疫相關人員、及前往高風險地區的民眾有機會接種疫苗，以降低其受 H5N1 流感病毒感染之風險。本次使用之 H5N1 禽流感疫苗，雖已通過世界衛生組織及歐盟的認可，擁有國外臨床試驗資料，但尚缺乏國人注射後之相關研究。本計畫目的爲瞭解此疫苗在國人接種後可產生之免疫反應，包括血清保護力

及血清轉換率；同時記錄接種後產生副作用之比例。研究結果除可提供臨床醫師參考之用，另可供日後制訂禽流感防疫政策之參考。

材料與方法

一、 收案標準

本次研究於 2010 年 10 月在台灣中部某醫院招募自願受試者。受試者年齡應於 20-59 間，且符合疫苗接種資格。已知有疫苗接種禁忌症者，不得加入本計畫或接受疫苗施打。由協同主持人或計畫主持人親自向受試者解釋研究內容，並取得書面同意後加入研究。

二、 施打疫苗

本次接種之疫苗為本局於 2009 年 8 月購置 Baxter 之 clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）人用流感 A/H5N1 疫苗，含有世界衛生組織最近公佈可用於流感大流行之 H5N1 疫苗株有效抗原成分。Baxter 之人用流感 A/H5N1 疫苗係屬一不活化全病毒粒子 Vero 細胞衍生之流行性感冒疫苗，乃運用原生病毒（"native" virus）進行細胞培養後製成單價，不含佐劑，每 0.5 毫升疫苗中含有 7.5 微克凝血素，病毒株 A/ Indonesia /05/2005(H5N1)。本疫苗已取得歐盟藥品管理局之上市許可，但在國內尚未取得藥政核可[9]。依照國外建議之疫苗接種時程，本計畫為受試者施打方式為間隔三週打兩劑。

三、血清收集及檢驗

自願受試者於施打第一劑疫苗前先行抽血，以進行血清抗體基準值檢驗。施打第二劑疫苗後三週，進行第二次抽血。血清採集後，急送本局研究檢驗中心，進行抗體檢測。本研究抗體檢測，採用血凝抑制試驗（hemagglutination inhibition test），受試者血清測試之效價≥1：40 時，認定對該病毒株有血清保護力

（seroprotection）。第二次測試效價較第一次高於≥4 倍時，認定有血清轉換（seroconversion）。

四、接種疫苗後不良反應調查

本研究利用問卷收集接種後不良反應資訊。於接種後發放個案副作用問卷，個案需記錄接種後七日內之不良反應，同時填寫流感疫苗接種史及過去病史等相關資料。

五、資料分析

問卷及血清抗體資料均使用 Microsoft Excel 輸入及分析。

六、人體暨臨床試驗倫理

本計畫經行政院衛生署疾病管制局人體暨臨床試驗倫理委員會審核通過，審查編號：990020。

研究結果

本研究於 2010 年 10 月招募 61 名自願受試者，其中 17 位（28％）爲男性。平均年齡爲 39.9 歲（中位數：38，範圍：23-59）。64 名自願受試者中，只有 24 名完成二劑疫苗注射及血清採檢。完成研究的受試者中，有 8 位（33％）爲男性；平均年齡爲 41.5 歲（中位數：38，範圍：25-59）。所有受試者和完成研究之 24 名受試者相比，性別、年齡均無顯著差異。

接種後副作用調查：64 名施打第一劑疫苗之受試者中，共 25 名交回問卷，23 位（92％）曾於 2009 年接種流感疫苗。過去病史方面，僅一位曾因肺部氣管疾病住院，其餘受試者均無心臟病、糖尿病、腦中風、慢性肺部疾病、結核病、或塵肺症等疾病。局部不良反應方面，有 4 位（16％）受試者報告於施打第一劑疫苗後有局部的疼痛，症狀均於 2 日內消除。在全身性的反應方面，僅一位受試者報告疫苗施打後有倦怠的情形，於 2 日內消除。除以上通報之反應外，受試者無通報其他不良反應。

24 名完成二劑疫苗施打之個案中，15 名受試者繳交問卷。其中 4 位（27％）受試者報告施打後有局部的疼痛，症狀均於 2 日內消除。所有受試者均無全身性不良反應。

血清保護力及血清轉換率：基準的血清保護力效價測試顯示，5 名（21％）受試者於施打第一劑疫苗前已可測得≥1：40 之抗體效價，顯示已具有血清保護力。施打完二劑疫苗後，有 7 名（29％）受試者具有血清保護力，但只有三位（13％）受試者有血清轉換（表一）。

討論

研究發現，接種完無佐劑之 Baxter clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）人用流感 A/H5N1 疫苗後，血清保護率爲 29％，血清轉換率爲 13％，這結果與國外臨床試驗結果相差甚大。國外臨床試驗，同樣使用血凝抑制試驗顯示血清保護率及血清轉換率均達 47.6％，若使用單幅射擴散法（single radial hemoalysis [SRH]）方式測試，其血清保護率及血清轉換率可高達 78.6％及 73.8％；而且無佐劑之劑型較含佐劑之劑型更能誘導免疫力[10]。本研究有回收問卷的受試者中，92％均於前一年曾施打流感疫苗。猜測自願施打 H5N1 禽流感疫苗的族群，或許對流感疫苗較有信心，較常施打流感疫苗。根據流感疫苗研究文獻報告指出，之前若曾接種流感疫苗，之後接種疫苗時，抗體反應較低[11]。雖然本研究使用的血凝抑制試驗文獻報告是敏感度較低的方式[12]，然而，國外研究使用同樣方式的結果仍高於本研究之結果。

然而，有其他文獻指出每年重複施打流感疫苗，並不會降低抗體反應。這個問題目前尚未有定論，因此，雖然本研究發現之抗體保護率及抗體轉換率均低，與受試者曾接種過流感疫苗未必相關。

此外，基準的血清保護力效價測試顯示， 21％之受試者於施打第一劑疫苗前已具有血清保護力，也出乎意料。H5N1 禽類禽流感在臺灣尚未監測出，但 2004

年臺灣曾發生 H5N2 禽類禽流感[13]。臺灣的生活型態（如市場裡有活禽），較歐美國家的人民容易有禽類接觸。因此，是否因生活型態的不同，及曾發生其他非 H5N1 之 H5 禽流感而發現較高的基準血清保護力，需再做進一步的研究。

在疫苗不良反應方面，本研究發現少數受試者於施打後曾發生局部性疼痛，且在二日內均消除。這與疫苗仿單的描述相符。由於受試者人數少，本研究並無發現任何罕見之不良反應。

另外，完成本研究之受試者人數只有 24 名，所得結果的解釋應特別保守。

結論與建議

研究發現，接種完無佐劑之Baxter clade2（A/H5N1/Indonesia/5/2005）人用流感A/H5N1疫苗後，依據受試者通報之不良反應，大多爲局部疼痛，無重大不良反應。然而，雖然受試者依建議施打二劑流感疫苗，施打後卻顯示血清保護力及血清轉換率偏低。一旦不幸發生H5N1人類禽流感大流行時，建議應保守使用本疫苗。此外，若重複施打流感疫苗，證實會降低日後疫苗施打之抗體產生，應審慎評估對高風險族群接種疫苗之政策。

計畫重要研究成果及具體建議

本研究評估原認爲已有足夠臨床試驗證明有效的疫苗，然而，疫苗施打於少數自願受試者後，發現血清保護力及血清轉換率偏低。建議推行國外臨床實驗有效之疫苗前，應先評估是否有需要先於國人進行臨床測試。

參考文獻

1. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. Lancet 1998;351:467-471
2. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. Available at: http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2010_08_12/en/index.htmlv. Accessed August 31, 2010
3. Hien TT, de Jong M, Farrar J. Avian Influenza — A Challenge to Global Health Care Structures. N Engl J Med 2004; 351:2363-2365
4. Webster RG, Govorkova EA. H5N1 influenza--continuing evolution and spread. N Engl J Med ;355(21):2174-7
5. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team, *Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus in Humans.* N Engl J Med 2009; 360: 2605-2615
6. ShindeV, Bridges CB, Uyeki TM, et al. *Triple-Reassortant Swine Influenza A (H1) in Humans in the United States, 2005–2009.* N Engl J 2009;360:2616-2625
7. WHO. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. Available at:

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2010_08_31/en/index.html. Accessed September 7, 2010

8. OIE. Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7). Available at: http://www.oie.int/downld/avian%20influenza/A2004_AI.php. Accessed September 7, 2010.
9. EMEA (European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use). Assessment report for pandemic influenza vaccine H5N1 Baxter. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/001200/WC500049619.pdf. Accessed September 7, 2010.
10. Sasaki S, He X-S, Holmes TH, et al. (2008) Influence of Prior Influenza Vaccination on Antibody and B-Cell Responses. PLoS ONE 3(8): e2975. doi:10.1371/journal.pone.0002975
11. Ehrlich HJ, Muller M, Oh HML, et al. A clinical trial of a whole-virus H5N1 vaccine derived from cell culture. N Engl J 2008;358:2573-84
12. Rowe T, Abernathy RA, Hu-Primmer J, et al. Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. J Clin Microbiol 1999;37:937-43
13. International Society of Infectious Diseases. Avian influenza, A/H5N2 - Taiwan: suspected (02). ProMED-Mail Archive Number: 20040118.0202. Available at: http://beta.promedmail.org/direct.php?id=20040118.0202. Accessed Jun 27, 2011

圖表

表一、受試者血凝抑制試驗結果

效價	基準值 (n=24)	%	注射後 （n=24）	%
<10	2	8	3	13
10	10	42	9	38
20	7	29	5	21
40	5	21	6	25
80	--	--	1	4