

가이드라인 등록번호



# 디프테리아, 파상풍 및 정제백일해 기반 혼합백신 평가 가이드라인 (민원인 안내서)

2020. 11.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

디프테리아, 파상풍, 정제백일해 기반 혼합백신 평가 가이드라인  
(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.  <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div>2020 년    11 월    30 일</div> <div>담당자</div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div>확 인(부서장)</div> <div>김 재 옥</div> </div>		

이 안내서는 ‘디프테리아, 파상풍 및 정제백일해 기반 혼합백신’의 품질, 안전성 및 유효성 심사시 고려사항을 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전평가원의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식(‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2020년 11월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등 (이하 “행정규칙”이라 한다)을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것 (식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

본 가이드라인에 대해 궁금하신 사항이나 의견이 있을 경우 식품의약품안전평가원 생물제제과로 문의하시기 바랍니다.

- 전화 : 043-719-3452, 3478
- 팩스 : 043-719-3450

## 제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1			
2			
3			

## <목 차>

1. 서론 .....	1
2. 적용 범위 .....	2
3. 용어 및 약어정의 .....	2
4. 일반 사항 .....	7
5. 표준품 .....	9
6. 제조관련 권고사항 .....	12
6.1 명칭 .....	12
6.2 제조관련 공통권고 사항 .....	12
6.3 생산관리 .....	12
6.3.1 기원 물질 관리 .....	12
6.3.2 제조공정 관리 .....	13
6.3.3 원액의 관리 .....	18
6.4 충전 및 용기 .....	26
6.5 완제의약품의 관리 .....	26
6.5.1 확인시험 .....	26
6.5.2 무균시험 .....	26
6.5.3 역가시험 .....	27
6.5.4 엔도톡신 시험 .....	29
6.5.5 무독화 시험 .....	29
6.5.6 면역증강제 함량시험 .....	29
6.5.7 보존제 함량시험 .....	29
6.5.8 잔류 무독화제 함량시험 .....	30
6.5.9 pH 측정시험 .....	30
6.5.10 실용량 시험 .....	30
6.5.11 최종용기 검사 .....	30
6.6 기록 .....	31
6.7 라벨링 .....	31
6.8 검체 .....	31
6.9 유통 및 운송 .....	31
6.10 안정성, 보관, 유효기간 .....	31

6.10.1 안정성 .....	32
6.10.2 보관 조건 .....	33
6.10.3 유효일자 .....	33
<b>7. 혼합백신의 비임상 평가 .....</b>	<b>34</b>
7.1 서론 .....	34
7.2 독성시험 .....	34
7.3. 면역원성/역가 .....	35
<b>8. 혼합백신의 임상 평가 .....</b>	<b>37</b>
8.1 서론 및 범위 .....	37
8.2 시나리오와 임상시험 설계 .....	39
8.2.1 임상개발 계획 시 고려사항 .....	39
8.2.2 새로운 혼합백신에서 나타날 가능성이 있는 시나리오 개요 .....	40
8.2.3 일정과 투여군 .....	42
8.2.4 병용투여 백신 .....	43
8.2.5 특수한 환자를 대상으로 한 연구 .....	44
<b>8.3 면역반응 평가 .....</b>	<b>44</b>
8.3.1 면역원성 연구의 설계와 범위 .....	44
8.3.2 항체반응 평가 분석 .....	44
8.3.3 접종시험에 대한 면역원성 평가변수 .....	48
8.3.4 1차 분석 .....	49
8.3.5 2차 분석 .....	52
8.3.6 기능적 항체반응의 평가 .....	52
8.3.7 역 누적분포 곡선에서 나온 추가 정보 .....	52
8.3.8 운반체 단백질에 대한 면역반응 .....	53
8.3.9 면역기억 .....	53
8.3.10 항체지속과 추가접종 시기 .....	53
<b>8.4 안전성 평가 .....</b>	<b>54</b>
<b>8.5 시판 후 연구 및 감시 .....</b>	<b>56</b>
<b>9. 참고문헌 .....</b>	<b>57</b>

## 1. 서론

혼합백신은 2개 이상의 항원으로 구성되는 백신으로 하나 이상의 감염증을 예방하거나 동일 미생물의 서로 다른 형태 또는 혈청형에 의해 유발되는 감염증을 예방하기 위한 것이다. 디프테리아(D) 및 파상풍(T) 독소이드와 다른 몇몇 항원들의 동시 투약을 허용하는 혼합백신은 20세기 중반 이후부터 사용되었다. 초기의 일부 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에는 개량불활화 폴리오백신(IPV) 및/또는 전세포 백일해 백신(DTwP)이 포함되어 있다. 이후에는 DTwP의 대체방법으로 다양한 정제백일해 항원(DTaP)이 개발되었다.

백일해의 경우, 1950년대 후반부터 백일해의 병인성 기전과 발현 항원에 관한 연구가 점진적으로 진행되었고 pertussis toxin (PT), filamentous hemagglutinin (FHA), pertactin (PRN; 69 kDa 단백질), fimbriae (FIM)등과 같은 구성 성분이 방어항원으로서 밝혀지면서 이들을 분리, 정제한 백일해 백신 개발이 촉진되었다. 최초의 정제 백일해 백신은 1980년대에 일본에서 개발되어 사용되었다. 이 백신 제품을 예방 접종에 사용한 결과, 백일해가 효과적으로 통제되었음이 역학 조사에서 밝혀졌다.

디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP) 포함 혼합백신은 일반적으로 세균과 바이러스에서 유래된 항원을 포함하고 있다. 현재 일부 국가에서 승인된 혼합백신은 모두 흡착 디프테리아, 파상풍 및 정제 백일해 혼합백신(DTaP), 개량 불활화 폴리오백신(IPV), B형간염표면항원(HBsAg) 및 헤모필루스 인플루엔자 비형 접합백신(Hib conj.)으로 구성되어 있지만, 향후에는 한층 광범위한 혼합백신이 개발될 가능성이 상당히 높다

국내에서는 1954년 디프테리아, 파상풍 및 백일해가 정기 예방접종 대상질환으로 지정되어 1958년 전세포 백일해백신의 접종이 시작되었고, 1984년 정제 백일해 백신이 허가 후 대체 사용되어 왔다.

디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP) 포함 혼합백신에 대한 수요 증가로 인해, 새로운 제조업체가 이 분야에 진출하고 있다. 혼합백신의 수가 늘어나고 사용이 증가하며, 새로운 백신이 개발되고 품질관리 방법의 표준화가 추진됨에 따라, 이에 대한 가이드라인 문서를 제정하게 되었다.

## 2. 적용 범위

이 가이드라인은 디프테리아(D), 파상풍(T), 정제백일해(aP) 혼합백신의 품질 및 안전성·유효성 평가에 관한 지침을 제공하기 위한 것이다. 정제 백일해란 백일해균에 의해 생산된 항원을 말한다.

## 3. 용어 및 약어정의

아래의 용어 정의를 이 가이드라인 한하여 적용한다.

**개별 정제 항원(Individually purified antigen):** 백일해 항원 각각을 의미하며, 여러 가지 물리화학적 분리 방법을 조합하여 개별적으로 분리하고 정제한다.

**기능적 항체(functional antibody) :** 항원을 결속시키는 항체로, 실험실 시험으로 입증될 수 있는 생물학적 효능(예, 독소 중화, 바이러스 불활화, 옵소닌(opsonin) 또는 살균 활동, 전세포 응집)이 있다.

**기초접종(primary vaccination) :** 임상적 방어효과를 유도하기 위하여, 6개월 미만의 간격으로 미리 정한 기간 동안 처음으로 백신을 접종하거나 일련의 백신 접종을 수행하는 것을 말한다.

**단일 수득물(single harvest):** 제조용 균주(또는 제조용 균주에서 유래한 접종물)를 접종하고 회수(수득) 및 공정처리 한 것으로 하나의 배양배지에서 얻은 배양 여과물, 세균 현탁액, 독소여과액 또는 독소이드를 말한다.

**대조 백신(Comparator vaccine):** 유효성이 확립된 기허가 백신이나 유효성이 확립된 백신과 추적성이 확보된 백신으로 실험 백신과 병행하여 시험하고 비임상 또는 임상 시험에서 활성 대조로 사용된다.

**동시 정제 항원(Co-purified antigen):** 여러 가지 물리화학적 분리 방법(예, 황산암모늄 침전, 밀도 구배 원심분리)을 조합하여 분리하고 정제한 2개 이상의 항원.

**로트(lot) :** 하나의 최종원액으로부터 제조기간 내에 일련의 제조공정에 의해 균질성을 갖도록 제조된 제품군을 말한다.



**마스터 시드 로트(Master seed lot, MSL):** 단일 균주에서 유래하며 하나의 로트로 제조하여 균일한 조성을 갖는 세균 현탁액. 제조용 시드 로트 제조에 사용된다.

**면역원성(immunogenicity) :**항체 매개 및/또는 세포 매개 면역 및/또는 면역학적 기억을 유도할 수 있는 백신의 능력을 말한다.

**무독화시험(특이독성)(specific toxicity) :**의약품의 제조과정 중에 존재한 특성의 독성 성분이 규정에 표시된 정도 이하로 독성이 소실되어 있는지 판정하는 시험이다.

**반응원성(reactogenicity) :**백신접종과 인과관계에 있다고 생각되는 국소 또는 전신반응이다.

**백신 유효성(vaccine efficacy) :** 백신 미접종 경우와 비교하여, 백신접종 이후 임상적 질병에 걸릴 가능성 또는 확률의 감소. 직접적 방어(즉, 백신접종에 따라 유도된 방어)를 기준으로 백신 유효성을 평가한다.

**백신 효과(vaccine effectiveness) :**지정 집단에서 백신접종에 따른 방어 비율. 백신 효과는 직접적인 방어와 간접적 방어(즉, 백신접종 집단에 의한 미접종자의 방어) 모두를 포함한다. 또한 백신접종 범위, 백신 균주와 병원 균주와의 상관관계, 그 집단의 백신 도입 이후 백신에 포함되지 않은 균주에 의한 질병 발생률에 의해 백신 효과를 결정한다.

**비열등성 마진 또는 기준(non-inferiority margin or limit) :**적절한 신뢰구간에 기초하여 미리 정한 기준. 이 기준을 충족하면 면역반응에서 미리 정한 차이는 임상적으로 의미가 있는 것으로 간주되지 않을 수 있다.

**비열등성시험(non-inferiority trial) :** 연구 대상 제품에 대한 반응이 대조백신(활성 또는 위약)보다 임상적으로 열등하지 않음을 보여주는데 일차적인 목표를 두고 실시하는 임상시험을 말한다.

**시드 로트(seed lot) :**단일 배양에서 얻은 특정 세균, 바이러스 등의 균일한 부유액을 소분하고 그 유전적 성질을 충분히 안정하게 하는 조건으로 보존된 것을 말한다.

**안정성(stability) :**의약품의 성상, 성분 등이 일정 기간 동안 규정에 표시된 정도 이상으로는 변화하지 않는다는 것을 의미함.

**약물이상반응(adverse drug reaction, ADR):**의약품 등을 정상적으로 투여·사용한 이후

발생한 유해하고 의도하지 않은 반응으로서 해당 의약품 등과의 인과관계를 배제할 수 없는 경우를 말하며, 자발적으로 보고된 유해사례 중에서 의약품 등과의 인과관계가 알려지지 않은 경우에는 약물유해반응으로 간주한다.

**완제의약품(Final lot or final product):** 밀봉 상태인 최종 용기 집단. 충전 시의 오염 리스크가 균질한 상태이다. 그러므로 최종 로트를 한 번의 연속적인 작업으로 단일 용기에서 충전해 만들어야 한다.

**이상사례(adverse event/adverse experience, AE) :** 의약품 등의 투여·사용 중 발생한 바람직하지 않고 의도되지 않은 징후(sign, 예. 검사실 결과지의 이상 표기), 증상(symptom) 또는 질병을 말하며, 당해 의약품 등과 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아니다.

**이차변수(secondary endpoints) :** 일차변수 외에 임상시험의 결과를 평가하는데 가장 적당할 것으로 생각되는 지정 변수.

**일차변수(primary endpoints) :** 임상시험의 결과를 평가하는데 가장 적당할 것으로 여겨지는 미리 정한 변수(예. 안전성, 유효성 또는 면역원성)를 말한다.

**정제 특소이드원액(bulk purified toxoid) :** 단일 수득물이나 다수의 단일 수득물의 풀(pool)로부터 조제한 가공 정제물질. 정제 특소이드 원액을 면역 보조제에 흡착시키거나 면역 보조제와 혼합하기도 하며, 보존제를 추가하기도 한다. 최종원액이 만들어지는 모 물질이다.

**제조용 시드 로트(working seed lot) :** 마스터 시드 로트에서 유래된 단일 균주로 구성되는 세균배양. 제조용 시드 로트는 마스터 시드 로트에 대해 기술한 것처럼 분액하여 보관한다. 제조용 시드 로트는 가능한 한 적은 배양계대수로 마스터 시드 로트를 통해 준비하며, 마스터 시드 로트와 동일한 특성을 갖춰야 하며, 배지에 접종하여 단일 수득물을 확보할 용도로 사용된다.

**최종 원액(final bulk) :** 한 용기 내에서 조제되어 바로 분주할 수 있는 상태로서 그 내용의 어느 부분을 취하여도 성상 및 품질에 있어서 균일하다고 인정되는 것을 말한다.

**추가접종(booster vaccination) :** 면역반응을 강화시키고 장기 방어효과를 유도하기 위하여 기초 접종 이후 특정 시기(최소 6개월)에 다시 접종하는 것을 말한다.

**혈청전환(seroconversion) :** 백신의 면역원성에 관한 정보를 제공하며, 혈청 음성에서

혈청 양성으로 전환되는 것과 관계가 있다고 간주되는, 미리 정해 놓은 항체농도 증가. 이미 항체가 존재한다면, 혈청전환은 지정 저농도에서 의미 있는 높은 지정 농도로의 전환을 의미한다.

**혼합백신(combined vaccine)** : 2개 이상의 항원으로 구성되며 이를 최종 조제 단계에서 제조업체가 결합하거나 투약 직전에 결합하는 백신. 이 백신은 하나 이상의 질병을 예방하거나 동일 미생물의 서로 다른 균주 또는 혈청형에 의해 유발되는 하나의 질병을 예방하기 위한 것이다.

#### 약어 정리

아데닐산 고리화효소	AC	Adenylate cyclase
집락형성단위	CFU	Colony-forming units
중국 햄스터 난소 세포	CHO cell	Chinese hamster ovary cell
세포 매개성 면역반응	CMI	Cell-mediated immune response
디프테리아, 파상풍, 정제 백일해 혼합백신	DTaP	Diphtheria, Tetanus, acellular pertussis vaccine
디프테리아, 파상풍, 정제 백일해 및 B형 간염(유전자재조합) 혼합백신	DTaP-HepB	Diphtheria, Tetanus, acellular pertussis, Hepatitis B(rDNA) vaccine
디프테리아, 파상풍, 정제 백일해 및 개량 불활화 폴리오 혼합백신	DTaP-IPV	Diphtheria, Tetanus, acellular pertussis, inactivated poliomyelitis vaccine
50% 유효량	ED <sub>50</sub>	50% Effective dose
유럽의약품품질위원회	EDQM	The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare
효소면역측정법	ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
섬유질 헤마글루티닌	FHA	Filamentous haemagglutinin
펄브리아	FIM	Fimbriae
임상시험관리기준	GCP	Good Clinical Practice
기하평균농도	GMC	Geometric Mean Concentration
의약품 제조 품질관리 기준	GMP	Good Manufacturing Practice
기하평균단위	GMU	Geometric mean ELISA units
히스타민 민감성 시험	HIST	Mouse Histamine Sensitisation Test
고성능-액체크로마토그래피	HPLC	High-performance liquid chromatography

호흡 챌린지 시험법	INCA	Intranasal challenge assay
불활화 폴리오 백신	IPV	Inactivated polio vaccine
투구게 변형세포 용해물	LAL	Limulus amoebocyte lysate
반수치사량	LD50	Dose lethal for 50% of the animals
리포올리고당류	LOS	Lipooligosaccharide
마우스뇌내공격법	MICA	Modified mouse intracerebral challenge assay
마우스 면역원성 시험	MIT	Mouse immunogenicity test
영국표준의약품연구소	NIBSC	National Institute for Biological Standards and Control
퍼탁틴	PRN	Pertactin
백일해 독소	PT	Pertussis toxin
백일해 독소이드	PTxd	Pertussis toxoid
누적분포	RCD	Reverse cumulative distribution
도데실황산나트륨 폴리아크릴아마이드겔 전기영동법	SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
표준문서	SOP	Standard Operating Procedure
단일방사면역확산	SRID	Single radial immunodiffusion
성인용 디프테리아,파상풍 혼합백신	Td	Diphtheria, Tetanus vaccine for adults
성인용 디프테리아, 파상풍, 정제 백일해 혼합백신	TdaP	Diphtheria, Tetanus, acellular pertussis vaccine for adults
기관세포독소	TCT	Tracheal cytotoxin
전염성 해면양뇌증	TSE	Transmissible spongiform encephalopathies

## 4. 일반 사항

디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP) 백신 또는 이들을 포함하는 혼합 백신의 생산 및 시험에 관한 사항은 「생물학적제제 등의 품목허가·심사규정」, 「생물학적제제 기준 및 시험방법」, 「생물학적제제등 제조 및 품질관리기준」 등을 참고할 수 있으며, 그 외에도 ‘WHO 가이드라인’, ‘유럽약전’ 등에 기술된 혼합백신 관련 사항들을 참고할 수 있다. 품목허가 신청시 백신의 생산 및 시험에 관한 세부절차나 표준문서 그리고 각 생산 단계에서의 품질관리 시험의 밸리데이션에 관한 증거자료를 신청문서에 포함시켜 식품의약품안전처에 제출하고 승인을 받아야 한다. 제조 또는 품질관리 방법을 변경하고자 할 때에도 식약처 변경승인을 받아야 하며 제조방법 변경의 경우, 「생물의약품의 제조방법 변경에 따른 비교동등성 평가 가이드라인」을 참고할 수 있다.

백신의 품질과 관련된 중요한 사항들은 다음과 같다.

- 의도한 용도에 맞는 적합한 면역원성, 반응원성 및 안정성을 가지는 최적의 백신 조성의 조건(적합한 면역증강제의 선택 등)
- 단가 백신에서 확립된 시험법의 적용 가능성
- 혼합백신에 사용할 단가 백신 참조품의 적합성
- 출하 및 안정성 기준

제조업체는 제조 및 조성의 일관성을 증명하고, 제품 허가를 받기 위한 임상시험에 사용했던 백신 로트의 제조 방법을 엄격하게 준수해야 한다. 또한 임상 시험에서 평가했던 로트와 비교해, 새로운 백신 로트의 안전성, 역가, 이화학적/면역학적 특성이 일관됨을 시험을 통해 증명할 수 있어야 한다. 생산 로트의 일관성 확인을 위한 시험 절차의 밸리데이션(특이성, 민감성, 정확성 등)에도 특히 주의를 기울여야 하며, 적절한 안정성을 갖춘 표준품(참조 백신)을 충분히 확보하여, 자체 시험과 식품의약품안전처의 확증 시험에 활용할 수 있어야 한다.

안전성의 입증과 백신 역가의 확인은 백신 제조의 필수 요구사항이다. 사람을 대상으로 한 예방접종에서 이상약물반응을 최소화하기 위해서는 정제된 독소이드의 생산이 필요하며, 보통은 이상약물반응을 야기할 수 있는 성분을 제거하기 위해 포름알데히드로 무독화하기 전에 독소를 정제시킨다. 이때 무독화 공정을 검증함으로써 독소이드가 열에 노출되었을 때 다시 독성을 나타내지 않고 면역원성을 유지할 수 있도록 한다. 일부 제조업체는 독성회복 위험을 줄이기 위하여 독소를 정제하기 전에 무독화시키는 방법을 선호한다. 특히 독성회복 위험을 고려하여 독소를 정제 후 무독화하는 경우에 있어서는, 독성회복부정시험에서 상온에 보관한 회석된 정제 독소이드에 대해 6주의 배양기간을 유지하도록 권장한다. 또한, 디프테리아 파상풍의 경우, 제조의 일관성이 있는지 모니터링하려면 독소의 순도와 수율(yield)을 확인하여야 한다. 응집단위로 나온 독소이드의 항원함량과 순도는 중요한 품질지표이며, 최소요구량은 디프테리아 독소이드는 단백질소 1 mg당 1,500 Lf, 파상풍은 단백질소 1 mg당 1,000 Lf 이다.

새로 개발한 디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP) 포함 혼합백신의 개발을 위한 비임상 프로그램은 일반적인가이드라인을 따르되 특별히 최종제품의 임상 면역원성, 유효성 및 반응원성의 평가를 위한 동물 모델의 선택에 주의한다.

새로 개발한 백신이라 함은, 새로운 균주나 새로운 공정을 이용하여 생산하거나 새로운 제조업체가 생산한, 기 허가 제품의 항원 가운데 하나(즉, DT, TT, PTxd, FHA, PRN, FIM 2형, FIM 3형) 또는 새로운 항원을 함유하는 백신 제품을 의미한다. 실험실 검사만으로 새로이 제조된 혼합백신의 안전성과 유효성을 보증할 수 없으므로 비임상시험을 실시하여야 한다.

비임상시험을 거친 백신을 임상평가에 사용하고 비임상정보의 적절성을 식품의약품안전처의 승인 받아 임상시험을 실시하여야 한다. 유효성 시험이 어려워 보이더라도, 적절한 디자인과 규모로 안전성과 면역원성 평가시험을 실시하여야 한다. 대부분의 임상시험은 비교 시험으로 진행되며 적절한 임상시험을 위해서는 대조백신의 선택이 특히 중요하다. 대조 백신은 새로 제조된 혼합백신과 성분, 조성, 함량 등이 유사한 백신을 선택하여야 한다.

이 가이드라인을 만드는 과정에서는 최소한 정제된 원액 항원의 생산단계, 단일

성분과 혼합백신의 품질 측면까지 고려되었다. 또한 단일 성분백신과 비교 시 조제된 최종원액 및 최종 로트의 생산과 관련된 많은 사안들과 일부 비임상 및 임상 프로그램의 문제들이 혼합백신의 개발 시에도 매우 유사한 것으로 생각된다. 따라서 가능하고 해당되는 경우 디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP) 포함 혼합백신의 생산과 개발에 있어 개별 백신 성분에 대한 가이드라인과 함께 본 가이드라인을 참고하기 바란다.

## 5. 표준품

자체 표준품을 사용하는 경우에는 값을 부여하여 경향을 분석하고 품질 관리 시험 기준을 규정한다. 국제 표준품이 있으면, 국제 표준품에 자체 표준품을 대조하여 자체 표준품을 교정하여야 한다.

디프테리아 백신의 관리에 사용되는 표준품은 다음과 같다.

2차 디프테리아 독소이드 응집 반응 국제표준품(The 2nd International Standard of Diphtheria Toxoid for Flocculation)

코드가 04/150인 이 물질은 2007년에 확립된 것으로, 앰플 당 1100 Lf의 할당된 단위량을 가지며, 1차 면상반응 시험을 위한 디프테리아 독소이드 국제표준시약 (DIFT)을 대체하였다. 이 표준품은 디프테리아 독소이드의 항원함량을 결정하기 위한 응집반응 시험에서 사용한다.

4차 디프테리아 독소이드(흡착) 국제표준품(The 4th International Standard for Diphtheria Toxoid (Adsorbed))

코드가 08/218인 이 물질은 2009년에 확립되었고, 3차 국제표준품을 기준으로 기니픽 시험을 토대로 한 교정에 기초하여 앰플 당 213 IU의 표시역가를 가진다. 3차 국제표준을 대체한다(98/560). 이 표준품은 디프테리아 백신 역가 분석에서 표준백신으로 사용한다.

디프테리아 항독소(DI) 국제표준품(The International Standard for Diphtheria Antitoxin (DI))

이 건조제형의 고도 면역 말 혈청은 1934년에 1차 디프테리아 항독소 국제표준품으로 확립되었다. 이 물질은 생리식염수 66% 글리세롤에서 mL당 10 IU를 함유한 액체 충전물을 조제하기 위해 사용된다. 현재의 충전물은 코드 번호가 11/200이다. 이 물질은 디프테리아 항독소의 역가를 결정하기 위해 체내(in vivo) 또는 체외(in vitro) 독소 중화시험에서 참조품으로 사용한다.

1차 디프테리아 항독소 인간 국제표준품(The 1st International Standard for Diphtheria Antitoxin Human)

코드가 10/262인 이 물질은 2012년에 확립되었으며, 앰플당 두 IU의 할당된 단위량을 가진다. 이 물질은 인간 혈청에서 디프테리아 항체 수준을 측정하기 위해 사용되는 분석에서 참조품으로 사용한다.

파상풍 백신 관리에 사용되는 표준품은 다음과 같다.

4차 흡착 파상풍 독소이드 국제표준품(The fourth International Standard for Tetanus Toxoid, Adsorbed)

코드가 08/218인 이 물질은 2010년에 확립되었고, WHO의 3차 국제표준품을 기준으로 기니픽 시험을 토대로 한 보정에 기초하여 앰플 당 490 IU의 표시역가를 가진다. 2012년에는 마우스 시험을 토대로 앰플 당 260 IU를 확정했다. 이 표준품은 파상풍 백신 역가시험에서 표준백신으로 사용된다.

2차 면상반응 시험을 위한 파상풍 독소이드 국제표준품(The second International Standard of Tetanus Toxoid for Flocculation)

코드가 04/150인 이 물질은 2007년에 확립된 것으로, 앰플 당 690 Lf의 할당된 단위량을 가지며, 1차 면상반응 시험을 위한 파상풍 독소이드 국제표준시약(DIFT) 을 대체하였다. 이 표준품은 Lf로 된 파상풍 독소이드의 항원함량을 결정하기 위한 면상반응 시험에서 사용한다.

1차 파상풍 인간 면역글로불린 국제표준품(The first International Standard for Tetanus Immunoglobulin, Human)

코드가 TE-3인 이 물질은 할당된 단위량이 앰플 당 120 IU로서 1992년에 확립되었고, 1969년 이후 사용되어 왔던 두 번째 파상풍 항독소(말 유래) 국제표준품을 대체한다. 이 표준품은 체내 독소 중화시험을 통해 활성이 할당되었고, 체내 독소 중화시험



에서 참조품으로 사용하기 위한 것이다. 또한 이 물질은 체외 분석법을 통해 사람 혈청에서 파상풍 항독소가를 측정하기 위한 참조품으로도 사용된다.

정제 백일해 관련 표준품은 다음과 같다.

정제 백일해 백신의 MICA(modified mouse intracerebral challenge assay)와 기타 보호 효과 분석 시험에 사용할 1차 WHO 국제 표준품(관리번호 JN1H 3, 앰플 당 34 IU) 백일해 백신의 잔류 PT 활성 모니터를 위한 시험 방법의 표준화를 위한 백일해 독소의 1차 WHO 국제 표준품(예, 히스타민 감각 시험, CHO(Chinese hamster ovary) 세포 시험)(관리 번호 JN1H 5, 앰플 당 10,000 IU)

백일해 항혈청(사람)의 1차 WHO 국제 표준품(관리 번호 06/140, 앰플 당 335 IU anti-PT IgG와 65 IU IgA anti-PT, 130 IU IgG anti-FHA와 65 IU IgA anti-FHA, 65 IU IgG anti-69K와 42 IU IgA anti-69K)

임상 혈청학적 분석법 표준화를 위한 1차 WHO 국제 참조 시약(관리번호 06/142, 앰플 당 106 IU anti-PT IgG와 18 IU IgA anti-PT, 122 IU IgG anti-FHA와 86 IU IgA anti-FHA, 39 IU IgG anti-69K와 38 IU IgA anti-69K)

*B.pertussis*균주 혈청형 분석을 위한 *B. pertussis* fimbriae 2형 단클론 항체의 1차 WHO 국제 표준품(관리 번호 06/124)

*B.pertussis*균주 혈청형 분석을 위한 *B. pertussis* fimbriae 3형 단클론 항체의 1차 WHO 국제 표준품(관리 번호 06/128)

백일해 항혈청(마우스)의 1차 WHO 국제 표준시약(관리 번호 97/642, 바이알 당 17 units anti-PT, 143 units anti-FHA, 30 units anti-PRN. 32 units anti-FIM 2 and 3)

WHO 국제 표준품, 그리고 기타 시약은 영국 NIBSC(National Institute for Biological Standards and Control, Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, Potters Bar, England, <http://www.nibsc.ac.uk>)가 관리한다.

이와 같은 표준 물질을 지역, 국가, 자체 표준 물질 교정 및 확립에 이용할 수 있다.

## 6. 제조관련 권고사항

### 6.1 명칭

「생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정」에 따라 원료의약품의 명칭 중 한글명은 식품의약품안전처장이 정하는 의약품 명명법 가이드라인에 따라 기재할 수 있으며, 영명은 국제일반명칭(INNPS: International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances) 및 식품의약품안전처장이 정하는 의약품 명명법 가이드라인에 따라 기재할 수 있다. 백신제제는 제조 시 사용된 균주, 바이러스주, 세포 등에 관한 유래, 특성, 배양, 보존방법 및 관리방법, 목적산물의 생산, 분리, 정제 등에 대하여 관련 규정에 따라 상세히 기재해야 하므로 이를 준수한다.

### 6.2 제조관련 공통권고 사항

혼합백신을 생산하는 제조시설 수립에는 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 별표 1 의약품 제조 및 품질관리기준 및 별표 3 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준, 「생물학적제제등의 제조·판매관리규칙」을 따르며, ‘WHO 제조품질 관리기준 : 의약품의 주요원칙(WHO good manufacturing practices : main principles for pharmaceutical products)’의 일반 제조 요구사항을 적용할 수 있다.

### 6.3 생산관리

#### 6.3.1 기원 물질 관리

##### 6.3.1.1 생산 균주

백신 제조에 사용되는 균주의 기원과 이력에 대한 - 균주의 기원과 분리시의 특성을 포함한 - 기록과 균주 특성 확인을 위해 주기적으로 실시하는 모든 시험에 관한 기록을 제출해야 한다.

유래와 이력이 잘 알려진 균주를 사용할 것을 권고하며 배양 조건에 맞은 균주를 사용한다. 사용하는 균주는 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

#### 6.3.1.2 시드로트 시스템

혼합백신의 생산을 위해 시드로트 시스템을 확립한다. 시드 로트 조제물은 「생물학적제제등 제조 및 품질관리기준」 GMP(Good Manufacturing Practice)의 시설 하에 제조되어야 한다. 각 독소의 생산은 독소생성능(toxigenicity)이 보존되는 정확히 규정된 시드 로트 시스템을 토대로 해야 한다

제조용 시드로트의 배양액은 마스터시드로트의 배양액과 동일한 특성을 구비해야 한다. 새로운 마스터 시드나 제조용 시드를 도입할 때는 출처, 계대이력(passage history), 정제 및 특성분석 절차 및 보관조건에 관한 세부기록을 제출해야 한다.

사용 중인 제조용 시드는 이전의 생산이력 및 경험을 토대로 정해진 간격으로 특성 분석이 이루어져야 한다. 생산을 위해 사용되는 각 시드 로트의 최대 계대 수는 안전하고 효과적인 제품을 생산하는 것으로 입증된 수를 토대로 명시해야 하며 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

#### 6.3.1.3 배양 배지

생산용 배양배지는 세균의 생장을 돕고 각 독소의 수율을 보장해주는데 적합한 배양배지를 선택해야 한다. 배양배지는 외래성 오염인자(adventitious agents)가 없어야 하고, 인체에서 알레르기 반응을 일으키는 것으로 알려진 성분은 피해야 한다. 배양 배지에 사용하는 소, 양, 염소 유래 성분의 공급처가 적합함을 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

동물 유래 물질을 시드 제조나 보존, 또는 생산에 사용한다면, 이들 물질은 WHO의 “생물학적제제와 의약품 관련 TSE 가이드라인(guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products)”과 국가 규제 기준에 부합해야 한다. 동물 혈액이나 혈액 제품을 사용한다면 생산 과정에서 적절한 방법으로 제거한다.

배지 변경 시에는 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

#### 6.3.2 제조공정 관리

#### 6.3.2.1 생산 배양액 및 단일 수득물

생산 배양액(Production culture)은 증식 속도, pH 변화 속도, 목표 항원 생산 속도, 그리고 식품의약품안전처와 협의하여 정한 기타 변수의 일관성을 보여야 한다. 허용 규격을 확립하며 이에 대해 식품의약품안전처의 승인을 받는다.

단일수득물 생산의 일관성을 입증하기 위해 배양순도, 생장률, pH, 배양기간, 온도범위, 독소생산율 등이 포함될 수 있다. 생산의 일관성을 입증할 수 있도록 정해진 기준 및 경계기준(alert limits)의 허용규격을 설정하여 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다. 이례적인 생장특징을 보이는 경우가 있다면 이를 조사하여 생산에 적합한지 여부를 조사한 후 사용한다. 오염된 배양은 폐기처분하여 그 원인을 반드시 분석한다.

단일 수득물이 바로 생산에 사용되지 않을 경우 보관 기간에 대해서는 적절한 안정성 시험을 통해 얻은 데이터로 뒷받침 되어야 하며, 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다

##### 6.3.2.1.1 순도관리

배양액에서 검체를 채취하여 미생물 순도 시험을 실시한다. 검체를 도말하고 염색하여 현미경으로 관찰하거나 적절한 배양 배지에 접종하여 배양하거나 기타 적합한 방법으로 미생물 순도 시험을 실시한다. 현미경으로 검사할 때는 고배율로 여러 부분을 검사한다. 오염 미생물이 발견되면, 해당 배양액과 그 배양액에서 유래한 제품을 폐기한다.

##### 6.3.2.2 여과 및 항원 정제관리

디프테리아 및 파상풍의 경우, 순도 관리를 위해 검체를 채취한 후에, 무균여과방식으로 가능한 한 신속하게 균체에서 배양배지를 분리한다. 보존제를 넣어도 되지만 이러한 목적으로 페놀을 사용해선 안 된다.

여과를 촉진하기 위해 배양배지는 원심 분리할 수 있다. 단, 잠재적으로 위험한 에어로졸이 형성되지 않도록 적절한 예방책을 취해야 한다. 사전에 여과 보조제를 사용할 수 있으며, 섬유소가 제거되지 않는 필터를 사용해야 한다

백일해의 경우, LOS(lipooligosaccharide), 피부 괴사성 독소, ACT(adenylate cyclase toxin), TCT (tracheal cytotoxin) 같은 바람직하지 않은 분자에 의한 오염을

최소화하는 방식으로, 항원을 정제한다. *B.pertussis* 세포를 여과나 원심 분리 방법으로 발효액에서 분리하고, 적합한 방법으로 불활화시킨 다음에 공정을 진행하거나 처리한다. 이 단계에서 식품의약품안전처에서 승인받은 방법을 이용해, 공정 반제품에 *B. pertussis* 세포가 없음을 확인한다.

### 6.3.2.3 무독화 이전의 시험

#### 6.3.2.3.1 디프테리아 및 파상풍독소

무독화 과정전에 배양 상층액의 독소함량을 승인된 방법을 이용하여 측정하여야 한다. 일반적으로 면상반응시험(flocculation)은 독소함량 측정에 적합하며, WHO의 ‘디프테리아, 파상풍, 백일해 백신 품질관리 매뉴얼(Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines)’을 참고한다. 면상반응 시험을 위해 디프테리아 독소이드 국제표준품 또는 파상풍 독소이드 국제표준품에 대한 Lf 보정 참조품을 포함하여야 하며 결과는 Lf 단위로 표시한다.

독소함량의 측정은 생산의 일관성을 나타내는 지표이다. 그러므로 일관성을 모니터링하기 위해 허용한계를 규정해야 한다.

디프테리아의 경우 정제 독소이드를 준비하면서 사용된 배양 여과액은 최소 50 Lf/mL을, 파상풍의 경우는 40 Lf/mL을 초과하는 게 좋다.

#### 6.3.2.3.2 정제백일해 독소

정제 백일해 독소의 수율과 순도의 일관성을 확인하기 위한 시험방법과 이 시험방법의 특성은 식품의약품안전처와 협의 하여야 한다. 무독화 이전 다음의 공정을 평가하는 것을 권고 한다.

항원 특성 평가: 항원의 원래 특성을 변화시킬 수 있는 공정 단계를 진행하기 전에, 이화학적/면역학적/기능적(생물학적) 분석 방법으로 항원의 특성을 철저하게 평가하는 것이 중요하다. 서로 다른 원리의 다양한 분석 기법을 활용하도록 특히 주의를 기울인다. 특이적 단클론 또는 다클론 항체를 이용한 면역블롯(immunoblot) 분석 방법을 이용하여 항원이나 항원 아단위(subunit)의 특성을 평가할 수 있다. 각 항원 성분의 특정 특성을 참조 물질과 비교하여 분석한다. 항원별로 규격을 설정한다. 적합한 분석 방법으로는 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis),

SRID(single radial immunodiffusion), 면역블롯팅, CHO 세포를 이용한 활성 PT 검출 시험, 혈구 응집 반응 시험, HPLC(high-performance liquid chromatography) 등이 있다. PT의 비활성(IU/ng)을 분석한다.

항원 순도: 백신의 유효성에 기여한다고 주장하는 개별 항원이나 동시 정제 항원의 순도를 SDS-PAGE, HPLC 또는 다른 적절한 방법으로 분석한 다음에 무독화를 진행한다. 가능하면 백신 성분의 다양한 특징을 감안하여 분석 기법을 선정한다. 검출된 모든 불순물에 대한 기준을 설정한다.

개별 항원 또는 동시 정제 항원의 순도는 임상 시험에서 안전성과 유효성이 입증된 백신 로트나 허가 신청과 관련된 다른 로트의 결과를 토대로 제품별로 설정한 기준 범위 이내여야 한다. 제품 개발 및 밸리데이션 과정에서 규격을 설정하고, 식품의약품안전처와 협의하여 확립한다.

잔류 엔도톡신: LAL(Limulus amoebocyte lysate) 시험법이나 기타 적절한 방법으로 잔류 엔도톡신 함량 시험을 실시한다. 이 시험을 뒤 단계에서 실시할 수도 있다. 엔도톡신 함량은 임상 시험에서 안전성과 유효성이 입증된 백신 로트나 허가 신청과 관련된 다른 로트의 결과와 일관성이 있어야 한다. 식품의약품안전처와 협의하여 규격을 설정한다.

항원 함량: 이 단계에서 필요하다면, 단백질 함량 시험 방법과 가능한 경우에는 적합한 정량적 면역분석 방법 등 충분한 민감성을 갖춘 밸리데이션된 정량 분석 방법으로 정제 항원 각각의 양을 추정한다. ELISA 방법으로 항원 함량 시험을 실시하고, CHO 세포 방법으로 활성 PT 함량 시험을 실시할 수 있다.

2개 이상의 항원이 동시에 정제되는 경우에는, 백신 유효성에 기여한다고 주장하는 각 항원의 비율을 적합한 방법(예, SDS-PAGE, HPLC, 비변성 젤을 이용한 전기영동, 밀도 검사 방법)으로 분석해야 하며, 그 결과는 임상 시험에서 안전성과 유효성이 입증된 백신 로트나 허가 신청과 관련된 다른 로트의 결과 범위 이내여야 한다. 밸리데이션 시에 규격을 정하고 식품의약품안전처와 협의하여 확립한다.

무균 시험: 「대한민국약전」 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 세균 및 진균 무균시험을 실시해야 한다. 적절한 경우에는 이 시험을

뒷 단계에서 할 수도 있다.

보존제를 추가한다면, 무균 시험에서 간섭이 발생하지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

#### 6.3.2.4 무독화

##### 6.3.2.4.1 디프테리아 및 파상풍 독소

무독화는 배양 여과액(culture filtrate)이나 정제독소(purified toxin)를 사용하여 실시한다. 무독화 과정은 독소로 복귀되지 않도록 각별한 주의를 기울여야 한다. 정제 독소를 사용하는 경우 순도가 더 높은 제제를 얻을 수 있는 장점이 있다. 다만, 독성회복 위험이 증가될 수 있으므로 무독화과정 중에는 더 많은 주의가 필요하다. 정제방법은 인체에 이상반응을 일으킬 수 있는 성분이 최종 제품에 포함되지 않도록 해야 한다.

정제 방법과 무독화공정에 사용되는 물질은 적절한 검증을 거친 뒤에 승인을 받아야 한다. 무독화율은 차이가 있을 수 있으며, 무독화공정에 대해 공정 중 모니터링을 실시해야 한다.

포름알데히드는 가장 흔히 사용하는 무독화제로, 무독화과정 중에 리신(lysine)이나 글리신(glycine) 같은 아미노산이 추가됨으로써 독소 분자의 교차 결합을 촉진하고 독소의 복귀를 방지할 수 있다. 무독화 조건은 명확히 규정되어야 하며 온도, 시간, 무독화제 농도, 독소 농도, 기타 중요한 변수들과 관련지어 관리해야 한다.

##### 6.3.2.4.2 정제 백일해 독소

정제 PT(유전적으로 무독화시키지 않은 경우) 또는 이 독소를 함유한 동시 정제 항원을 적절한 방법으로 무독화한다. 다른 항원도 잔류 PT의 무독화 처리가 필요할 수 있다. 잔류 무독화 처리 물질을 적절한 방법으로 제거한다. 포름알데히드, 글루타르알데히드, 이 둘의 혼합물, 과산화수소 등 여러 가지 화학물질을 PT 무독화에 사용한다. 무독화 처리 공정의 산물도 그에 따라 다양하다.

무독화 방법/공정 생물학적 활성 PT의 수준이 기준에 부합하고 면역원성도 적합한 수준을 유지(최종 단계에서 분석)하는 항원을 일관되게 생산할 수 있음을 밸리데이션하여 증명되어야 한다. 또한 보관 시에 생물학적 활성 PT로 되돌아가지 않는

무독화 PT 생산 방법임을 밸리데이션하여 증명한다. 무독화 이후에 항원 응집이 발생한다면, 초음파 처리 등 적절한 방법으로 응집물을 균질화하고 여과하여 큰 덩어리를 제거한다

### 6.3.3 원액의 관리

#### 6.3.3.1 정제 디프테리아 및 파상풍 독소이드 원액

##### 6.3.3.1.1 조제물

정제 독소이드 원액은 단일 사용 또는 여러 배치를 혼합하여 사용할 수 있으며, 무균상태이어야 한다. 보존제는 지금까지 독소이드의 안전성과 면역원성에 부작용을 주지 않았다면 승인에 따라 첨가될 수 있다. 일부 항균 보존제, 특히 페놀타입의 보존제는 항원 활성에 부정적 영향을 미친다.

##### 6.3.3.1.2 무균

각각의 정제 독소이드 원액은 「대한민국약전」 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 세균 및 진균 무균시험을 실시해야 한다. 보존제가 정제 원액에 첨가되었다면, 무균시험에서 간섭이 일어나지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

##### 6.3.3.1.3 항원 순도

각 정제 독소이드 원액은 Lf 단위의 항원 농도와 단백질소 농도를 결정하여 항원의 순도를 검사해야 한다. 항원 농도는 면상반응 시험용 독소이드 국제표준품이나 승인된 이에 준하는 참조품을 기준으로 보정된 참조품과의 비교를 통해 결정하여야 한다. 시험 방법은 승인을 받아야 한다. 정제 독소이드 원액은 단백질소 mg 당 디프테리아는 1,500 Lf 이상을, 파상풍은 1,000 Lf 이상을 함유하면 시험을 통과한다.

면상반응 분석은 항원 함량의 측정에 적합하며, WHO의 ‘디프테리아, 파상풍, 백일해 백신 품질 관리 매뉴얼(Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines)’에 상세히 기술되어 있으니 참고하기 바란다.

SDS-PAGE와 HPLC 같은 방법을 이용하는 물리화학 분석법은 항원의 순도를 모니터하고 항원의 완전성(integrity), 응집 및 단백질 분해 정도에 대한 추가 정보를



제공하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 추가 특성 시험은 새로운 제조용 시드를 도입할 때마다 실시해야 한다.

#### 6.3.3.1.4 특이독성(무독화)

각 정제 독소이드 원액에 대해서 각 독소의 존재에 대하여 시험이 이루어져야 한다. 시험법은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」에 따라 시험하며, 이에 적합하여야 한다.

#### 6.3.3.1.5 독성회복 부정시험

각각의 정제 독소이드 원액을 시험할 때는 보관 중에 독소가 나타나지 않도록 해야 한다. 시험법은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」에 따라 시험하며, 이에 적합하여야 한다.

#### 6.3.3.2 정제 백일해 항원 원액

단일 작업으로 확보한 항원이나 여러 작업으로 제조한 것을 혼합하여 원액을 만든다. 식품의약품안전처의 승인을 받아 원액을 면역보조제에 흡착시키거나 면역보조제와 혼합하고, 보존제를 첨가할 수 있다.

##### 6.3.3.2.1 항원 함량

단백질 함량 시험 방법과 가능한 경우에는 적합한 정량적 면역분석 방법 등 밸리데이션된 정량 분석 방법으로 정제 항원 각각의 양이나 동시 정제 항원의 양을 추정한다. 동시 정제 항원인 경우에는, 항원의 비율을 규정한다. 화학적 무독화 처리 이후에 각 항원을 평가하는 적절한 방법이 없다면, 무독화에 앞서 시험한 결과에 근거해 각 항원의 양을 밸리데이션된 적절한 절차로 추정할 수 있다. 항원 함량 기준을 제품 개발 및 밸리데이션 과정에서 정하고 식품의약품안전처의 승인을 받는다.

##### 6.3.3.2.2 백일해 독소 잔류 활성

각 항원 또는 동시 정제 항원에 존재하는 잔류 생물학적 활성 PT의 양을 무독화 이후에 HIST나 CHO 세포 분석 방법 등 충분한 민감성을 갖춘 방법으로 시험한다. 면역보조제와 기타 백신 성분이 CHO 세포 분석 방법의 적절한 성능을 저해할 수 있으므로 이와 같은 성분에 의한 간섭 영향이 없도록 특별히 주의를 기울인다(예,

검액의 적절한 희석). 백신 최종 조제 농도 수준에서, 모든 백일해 항원의 잔류 생물 활성 PT의 총량은 임상 시험에서 안전성이 증명된 백신 로트나 허가 신청과 관련된 기타 로트의 결과를 초과해서는 안 된다. 식품의약품안전처와 협의하여 규격을 설정한다.

#### 6.3.3.2.3 잔류 엔도톡신

LAL 시험 방법이나 다른 적절한 방법으로 원액 또는 항원의 잔류 엔도톡신 함량 시험을 실시한다. 백신 최종 조제 농도 수준에서 엔도톡신의 총량은 임상 시험에서 안전성이 증명된 백신 로트나 허가 신청과 관련된 기타 로트의 결과를 초과해서는 안 된다. 개별 성분의 백신 농도에 적용되는 기준을 식품의약품안전처와 협의하여 정한다.

#### 6.3.3.2.4 무균 시험:

무균시험은 「대한민국약전」 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 따라 각 정제 항원 벌크의 무균(세균 및 진균) 시험을 실시한다. 보존제를 추가한다면, 무균 시험에서 간섭이 발생하지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

### 6.3.4 최종원액의 관리

#### 6.3.4.1 조제

항원 원액을 혼합하여 최종원액을 제조한다. 허가된 내용에 따라 최종원액 단계이전에 각 단가원액에 면역증강제를 흡착시키거나 혼합할 수 있으며 이들을 흡착전 원액(pre-absorbed bulks)이라 한다. 이러한 흡착전 원액은 검증된 보관기간 동안 검증된 보관온도로 보관 할 수 있다. 이들의 안정성에 관한 사항은 식약처 고시 「의약품 등의 안정성시험 기준」에 따르며, WHO의 ‘백신 안정성 평가 가이드라인(Guidelines on stability evaluation of vaccines)’을 참고하기 바란다.

#### 6.3.4.2 무독화제

잔류 무독화제 함량을 파악한다. 시험 방법과 기준은 식품의약품안전처 승인을

받아야 한다.

포름알데히드를 사용한다면, 잔류물 함량은 0.2 g/L를 넘지 않아야 한다. 글루타르알데히드 잔류물 함량은 0.1 g/L를 넘지 않아야 한다.

완제의약품 단계에서 실시하면 최종원액 단계에서 생략할 수 있다.

#### 6.3.4.3. 보존제

백신을 다회투여용량 용기에 나누어 넣을 경우에는 여기에 적절한 항균 보존제를 첨가해야 한다. 최종원액에 들어가는 보존제의 양은 백신성분에 유해한 영향이 없으며, 인체에 예기치 못한 이상약물반응을 일으키지 않는 것으로 입증되어야 한다. 보존제의 농도는 품목허가 심사 시 승인받아야 한다. 특정한 항균 보존제, 특히 페놀 타입의 보존제는 파상풍과 디프테리아 성분의 항원활성에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났으므로, 사용하지 않도록 권고한다. 이와 마찬가지로, 치메로살은 불활화 소아마비 항원활성에 나쁜 영향을 주는 것으로 알려져 있다.

또한 백신에 함유된 치메로살의 사용은 관련된 ‘WHO 규제 가이드라인(WHO guidelines on regulatory expectation related to the elimination, reduction or replacement of thimerosal in vaccines)’을 참고하여 기허가받은 품목의 치메로살 함량 저감화를 권고하고 있다. 2-페녹시에탄올은 백신의 적절한 보존제로 입증되어 왔으나, 혼합백신 항원과의 적합성은 사례별로 평가해야 한다.

#### 6.3.4.4. 면역증강제

제형에 사용되는 면역증강제는 혼합백신의 안전성 및 면역원성/유효성에 미치는 영향과 관련해 사용여부를 신중히 평가해야 한다. 면역증강제를 사용할 경우, 면역증강제의 순도 및 농도와 품질특성은 승인을 받아야 한다. 이 특성은 면역증강제로서의 적합성 및 혼합백신과 혼합 시, 그 적합성을 입증할 수 있어야 한다.

알루미늄은 혼합하는 동안 개별적인 사전흡착 성분원액으로 인해 단가백신보다는 혼합백신에서 농도가 더 높게 나올 수 있다는 점을 염두에 둔다. 또한, 최종원액에는 사전에 흡착된 개별성분 원액에서 유리된 면역증강제 혼합물이 들어있을 수도 있다.

면역증강제로 알루미늄 화합물이 쓰인다면 알루미늄의 농도가 1.25 mg/mL 이하이어야 한다.

칼슘 면역증강제를 사용한다면, 칼슘 함량은 1회 인체 투여 용량 당 1.3 mg을 넘지 않아야 한다.

다른 성분을 면역증강제로 사용한다면, 식품의약품안전처와 협의하여 규격을 설정한다. 국내 사용례가 없는 새로운 면역증강제를 배합하는 경우 생물학적제제 품목허가 심사규정 제23조에 해당하는 자료의 추가 제출이 요구된다..

#### 6.3.4.2 최종원액의 품질관리

혼합백신의 최종원액에 대해서는 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 각 조에 따라 각 성분의 개별 권고사항을 참고하여 시험을 실시하며 식품의약품안전처와 협의하여 완제의약품에서 실시 할 수도 있다.

##### 6.3.4.2.1 무균

무균 시험은 대한민국약전 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 따라 세균 및 진균 무균에 대해 무균시험을 실시해야 한다. 보존제가 최종원액에 첨가되었다면, 무균시험에서 간섭이 발생이 발생하지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

##### 6.3.4.2.2 pH

최종원액의 pH는 임상 사용에서 안전하고 효과적인 것으로 입증된 백신로트에서 측정된 값의 범위 내에 있어야 한다. 완제의약품 단계에서 실시하면 최종원액에서의 pH시험은 생략할 수 있다.

##### 6.3.4.2.3 무독화

디프테리아·파상풍·정제백일해(DTaP)백신의 경우, 최종원액에서 무독화시험을 실시한다. 시험은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」에 기술된 무독화시험에 따른다. 만약 완제의약품 단계에서 실시하면 최종원액에서 생략할 수 있다. 정제백일해의 경우 HIST 또는 식품의약품안전처의 승인을 받은 독소 활성 수준을 검출할 수 있는 충분한 민감성을 갖춘 또 다른 시험 방법으로 각 최종원액의 활성PT 시험을 실시한다.

허가 받은 정제 백일해 백신 제품의 잔류 생물 활성 PT 분석에 사용되는 HIST 방법은, 시험 백신을 마우스에 주사하고 히스타민을 가하여 이에 대한 반응을 평가하는 식으로 진행된다. 2가지 변수를 평가하는 방법이 있는데, 하나는 히스타민 용량의 치사 효과를 평가하는 것(사망종말법)이고, 다른 하나는 히스타민 처리 시의 체온 증가를 평가하는 것(체온측정법)이다. 다른 방법을 사용하고자 한다면, 밸리데이션된 HIST 방법(앞서 설명한 2개 시험 방법 가운데 하나)과 동등 이상의 민감성과 특이성을 구비해야 하고 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

각 시험에 사용하는 마우스의 히스타민 감작에 대한 민감성을 적합한 PT 참조 물질 또는 대조 물질을 이용해 확립한다. 표준품이나 양성 대조의 특이 활성을 WHO 국제 표준품(현재 JNH-5)에 대비하여 교정하고 IU 단위로 나타낸다. 독소의 명목 단백질 질량에 근거하여 HIST에서 생물학적 활성을 예측할 수 없기 때문이다. 시험 방법의 PT 검출 한계를 규정하고 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

잔류 생물 활성 PT의 함량에 대한 허용 기준은 임상 시험에서 안전성과 유효성이 증명된 로트나 허가 신청과 관련된 기타 로트의 결과와 일관성이 있어야 한다. 식품의약품안전처와 협의하여 규격을 설정한다.

현재는 정제 백일해 백신의 잔류 활성 PT 수준과 임상적 안전성 사이의 관계에 대한 정보가 충분하지 않다. 그러므로 면역원성을 부당하게 훼손시키지 않으면서, 가능하면 잔류 독성을 최대한 감소시킨다. 정제 백일해 백신의 활성 PT에 대하여 국제적으로 합의된 상한 기준은 없다. 일부 국가는 단일 백신 투여 용량 당 PT의 상한 기준을 DTaP 백신에 적용한다. 최근 실시한 공동 연구에서 HIST 치사 변수 방법으로 DTaP-기반 혼합 백신 중의 생물 활성 PT 함량에 대한 예비 데이터를 확보했다.

HIST 사망종말법은 백신에 존재하는 잔류 PT의 감작화 때문에 히스타민에 의해 죽은 동물의 비율을 측정하는 것이다. PT 표준품(IU 단위로 교정)의 적정에 의해 분석 방법의 민감성을 확인한다. 반복 시험을 통해 직선성을 확립한 다음에는, 단일 투여 용량의 PT 표준품만 각 시험에 포함시켜 분석의 민감성을 확인하는 식으로 단순화시킬 수 있다.

허용 기준 수준의 농도로 독소 표준품을 사용해 분석법의 민감성을 확인하는 시험실도 있다.

히스타민 투여 시의 체온(직장 또는 피부) 감소를 측정하는 HIST 방법(체온측정법,

첨부 2참조)을 일부 국가에서 성공적으로 사용하고 있다. 또한 PT 표준품의 활성화에 대비하여 시험 백신의 활성을 정량적으로 측정할 수 있게 최적화되었다.

CHO 세포 분석 방법이 PT 활성 검출에 상당한 민감성을 갖추고 있으나, 이 시험 방법은 간섭 문제 때문에(예, 면역보조제나 불활화제의 존재로 인해) 최종 원액에는 적합하지 않을 수 있다.

HIST 방법을 대체할 수 있는 다른 방법의 개발을 권장한다. 효소 HPLC(E-HPLC) 분석법과 탄수화물 결합 분석 방법을 포함하는 체외 분석 시스템을 HIST의 대안으로 평가하고 있다. 잔류 PT 활성을 분석하는 HIST 방법의 대체 방법을 개발하는 경우에는, 밸리데이션을 실시하고 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

#### 6.3.4.2.4 정제백일해 면역적 활성

출하 승인 시험 시에 정제 백일해 백신 검체를 마우스에 투여하고 면역원성이나 역가를 평가하는 방법에는 MIT(mouse immunogenicity test)와 MICA(modified mouse intracerebral challenge assay) 2가지 방법이 사용된다. 그런데 어떤 방법도 임상적 유효성의 지표로 생각되지 않는다. 어떤 방법을 사용하든 밸리데이션을 실시하고 식품의약품안전처의 승인을 확보해야 한다. 백신 제품에 활성 PT가 존재하는 경우에는, 백신의 역가가 증가할 수 있으며, 면역 항원, 마우스 종, 시험 방법, 시험 조건 등에 따라 그 정도가 달라진다.

MIT는 백신 유효성에 기여한다고 주장되는 모든 항원에 대하여 마우스를 면역시키고 항체 반응을 평가하는 비치사성 동물 시험 방법이다. 항원 각각에 대한 항체의 기능적 활성보다는 결합 활성을 ELISA 방법으로 측정한다. 5개 항원에 대한 항체를 함유하는 국제 마우스 참조 혈청을 이용해 ELISA 시험의 일관성을 모니터할 수 있다.

허가 이후 제조된 로트의 MIT 결과가 임상 시험 시에 적합한 성능을 나타낸 로트의 결과와 일치하는지 평가하여, 제조 일관성을 평가하도록 설계된 방법이 MIT이다. 다양한 백신 제품의 조성 차이 때문에 규격도 제품 특이적이다. 또한 적절한 성능을 보장하기 위해서는, 시험 백신과 조성이 유사한 제품 특이적 참조 또는 대조 백신을 MIT 시험에 사용해야 한다.

MIT 시험에 사용할 국제 참조 백신이 없는 경우에는, 지정 규격에 대비하여 시험

백신의 면역학적 활성을 유의미하게 평가할 수 있는 참조 백신을 개발할 책임이 각 제조업체에게 있다. 유효성이 확립된 임상 로트를 참조 백신으로 간주할 수 있지만, 임상 로트의 활용 가능성과 장기 안정성 같은 문제를 고려하면 현실적으로 어렵다. 하지만 참조 백신으로 선정된 백신 로트는 조성, 제조 공정, 면역원성, 보호 효과 측면에서 임상 로트와 충분히 유사해야 한다. 참조 백신의 안정화가 권장되지만, 안정화 절차가 백신의 활성에 미칠 영향에도 주의를 기울여야 한다.

임상 시험 로트와 허가 신청 관련 로트의 시험 시에 관찰된 반응을 토대로 각 제품의 규격을 설정한다. 유효성에 기여한다고 주장하는 각 항원에 대한 항체 반응의 규격을 설정하고 식품의약품안전처의 승인을 받는다.

시험 제품이 참조 백신과 유의미하게 차이나지 않는다는 점만 보여 주는 시험은 권장되지 않는다. 규격의 타당성을 증명해야 하며, 이때 참조 백신 대비 최대 허용 편차와 시험의 정밀성을 고려해야 한다.

MICA는 백신에 의한 마우스 보호 활성을 검출하는 마우스 치사 기반 시험 방법이다. 각 최종 원액의 역가를 참조 백신 대비 상대 역가로 나타낸다. 참조 백신을 정제 백일해 백신의 WHO 국제 표준품(JNIH-3)에 대비하여 교정하고, 보호 활성을 IU로 나타낸다.

시험 방법과 규격에 대하여 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다. 통계적으로 유효한 시험을 통해 백신의 추정 역가가 단일 인체 투여 권장량 중 4.0 IU 이상이고 추정 역가의 신뢰 하한( $p=0.95$ )이 일차 예방 접종 백신인 경우에 2.0 IU 이상이면, 역가 시험에 적합하다는 것이 현재의 규격이다.

활성 PT는 이 시험으로 분석한 백신의 상대 역가를 증가시키는 것으로 나타났고, 그 정도는 마우스 종과 시험 조건 등에 따라 다르다.

MIT와 MICA 이외의 다른 시험 방법(기니픽 면역원성 시험)을 채택한 나라도 일부 있다. 이 방법은 동일한 동물 집단을 이용해 정제 백일해 성분과 디프테리아와 파상풍 독소이드 성분의 면역원성을 시험할 수 있는 것이다. 이 방법이나 다른 방법을 채택해 출하 승인 시험에 사용하려면, 밸리데이션을 실시하고 식품의약품 안전처의 승인을 받아야 한다.

## 6.4 충전 및 용기

생물학적제제 GMP 기준 및 WHO의 GMP : 의약품 주요원칙(Good manufacturing practices : main principles for pharmaceutical products)’ 에 규정된 충전 및 용기 관련 기준을 최종 제형 상태로 충전된 백신 제품에 적용한다.

단일 용량 용기와 다회 용량 용기를 사용할 수 있다. 다회 용량 용기에 충전한 제품인 경우에는 적합한 항미생물 보존제를 함유해야 한다.

## 6.5 완제의약품의 관리

혼합백신의 최종제품에 대해 항원 성분의 적절한 양이 최종 용기에 함유되어 있는지 확인하기 위한 품질 관리 절차와 시험 방법을 밸리데이션하고 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다. 일반적으로 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 각조 및 일반시험법, 생물학적시험법 항에 기술된 시험방법이 혼합백신에도 적용된다

투여 시, 혼합하여 사용 하는 분산액체 제제(lyo-liquid formulations)의 경우, 각 조제물에 대해 각각 구별하여 시행된 출하시험을 제출하여도 된다. 개발단계 동안에 재구성 후 각 성분의 적합성을 입증해주는 검증된 연구가 수행 되었다면, 재구성 혼합백신에 대한 시험(특히 동물을 대상으로 한 역가시험 같은 것)을 반복할 필요가 없다.

### 6.5.1 확인시험

식품의약품안전처의 승인을 받은 밸리데이션 된 시험방법으로 각 최종제품에 대하여 최소 1개 용기를 채취하여 확인시험을 실시한다. 확인 시험의 경우, 항원-항체 간의 특별한 상호작용에 기초해야 한다.

알루미늄 운반체에 흡착된 항원에 대한 시험은 이 운반체가 용해되거나 흡착된 항원을 전체나 부분적으로 용출한 뒤 실시한다.

### 6.5.2 무균시험



배양법으로 증식할 수 있는 미생물(세균 및 진균)의 유무를 시험하는 시험방법이다. 무균시험은 「대한민국약전」 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 따라 무균(세균 및 진균) 시험을 실시하며 보존제가 첨가되었다면, 무균시험에서 간섭이 발생하지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

### 6.5.3 역가시험

역가시험은 백신의 생물학적 활성을 표준품 등을 사용하여 정량적으로 측정하기 위하여 실시한다. 식품의약품안전처의 승인받은 시험방법 방법에 따라 실시한다.

#### 6.5.3.1 디프테리아 역가시험

디프테리아 역가 시험법에 대한 세부사항은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」의 생물학적 시험 중 디프테리아 역가시험항을 참고할 수 있다..

디프테리아 역가에 대한 제품 특이적 최소 요구사항은 정당한 근거가 있고 해당 백신에 대해 실제로 얻은 역가 값을 토대로 했다는 전제 하에 허용된다. 역가에 대한 최소 요구사항을 규정하려면 적정 수의 로트를 검사해야 한다. 역가의 규격 확립에 사용된 백신 로트에는 임상시험에서 안전하고 효과적인 것으로 입증된 로트를 포함해야 한다. 제품 특이적 최소 요구사항은 품목허가 심사 시 승인을 받아야 한다. 일단 백신의 역가를 정하고 승인을 받은 뒤에는 이 역가가 최소 요구사항을 크게 초과하는 것으로 나타나야 한다.

#### 6.5.3.2 파상풍 역가시험

파상풍 역가 시험법에 대한 세부사항은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」의 생물학적 시험 중 파상풍 역가시험항을 참고할 수 있다.

파상풍 역가에 대한 제품 특이적 최소 요구사항은 정당한 근거가 있고 문제의 백신에 대해 실제로 얻은 역가 값을 토대로 했다는 전제 하에 허용된다. 역가에 대한 최소 요구사항을 규정하려면 적정 수의 로트를 검사해야 한다. 역가의 규격 확립에 사용된 백신 로트에는 임상시험에서 안전하고 효과적인 것으로 입증된 로트를 포함해야 한다. 제품 특이적 최소 요구사항은 품목허가 심사 시 승인을 받아야 한다. 일단 백신의 역가를 정하고 승인을 받은 뒤에는 이 역가가 최소 요구사항을 크게 초과하는 것으로 나타나야 한다.

#### 6.5.3.3 정제 백일해 역가시험

정제백일해 역가 시험법에 대한 세부사항은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」의 생물학적 시험 중 백일해 역가시험항을 참고할 수 있다.

백일해 역가에 대한 제품 특이적 최소 요구사항은 정당한 근거가 있고 문제의 백신에 대해 실제로 얻은 역가 값을 토대로 했다는 전제 하에 허용된다. 역가에 대한 최소 요구사항을 규정하려면 적정 수의 로트를 검사해야 한다. 역가의 규격 확립에 사용된 백신 로트에는 임상시험에서 안전하고 효과적인 것으로 입증된 로트를 포함해야 한다. 제품 특이적 최소 요구사항은 품목허가 심사 시 승인을 받아야 한다

#### 6.5.3.4 B형 간염 역가시험(Hepatitis B potency testing)

시험은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 및 WHO 가이드라인 ‘B형 간염백신 권고사항 (Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines)’을 참고할 수 있다.

#### 6.5.3.5 IPV 역가시험(IPV potency testing)

시험은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법에 기술된 시험법 및 불활화폴리오백신 평가가이드라인의 시험법을 참고할 수 있다.

6.5.3.6 Hib 성분이 함유된 혼합백신(전부 액체나 일체형 제제)이나 재구성 분산액체 제제에 관한 역가 관련 시험(Potency-related tests on combined vaccines with a Hib component (full liquid or all-in-one formulations) or reconstituted lyo-liquid formulations)

일부 백신의 경우에는 Hib 성분에 대한 역가시험과 안정성 표시 시험을 수행하는 게 어려운 것으로 입증되었다(총 단당류, 분자량 분포, 무 단당류, 무 운반체 단백질). 따라서 제조업체는 조제된 백신을 대상으로 이러한 시험이 이루어질 수 있도록 해당 방법을 개발해야 한다(최종 로트 단계 포함). 입증이 되었고 허가가 되었다면 원액 결합물 단계에서 이러한 시험을 수행하는 게 허용 가능한 것으로 간주될 수도 있다. 동물모델들(예. 생쥐, 일반 쥐, 토끼나 기니피그)은 일상적인 로트 출하에는 잘 쓰이지

않음에도 불구하고, 방어역가나 면역원성, 일관성을 분석하는데 유용하며, 필요하다면 안정성을 모니터하는 데에도 유용하게 쓰인다. 별도로 냉동건조 Hib 성분이 함유된 혼합백신의 경우에는 별개의 용기에 대해 시험을 실시할 수 있다.

#### 6.5.4 엔도톡신 시험

엔도톡신이란 일반적으로 그람음성세균의 세포벽 성분 중 lipopolysaccharide를 통칭하며 세균독소의 일종으로 용균 혹은 균체의 파괴에 의하여 유출되는 강력한 발열성물질로 내열성을 가진다.

보통 혼합백신에 들어있는 각 성분의 경우, 세균 엔도톡신 함량이 특정 백신의 승인 기준보다 적어야 하고, 투여한 최종백신에 대한 함량이 1회 용법량당 100 IU 미만이어야 한다. 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험 항 엔도톡신시험에 따라 실시하거나, 식품의약품안전처의 허가 받은 방법에 따라 실시한다.

#### 6.5.5 무독화 시험

무독화시험은 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 「흡착 디프테리아, 파상풍 및 정제 백일해 혼합백신」 중의 디프테리아, 파상풍, 정제백일해 무독화시험 방법이나 식품의약품안전처의 승인된 방법에 따라 실시하며, 완제의약품 단계에서 실시하면 최종원액에서의 무독화시험(특이독성시험)은 생략할 수 있다.

#### 6.5.6 면역증강제 함량시험

면역증강제가 첨가제로 사용되었다면, 최종제품에 대해 식품의약품안전처의 승인받은 방법으로 면역증강제 함량시험을 실시한다.

#### 6.5.7 보존제 함량시험

보존제는 의약품 제제를 오래 보존하기 위하여 첨가하는 물질로 인체에 해롭지 않아야 하고 치료효과를 변화시키지 않으며 제제의 품질을 평가하는 품질시험에 지장을 주어서는 안 된다. 보존제의 종류 및 함량은 식품의약품안전처의 승인을

받아야 한다.

2-페녹시에탄올을 사용한 경우에는 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법 중 2-페녹시에탄올정량법을 참조한다.

#### 6.5.8 잔류 무독화제 함량시험

화학물질 등을 이용하여 항원을 무독화하여 제조할 경우, 사용되는 화학약품의 잔류량은 확인되어야 하며 그 방법과 기준은 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

포름알데히드가 무독화제로 사용되었다면 그 잔류량은 0.02 w/v%를 초과해서는 안 된다. 만약 다른 무독화제를 사용하였다면, 이를 정량화할 수 있는 밸리데이션된 적절한 시험방법을 사용하여야 한다.

#### 6.5.9 pH 측정시험

최종제품의 pH는 임상적으로 안전성과 유효성이 증명된 백신로트의 pH 범위 이내이어야 한다. 「대한민국약전」 및 「생물학적제제 기준 및 시험방법」 일반시험법이나 허가된 방법에 따라 실시한다.

#### 6.5.10 실용량 시험

실용량시험은 『대한민국약전』 일반시험법 중 주사제의 실용량시험법에 따른다. 건조제제는 『대한민국약전』 일반시험법 중 제제균일성시험법 또는 『대한민국약전 외』 일반시험법 중 질량편차시험에 따르며, 일회용량 백신 및 다회용량 백신 모두, 실용량을 확인해야 하고, 이 양은 투여량 및 투여횟수에 충분해야 한다.

#### 6.5.11 최종용기 검사

각각의 완제의약품 용기는 육안이나 기계로 검사해야 하며, 밀폐불량, 무결성 부족, 균집이나 입자 같은 이상이 있다면 해당 용기를 폐기한다.

## 6.6 기록

「의약품등의 안전에 관한 규칙 별표 1 의약품 제조 및 품질관리기준 및 별표 3 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준」 및 「생물학적제제등의 제조·판매관리규칙」에 따라 기록을 관리한다.

## 6.7 라벨링

식약처 고시 「의약품 표시 등에 관한 규정」에 따르며, ‘WHO GMP : 의약품에 대한 주요 원칙(WHO good manufacturing practices : main principles for pharmaceutical products)’과 ‘생물의약품의 GMP(Good manufacturing practices for biological products)’의 권고사항을 참고한다

## 6.8 검체

「의약품등의 안전에 관한 규칙 별표 1 의약품 제조 및 품질관리기준 및 별표 3 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준」에서 요구된 사항을 따르며, 백신 검체는 ‘WHO GMP : 의약품에 대한 주요 원칙(WHO good manufacturing practices : main principles for pharmaceutical products)’에 기술된 요구사항을 적용한다.

## 6.9 유통 및 운송

「의약품등의 안전에 관한 규칙 별표 1 의약품 제조 및 품질관리기준 및 별표 3 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준」, 「생물학적제제등의 제조·판매관리규칙」을 따르며, ‘WHO 제조품질관리기준 : 의약품의 주요 원칙(WHO good manufacturing practices: main principles for pharmaceutical products)’의 일반 제조 요구사항을 적용할 수 있다.

## 6.10 안정성, 보관, 유효기간

안정성 시험은 식약처 고시 「의약품 등의 안정성시험 기준」과 WHO의 ‘백신 안정성 평가 가이드라인(Guidelines on stability evaluation of vaccines)’, 특히

혼합백신 가이드라인에 따라 수행해야 한다.

#### 6.10.1 안정성

품질 평가에서 중요한 부분이 안정성 평가이다. 안정성 시험의 목적은 유효기간, 보관 기간 또는 사용 기간 말기 시점에도 백신 제품이 품질, 안전성, 유효성 관련 필수 특성을 여전히 구비하는지 확인하는 것이다.

만약 해당사항이 있다면 시간이 지나면서 발생할 수 있는 항원과 면역증강제 간의 탈착을 조사하여야 한다.

백신 개발의 필수적인 부분이 적절한 안정성 시험이다. 최종 용기에 포장한 상태로 권장 보관 온도에서 보관한 상태의 안정성을 증명하고 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

보호 유효성에 기여한다고 주장되는 항원 각각에 대하여 실시간 안정성 시험 (real-time stability studies)을 실시해 유효일자까지 면역학적 활성과 제품의 특정 독성 결여를 증명한다.

DTaP 혼합백신의 경우, 정해진 유효기간내의 보관기간 동안 독성회복이 발생하지 않도록 주의해야 한다. 일반적으로 3개 이상의 연속된(서로 다른 원액중간물질로 제조할 것을 권장한다) 최종제품을 검사하며, 이 용기들은 실시간 안정성 시험에 포함된다.

##### 6.10.1.1 허가를 위한 안정성 시험

허가를 받기 위한 백신 제품의 안정성 시험을 예정 보관 조건에서 실시간 시험으로 실시한다. 안정성을 보여 주는 변수를 신중하게 선정한다. 면역학적 활성 시험은 항상 포함하되, 이 항목에만 국한해서는 안 된다. 적절한 주기로 시험을 실시해 면역학적 활성의 변화를 평가한다. 서로 다른 원액으로 만든 최소 3개 로트의 백신 제품을 유효일자 시점에 시험하여 보관 시의 안정성을 증명한다.

안정성에 영향을 미칠 가능성이 있는 온도 조건에서 일정 기간 동안 제품을 보관하고 시험하여 확보한 가속 안정성 시험 데이터는, 지속적 실시간 안정성 시험

데이터를 보조하는데 도움이 되지만, 지속적 실시간 안정성 데이터를 대체할 수는 없다. 허가 받은 유효 기간을 변경하고자 할 때는, 변경 유효 기간을 뒷받침하는 안정성 데이터가 있어야 하며, 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다. 이 경우, 생물의약품의 제조방법 변경에 따른 비교동등성 평가 가이드라인을 참고할 수 있다

허가 이후에 예정 유효 기간 내내 안정성을 모니터한다.

#### 6.10.1.2 제조 공정 단계별 안정성 시험

생산 단계별(예, 단가원액, 원액, 최종 원액, 최종 제품; 각기 최소 3개 로트)로 경우 안정성 시험을 실시한다. 안정성을 파악할 수 있는 적합한 변수를 생산 단계별로 선정한다. 백신 생산 과정에서 생성되는 물질, 특히 단가원액, 정제 항원 원액, 최종 원액 등을 보관하고자 할 경우 안정성 시험 자료를 근거로 반제품에 유효기간을 부여한다.

#### 6.10.2 보관 조건

상기 6.10.1의 안정성 시험 결과를 바탕으로 권장 보관 조건과 최대 보관 기간을 설정하고 식품의약품안전처의 승인을 받는다. DTaP 백신인 경우에 2-8℃가 일반적으로 적절하다고 인정된다. 백신을 라벨에 지정된 조건에서 보관할 때, 용기나 포장의 라벨에 규정된 최소 역가를 유효기간 말기까지 유지할 수 있어야 한다.

라벨에 표시된 유효일자까지 역가 기준을 만족시킬 수 있는 보관 조건과 운반 조건을 제조업체가 제시한다.

백신을 동결시켜서는 안 된다.

#### 6.10.3 유효일자

상기 6.10.1의 안정성 시험 결과를 바탕으로 유효일자를 정하며 식품의약품안전처의 승인을 받아야 한다.

## 7. 혼합백신의 비임상 평가

### 7.1 서론

비임상 시험은 사람을 대상으로 한 임상시험을 시작하고 허가를 받기 위한 필수조건이다. 혼합백신에 새로운 항원이나 면역증강제가 들어있다면 보다 광범위한 비임상 시험이 필요할 것으로 보인다. 비임상 시험의 설계, 진행, 분석, 평가에 대한 세부내용은 WHO의 ‘백신 비임상 평가 가이드라인(*Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines*)’에 나온다. 수행되는 비임상 시험은 (i) 사람에게 투여될 혼합백신이 새로운 안전성 문제가 일어나지 않을 것과 (ii) 동물의 면역원성 효과나 방어 효과 자료를 통하여 관련 질병에 대해 예방할 수 있다는 근거를 제공해야 한다.

비임상 연구에 사용되는 백신로트는 임상시험용 제제를 충분히 대표할 수 있어야 하며 가급적이면 임상시험과 동일한 로트를 사용해야 한다. 이것이 가능하지 않다면, 제조, 면역 활성/역가, 순도, 안정성, 기타 품질특징과 관련해 임상적으로 사용되는 로트와 비임상 시험에 사용되는 로트를 비교해보아야 한다.

### 7.2 독성시험

비임상의 독성시험은 임상시험을 진행하기 전 안전하다는 확증을 얻을 수 있도록 계획해야한다. 백신의 잠재적 독성을 평가하기 위해서는 1종 이상의 동물을 이용하여야하며, 주요 장기의 조직병리학적 평가를 수행하여야한다. 이 시험에서는 국소염증반응, 전신독성, 면역체계에 대한 영향의 가능성에 대해 조사가 이루어져야 한다. 사용된 동물 종은 백신의 생물학적 효과와 독성에 민감한 종이어야 한다. 가능하면, 예정된 임상시험에서 사용될 최고용량을 동물모델 대상으로 평가해야 한다. 최종제제(항원과 면역증강제 포함)에 관한 독성 연구는 WHO의 ‘백신 비임상 평가 지침서(*Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines*)’에 따라 실시해야 한다. 독성 연구가 필요할 경우, 설계 시에 예정된 백신의 임상용도를 고려한다. 이것은 유아, 어린이, 임산부, 가임기 여성처럼 특정한 집단에서 사용되는 백신에서 특히 중요하다. 독성 연구를 시작하기 전에 식약처와 상의할 것을 권장한다.

새로운 면역증강제를 사용하여 제조할 경우, 면역증강제를 포함한 최종백신 제제에



맞게 비임상 독성연구를 실시한다. 반복투여 독성 연구를 이용해서 새로운 면역증강제와 기존 백신 제제의 안전성 정보를 비교해도 된다. 이때, 기존의 지침서를 고려한다. 새로운 면역증강제에 대한 독성 데이터가 없다면, 일부 상황에서는 면역증강제에 대해서만 별도로 독성시험을 실시함으로써 도움이 되는 정보를 제공할 수 있다.

보존제나 첨가물 같은 새로운 첨가제를 사용하고자 한다면, 그 안전성을 시험을 통해 확인해야 한다. 새로운 보존제를 사용한다면, 제품 용도의 안전성과 유효성을 확인해야 한다. 새로운 첨가제를 사용할 경우, 개발하고자 하는 백신의 항원을 제거한 상태에서 첨가제의 안전성도 평가해야 한다. 새로운 첨가제가 모든 백신항원과 적합한지 확인하고, 동물모델에서 나타나는 특정한 항원과 첨가제 혼합물의 독성정보도 기록한다.

성분항원 중 한 가지를 생산하는데 새로운 세포기질(즉, 이전에 허가되지 않았거나 사람에게 사용된 적이 없는 기질)이 사용될 경우, 숙주세포 유래 단백질에 의한 예상치 못한 면역반응에 대한 안전성을 고려한 적절한 동물모델을 대상으로 시험해 보아야 한다.

투여경로에 차이가 있다면 적절한 동물의 독성 시험과 함께 백신의 면역원성 평가가 필요할 수도 있으며, 이때 기존의 지침서를 참고한다.

### 7.3. 면역원성/역가

사람을 대상으로 임상시험을 시작하기 전에, 혼합백신을 다른 방법으로 혼합하거나 재구성 하였을 때 이 혼합백신이 적절한 동물모델(가능하다면)에서 적절한 면역원성을 보이는지 시험해 보아야 한다. 적절한 동물 모델을 이용한 면역 연구는 백신의 비임상 개발 중에 중요한 정보를 제공할 수 있다. 이와 관련해, 백신에 들어있는 각 항원에 대한 면역반응을 평가해야 하며, 여기에는 반응의 질, 간섭 가능성, 혼합항원 적합성이 포함된다. 가능하다면 반응이 증가하는지, 감소하는지를 정할 때 동물의 개별항원(또는 개별항원의 수가 더 적은 기허가 백신)과 비교하여 새로운 혼합백신을 연구하는 것이 좋다. 이런 시험에는 한 가지 또는 그 이상의 백신성분을 평가할 수 있는 동물모델을 사용하도록 권장한다.

동물모델의 면역원성 시험은 면역증강제 혼합의 최적화 및 항원의 면역특성 평가와 관련해 중요한 정보를 제공해줄 수 있다. 이러한 면역원성 시험은 일부 항원에 대한 중화항체의 생성과 직접 항원을 투여하여 질환방어 효과도 알 수 있다. 하지만, 경험적으로 볼 때 동물모델의 데이터로 인간의 질병을 예측하는 외삽법은 신중하게 접근해야 한다. 다음 사항은 비임상 연구 중 면역원성 평가 시 고려해야 하는 요소들이다.

- 비임상 연구 시 임상연구에 사용된 백신과 동일한 방법으로 제조된 면역증강제와 항원으로 만든 백신을 사용해야 한다.
- 개발하고자 하는 백신의 각 항원에 대한 생성된 항체가와 이미 기허가된 대조 백신(가급적이면 많이 사용되어진 제품이나 유효성이 확실히 입증된 제품)의 항체가를 직접 비교해 보아야 한다. 주요 제조공정이 변하여 시험을 할 경우 개발백신과 기허가 백신과 비교해 보아야 한다. 기허가된 대조 백신의 경우 단가백신 또는 개별항원의 개수가 적은 백신도 가능하다. 일부 혼합백신의 경우 각성분을 비교하고자 할 때 한 개 이상의 대조백신을 사용할 수 있다.
- 면역반응에 대한 깊이 있는 분석이 필요한지 평가해 보아야 하며, 가능하다면 중화항체 반응이나 세포성 면역에 대해 평가할 수 있다.
- 개발하고자 하는 백신에 면역 증강제를 혼합한다면, 면역 증강제 사용에 타당한 면역원성 근거자료가 있어야 한다. 이 면역원성 자료에는 체액성 면역 또는 세포성 면역원성 평가 자료를 포함할 수 있다. 면역증강제를 사용한 개발백신은 적절한 대조백신과 서로 비교해 보아야 한다. 이미 널리 사용되고 있는 알루미늄 흡착체를 대체하고자 하는 새로운 면역증강제를 사용할 경우, 적절한 동물군을 신중하게 고려해야 한다. 이 대조군에는 항원만 투여하는 군과 알루미늄 흡착제를 사용하는 항원을 투여하는 군을 설정할 수 있다.

## 8. 혼합백신의 임상 평가

### 8.1 서론 및 범위

본 장에서는 새로운 혼합백신과, 제조공정에 유의한 변화가 있는 기존백신에 대한 임상시험 설계 및 평가에 대한 내용을 포함한다. WHO의 '백신 임상평가 가이드라인 : 규제기관 기대사항(*Guidelines on clinical evaluation of vaccines : regulatory expectations*)' 및 '백신 임상평가 가이드라인(2017)'을 준수해야 한다. '6. 혼합백신의 비임상 평가'에서 논의된 바와 같이, 임상 프로그램을 시작하기 전에 적절한 비임상 연구가 선행되어야 하며, 임상 프로그램의 내용과 범위는 고려 중인 특정 혼합백신, 그리고 백신성분과 유사백신에 대한 사전 임상경험에 따라 달라진다. 임상시험에서 백신특유의 요구사항은 각 해당 제품의 특성에 따라 달라질 수 있다.

관련 내용은 특히 디프테리아와 파상풍 독소이드가 함유된 혼합백신의 임상평가를 기준으로 작성되었으며, 현재 기 승인된 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에는 백일해(전세포나 무세포), Hib 접합백신, 불활화 폴리오, B형 간염 등의 추가성분이 하나 또는 그 이상 포함되어있다. 본 문서는 현재 사용 중인 혼합백신을 중점적으로 다루고 있으나, 개발될 새로운 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에 추가될 가능성이 있는 새로운 항원에는 일반원칙 및 절차가 적용된다.

디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신 임상개발 주된 목표는 혼합백신의 안전성과 백신에 함유된 각 성분의 면역원성을 평가하는 것이다. 일반적으로 임상개발 시 비교 임상을 포함해야 하는데 본 가이드라인의 7.2에서 이러한 비교임상에 대한 전반적인 설계와 대조백신의 선택에 대한 내용이 기술되어 있다. 새로운 혼합백신의 안전성과 면역원성의 평가는 무작위 대조군 시험을 통해 새로운 혼합물의 항원이 한 개 이상 포함된 기허가 백신의 안전성 및 면역원성과 비교해 보아야 한다. 무작위 대조군 시험에 너무 큰 비중을 둘 필요는 없다. 기허가 백신을 대조군에 포함시키면, 면역분석법을 비롯한 시험 절차와 방법의 적절성을 보장할 수 있고, 새로운 혼합백신으로 접종한 뒤에 예기치 못한 결과(예. 한 개 이상의 항원에 대해 낮은 면역반응이나 특정 이상반응의 비율 증가, 예기치 못한 이상반응)가 나오는 상황에서 해당 데이터를 쉽게 해석할 수 있다.

혼합백신의 임상시험의 경우, 그 평가는 새로운 혼합백신의 성분 및 특징에 의해 좌우되며, 면역학적 간섭 및 반응원성 증가가 일차적 고려 대상이다. 혼합백신의 경우 최종 혼합액에서의 면역학적 간섭 및 반응원성 증가를 평가해야한다. 안전성 연구를 할 때는 혼합백신의 투여가 개별로 투여되는 백신보다 반응원성이 우위인지를 평가해야 하며, 유익성-위해성 평가(risk-benefit considerations)에 필요한 적절한 안전성 데이터 베이스를 역시 구축해야한다.

혼합백신의 면역원성에 관련한 일차적인 고려사항은, 혼합백신의 항원 간에, 면역원성 반응에 영향을 주거나 또는 방해하는지 여부와 그 반응의 정도이다. 일부 백일해 성분을 조제 이전 제품 상태(pre-formulated products)로 투여하거나 백신을 주사 직전에 혼합하여 투여하는 경우에, 일부 다당류 접합 항원에 대한 면역 반응에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다(예, PRP-T와 일부 정제 백일해 성분을 함유하는 혼합 백신에서 b형 *Haemophilus influenzae* 접합 백신 반응).

드물게 예외는 있으나, 현재 기허가된 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신의 경우, 포함된 항원에 대해서는 임상 유효성을 직접 측정하는 건 비현실적이거나 불가능한 일이다. 따라서 임상의 유익성을 증명하기 위해, 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신의 면역원성 평가가 적절한 평가방법으로 용인되어 왔다.

디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신의 일부 성분은 방어에 대해 혈청학적 지표가 설정되어 있으므로, 면역학적 평가변수를 선정하고 데이터를 해석함에 있어 용이하다. 면역원성을 평가하기 위해서는 분석법, 임상 설계, 그 검증에 있어, 적절성이 수반되어야 한다(세부 내용은 7.3 참고). 개발되는 혼합백신의 특성에 따라 임상시험을 위한 면역분석법의 선별 및 그 평가는 결정되어야 한다. 안전성과 면역원성 데이터는 혼합백신에만 국한된 특별한 사항이 아니며, 새로운 혼합백신이 기허가 백신과의 병용 투여를 판단할 수 있는 필수적인 평가 사항이다.

면역간섭 현상의 임상적 유의성이 항상 명확한 것은 아니지만, 병용투여를 하면 하나 이상의 병용투여 항원에 대해 면역반응이 낮아질 수도 있다(immune interference, 면역간섭).

병용투여 시, 접종된 단백접합백신의 운반체인 단백질이 혼합백신 항원의 하나와 연관되어 면역반응이 과장되어 나타나는 경우가 있다.

상호작용이 다양하게 나타날 수 있으므로, 백신의 병용 투여 시에 일차적 평가에

대해서는 임상 초기단계에 판단되어질 수 있다. 그러나 단순히 임상 초기단계에서만 아니라, 시작 및 시판 후 조사, 즉 모든 단계를 통해 그 데이터를 수집해야 한다.

## 8.2 시나리오와 임상시험 설계

### 8.2.1 임상개발 계획 시 고려사항

새로운 백신의 임상은 일반적으로, 소규모 안전성/면역원성 연구로 시작하여, 후에 대규모 연구를 수행한다.

새로운 항원이 포함된 소아백신의 경우에는 성인을 대상으로 안전성 및 면역원성 예비평가를 한 뒤에, 성인에서 연령대를 단계적으로 낮추어 진행하는 게 적절할 수 있다. 이런 연구를 평가할 때 염두에 두어야 할 점은 안전성과 면역원성은 연령, 감염 이력, 접종 이력에 좌우될 수 있다는 것이다.

임상시험을 시작하기 위해서는 제조업체는 혼합백신의 주성분 선별과 시험설계에 대한 타당한 근거를 제시해야 한다. 이전의 개별 백신성분 경험, 비임상 연구 경험, 용량범위 임상시험을 토대로 혼합백신의 각 성분에 대한 용량 설정의 과학적 근거가 제시되어야 한다. 모든 경우에 있어서, 개발되는 혼합백신의 비임상시험 및 제조에 관한 과학적 근거가 제시되어야만 임상시험을 시작할 수 있다.

1차 표적 집단을 대상으로 한 임상시험을 비롯하여 최소한 일부 임상시험은 시판용 백신과 동일한 공정을 사용하여 제조된 다양한 로트의 백신을 이용하여 실시해야 한다. 임상시험에서 사용되는 백신 로트에 대해서는 생산 시의 그 일관성을 입증하여야 한다. 임상시험에 사용되는 백신 로트는 비임상시험에서 평가된 로트와 동일한 것이 좋으며, 시판용 제제를 충분히 대표할 수 있어야 한다. 이것이 가능하지 않다면, 임상적으로 사용된 로트를 제조공정, 면역원성/역가, 안전성, 안정성, 기타 관련된 품질 특성과 관련하여 비임상시험에서 사용되는 로트와 비교해 보아야 한다. 로트의 일관성 평가를 위해 공식적인 임상시험이 항상 필요한 건 아닐 것이나, 일부 경우에는 생산 일관성을 뒷받침하는 근거를 제시하기 위해 임상 데이터가 필요할 수도 있다(예. 제품의 생산 일관성에 관해 특별한 우려가 있을 때). 여기서 염두에 둘 점은 생산 일관성의 증거를 제시하는데 사용하는 임상 데이터가 비임상 평가를 실시하는

동안 제조공정의 일관성을 입증할 필요성을 대체하지는 못한다는 점이다. 임상개발 프로그램 후기 단계에서는 각 면역원에 대한 여러 배치의 원액을 이용하여 제조한 여러 로트의 시판용 혼합백신을 사용해야 한다. 새로운 성분을 사용한 혼합백신은 기허가된 성분을 사용한 혼합백신 보다 더 많은 로트를 사용하여 시험하여야 한다. 임상개발 후기 단계에서 사용할 로트의 구성을 정할 때는 식약처의 자문을 받는 것이 좋다.

### 8.2.2 새로운 혼합백신에서 나타날 가능성이 있는 시나리오 개요

새로운 혼합백신은 많은 임상결과가 축적된 기허가 백신과 직접 비교해 보아야 한다. 후기 임상개발 단계에서 가장 적절한 시험 설계는 보통 표적 연령군을 대상으로 한 무작위 대조군 시험이다. 대조제품 선택은 식약처와 논의하여야 하며, 이때 시험군, 제안된 접종일정, 후보백신의 전체 항원 구성, 비교측정 백신에 대한 이전의 임상경험을 고려해야 한다. 일부 제품의 경우에는 모든 성분항원에 대한 적절한 임상평가에, 병용 투여된 비교측정 백신이 한 개 이상 필요할 수도 있다. 이 경우에는 이러한 기허가 백신을 동시투여(별개의 주입부위)에 권장하는지 여부, 혹은 투여 시 시차를 두어야 하는지 여부(다른 일수로)를 고려할 필요가 있다.

표1은 새로운 혼합백신 개발 시 가장 흔히 사용되는 임상평가 시나리오다. 새로운 혼합물은 새로운 항원의 추가, 동일 적응증에 대해 한 항원을 다른 항원으로 대체, 항원 제거, 제조나 조제에 유의한 변화 등 기존 혼합백신의 여러 변화유형에서 비롯될 수 있다. 게다가 새로운 제조업체는 기존에 이미 승인된 혼합물과 구성이 비슷한 백신의 생산을 시작하고 싶어 할 수도 있다. 여기서 특별히 다루지 않는 시나리오가 발생할 수 있음에도 불구하고, 이러한 새로운 상황에는 본 자료에 기술된 일반원칙이 적용될 수 있어야 한다. 각 시험에서 제조업체들은 비교측정 백신의 선택, 시험설계, 안전성과 면역원성 평가변수에 대한 근거를 제시해야 한다.

비교 임상시험은 안전성과 면역원성을 적절히 평가할 수 있도록 설계되어야 하며, 이상반응의 비율과 백신의 각 항원에 대한 면역반응과 관련해 적절한 평가변수를 사전에 명시해야 한다. 이런 평가변수 문제는 ‘7.3 면역원성’과 ‘7.4 안전성’에서 다룬다. 다음에 기술된 시험설계가 안전성과 면역원성 평가에 모두 적용됨에도 불구하고, 평가방식이 점점 복잡해지므로 표1에 면역반응평가에 대한 보다 세부적인

내용을 제시한다.

표 1. 새로운 혼합백신에서 나타날 가능성이 있는 시나리오 개요

카테고리	시나리오	사례	제안된 설계
항원 추가	2개 이상의 기허가 제품 혼합(예. AB+C→ABC)	기허가 IPV를 기허가 DTwP-HepB에 추가	ABC 면역반응을 별도로 투여한 기허가 백신 AB와 C에 대한 면역반응과 비교.
	기허가 제품(AB) 한 개와 새로운(미허가) 백신 항원 (C) 한 개를 혼합 (예. AB+C→ABC)	새로운 미허가 항원을 기허가 DTaP-HepB에 추가	ABC의 항원 A와 B에 대한 면역반응을 별도로 투여한 기허가 백신 AB에 대한 면역반응과 비교. 새로운 항원 C에 대한 반응은 C에 적절한 기준을 기반으로 함. C와 비교할만한 백신이 이미 허가가 났다면, C에 대한 반응을 기허가 제품과 비교해야 함. <sup>㉔</sup>
항원 교체	혼합물의 항원 한 개를 이미 허가된 항원으로 교체 (동일 백신성분에 대해) (예. ABC→ABC*)	기허가 DTwP의 wP성분을 기허가 aP성분으로 교체	ABC*의 A와 B 항원에 대한 면역반응을 A와 B가 함유된 별도 투여 기허가 백신에 대한 면역반응과 비교. 새로운 항원 C*에 대한 반응은 C*가 함유된 기허가 제품과의 비교를 기반으로 함.
	혼합물의 항원 한 개를 새로운 (미허가) 항원으로 교체(동일백신 성분에 대해) (예. ABC→ABC*)	기허가 DTaP의 aP 성분을 유전자 변경 aP 항원 (들)이 함유된 새로운 aP 성분으로 교체	ABC*의 A와 B 항원에 대한 면역반응을 별도로 투여한 기허가 백신 AB나 ABC에 대한 면역반응과 비교. 새로운 항원 C*에 대한 반응은 C*에 적절한 기준을 기반으로 함. C*와 비교할만한 백신이 이미 허가가 났다면, C*에 대한 반응을 기허가 제품과 비교해야 함. <sup>㉕</sup>
제조 및 조제의 변화	한 개 이상의 백신 항원함량의 증가나 감소 (예. ABC→AB <sub>c</sub> )	디프테리아 독소이드 함량 감소	AB <sub>c</sub> 에 대한 면역반응을 구성이 맞거나(가장 유사한) 기허가 제품에 대한 면역반응과 비교함. <sup>㉖</sup>
	면역증강제, 보존제, 기타 첨가제의 성질과/이나 함량 변화 <sup>㉗</sup>	새로운 면역증강제 도입 <sup>㉘</sup>	시험용 백신에 대한 면역반응을 승인된 공정으로 제조된 기허가 제품에 대한 면역반응과 비교.
	한 개 이상의 개별백신성분 생산에 유의한 변화 발생 (예. ABC→ABC*)	냉동건조된 Hib-결합성분의 사용을 100 % 액체 제제로 변경	시험용 백신에 대한 면역반응을 승인된 공정으로 제조된 기허가 제품에 대한 면역반응과 비교.
항원 제거	한 개 이상의 항원 제거 (예. ABC→AB)	DTwP-Hib-HepB에서 HepB 항원 제거	AB의 항원 A와 B에 대한 면역반응을 기허가 백신 ABC에 대한 면역반응과 비교.
새로운 제조업체	새로운 제조업체가 다른 기허가 제품과 유사한 혼합물 생산	DTwP-Hib-IPV 새로운 제조업체가 생산	ABC에 대한 면역반응을 유사한 구성의 기허가 제품 면역반응과 비교함. <sup>㉙</sup>

주 :

㉔ 표1에서는 제조업체가 다른 제조업체로부터 구입한 한 개 또는 그 이상의 성분을 이용하여 최종백신을 조제한 경우를 특별히 다루지 않는다. 하지만, 성분의 출처는 전반적인 임상평가의 설계에 영향을 주지 않을 것으로 보인다.

㉕ 대조 백신의 선택을 비롯해 제안된 설계 이외의 시험설계를 사용해도 된다. 단, 근거가 있어야 하며, 식약처의 승인이 필요하다.

㉖ 항원함량을 줄일 경우, 항원 감소로 인해 임상적으로 면역원성이 대폭 줄어들지 않도록 임상시험 설계를 해야 한다.

㉗ 면역증강제, 보존제, 기타 첨가제의 변경 이유를 제시한다. 특히, 면역증강제의 변경사항을 평가하는 임상시험에서는 안전성과 면역원성 매개변수를 추가로 고려해야 할 수도 있다.

㉘ 백일해에 대한 보호 효과와 유도된 항체 농도 사이의 예측적 관계가 각 항원에 대해 확립되지 않아서 새로운 혼합물의 성분 중 하나가 무세포 백일해 백신일 경우 적절한 대조 백신을 선택하는 일이 특히 복잡하다. 따라서, 대조백신에 대한 상세내용은 WHO의 ‘무세포 백일해 백신의 품질, 안전성, 유효성 권고사항 (*Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines*)’을 참고한다.

### 8.2.3 일정과 투여군

대부분의 경우, 새로운 혼합백신은 유사 백신에 대해 이미 허가된 접종 일정에 따라 시험한다. 만일 프로그램상의 이유로 다른 일정이 필요하든지, 후보백신에 기허가 백신과는 상당히 다른 항원함량 및 면역증강제가 들어있을 경우 특정한 상황에서는 접종 일정에 대한 평가가 필요할 수 있다.

안전성과 면역원성은 해당 일정, 시험군, 항원구성, 병용투여된 백신의 성질에 따라 여러 백신에서 차이가 있는 것으로 보고되었다. 가능하다면, 혼합백신은 예정된 일정에 따라 표적군을 대상으로 평가해야 한다. 하지만, 현재 쓰이고 있는 모든 가능한 일정에 따라, 혹은 현실적으로 광범위한 지역에서 새로운 백신을 연구하는 것은 어렵다. 예를 들어, 특정 시험군 내에서 6주, 10주, 14주의 일정으로 백신접종을 받은 뒤 나타나는 면역반응 및



일부 이상반응 비율은 2개월, 4개월, 6개월 일정이나 3개월, 5개월, 12개월 일정으로 동일한 백신을 투여 받은 사람과는 차이가 있을 수 있다. 제조업체들은 제공된 임상데이터의 타당성을 입증해야 하며, 결과물의 외삽법 근거를 논의해야 한다. 일반적으로, 가장 제한적인 것으로 예상되는 일정(즉, 최소면역반응이 예상되는 일정)을 사용하여 1차 평가를 진행해야 한다. 하지만 특정 이상반응은 연령에 따라 발생하기 때문에 백신과 관련된 국부 및 전신 반응원성은 특정 시험군 내에서 일정에 따라 차이가 있을 지도 모르기 때문에 승인이 필요한 일정에 대해서는 여전히 안전성 데이터를 일부 수집할 필요가 있다. 모든 임상시험에서 시험군은 신중히 정해야 하며, 제조업체가 선정근거를 제시하고 승인을 받아야 한다.

#### 8.2.4 병용투여 백신

위에 나온 유형의 비교연구에 등록된 백신은 특성에 따라 권장되는 다른 기허가 백신과도 함께 사용될 수 있으며, 백신을 병용투여하면 예기치 못한 상호작용이 발생할 수 있다. 이런 병용 투여되는 백신이 시험 및 대조 백신의 안전성과 면역원성에 영향을 줄 수 있고, 시험백신이 다른 백신에 영향을 미칠 수 있으므로, 제조업체들은 WHO 지침서에 나온 바와 같이 병용투여의 영향을 평가하는 연구를 실시해야 한다. 실례로, 정제 백일해 성분이 b형 *Haemophilus influenzae* 접합 백신과 수막구균 C 1가 백신에 대한 항체 반응을 감소시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 이때 각 백신의 단독 투여와 비교하여 같이 병행 투여되는 항원에 대한 반응의 비열등성을 증명하는데 중점을 두어 평가한다. 비열등성 마진을 미리 규정하며 그 타당성을 증명할 수 있어야 한다.

어떤 환경에서는 동일 질병에 대해 기허가 백신이 여러 개 있을 수 있으며, 이 백신들은 시험용 백신과 동일한 일정으로 투여된다. 병용 투여할 수 있는 특정유형의 기허가 백신이 하나 이상 있다면, 임상시험에서 사용되는 특정 백신(들)을 선택할 때 권장되는 접종일정과 병용투여 가능성을 고려해야 한다. 이때, 선택에 대한 근거가 있어야 하며, 이를 식약처와 함께 논의한다. 별도로 투여한 기허가 백신(들)에 비해 새로운 혼합백신과 병용 투여했을 때 한 가지나 그 이상의 항원에 대한 면역반응이 더 낮게 나온다면, 허가 시에 사례별로 가능한 임상결과를 고려해야 할 것이다. 병용투여 시에 유해사례 발현율이 증가한다면, 혼합백신이 아무리 편리하다 하더라도, 혼합백신

허가 및 사용에 대해 고려해보아야 한다.

### 8.2.5 특수한 환자를 대상으로 한 연구

개인이 특정질환(예. 조숙증, 면역결핍, 중증 폐질환, 점액점착증)에 의해 질병에 취약하거나, 특정백신에 대한 낮은 면역 반응과 관련이 있는 기저질환 및 조건이 있을 수 있다. 이처럼 위험성이 큰 시험군을 대상으로 특별히 새로운 혼합백신의 안전성과 면역원성을 평가하기 위해 임상시험을 실시해도 된다. 보통 허가 후에 특수한 환자를 대상으로 임상시험을 실시하고 있다.

## 8.3 면역반응 평가

### 8.3.1 면역원성 연구의 설계와 범위

면역원성 시험에서 고려해야 할 사항은 새로운 혼합백신의 성질에 좌우된다. 하지만, 주된 우려사항은 보통 항원 간의 면역학적 간섭 가능성과 관련이 있다. 이 가이드라인은 잠재적으로 면역원성 평가가 필요한 다수의 항원이 사용된 다양한 혼합백신을 대상으로 하였다. 아래에서는 분석법의 선정과 이러한 평가의 평가변수와 관련하여 지침을 제공한다. 하지만, 어떠한 질병은 그 특성에 따라, 어린이, 청소년, 성인에 대한 추가접종이 질병 관리의 중요한 부분을 차지한다. 일부 경우에는 기초접종용으로 개발된 백신이 추가접종으로도 사용되는 반면에, 다른 경우에는 추가접종용으로만 개발된 백신이 있어서 8.3에서는 추가접종 시 사용되는 백신에 대한 평가 정보를 포함하고 있다. 또한, 최근 임부에 백일해 포함 혼합백신을 접종하는 경우 신생아에게 백일해 등의 면역반응을 감소시킨다고 알려져 있으므로 연구 설계시 이를 고려해야 한다.

### 8.3.2 항체반응 평가 분석

기허가 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에 사용되는 여러 항원에 대해서는 WHO 지침서나 권고사항 및 ‘백신 임상평가 가이드라인(2017)’을 준수하여

작성되었으며, 이 자료들은 성분항원의 임상평가에 가장 적절한 분석법과 평가변수에 관한 지침을 제공한다. 하지만, 다수의 혼합백신에 사용되는 일부 개별항원에는 이러한 지침서가 없다. 참고용으로 표2에 항원의 목록, 흔히 사용하는 분석법, 제안된 평가변수가 나온다. 하지만 WHO 지침서가 있다면 이 지침서를 우선으로 참고하여야 한다.

일부 항원의 경우에는 기초접종 시험을 평가하는데 사용하는 평가변수가 추가접종 시험을 평가하는 할 때에 적절하지 않을 수 있다. 예를 들어, 상당한 비율의 시험군이 접종 전에 기본 방어항체가를 초과하는 항체 농도를 보이는 경우이다. 이 경우에는 항체농도가 유의하게 증가한 피험자 비율을 측정함으로써 예방접종 반응을 평가할 수 있다. 이러한 차이를 반영하기 위해 기초접종과 추가접종 시험에 제안되는 평가변수가 표2에 제시되어 있다.

면역반응은 검증되고 표준화된 분석법을 이용하여 혈청에 있는 각 성분항원에 대한 항체농도 측정을 기반으로 평가해야 한다. 국제 참조품이 있다면, 실험을 통한 혈청 데이터의 비교가능성과 수용성을 향상시키기 위해, 면역원성 결과를 혈청 1 mL당 IU로 표시해야 한다. 제조업체에 의해 선택된 면역반응 평가 분석법은 선택에 대한 과학적 근거를 제시해야 한다. 대부분의 백신은 적절한 유효성을 평가하는 것이 현실적으로 어렵다. 따라서 검증된 정량분석법을 선택하는 것이 중요하며, 적절한 실험을 수행하기 위한 실험실의 밸리데이션 역시 검증되어야 한다. 검증시험은 분석법이 임상시험에 적절하다는 것을 입증할 수 있도록 설계해야 하며, 이때 백신들을 서로 비교하는 방법을 고려해야 한다(예. 평가기준이 초기 이후 역가가 역치 이상인 비율측정, 혈청전환율, 항체의 기하평균농도). 검증 보고서에는 내부 참조품의 보정, 그리고 검체, 참조 표준품, 시약의 처리와 보관에 관한 세부적인 설명이 들어가야 한다. 분석법 검증 데이터는 검토 후 승인을 받아야 한다.

임상 프로그램을 개발할 때는 백신성분에 의해 유발된 항체의 기능적 활성(functional assay)을 측정하는 것이 중요하다. 백신항원의 경우에는 면역원성 평가를 위해 권장하는 방식이 기능적 분석법이다(표2). 다른 경우에는 비기능적 분석법(nonfunctional assay)이 1차 평가로 용인되어 왔다. 하지만 이 경우에는 가능하다면 기능적 분석법을 사용하여 비기능적 분석을 통해 면역반응을 의미 있게 평가할 수 있는지를 확인해야 한다. 여기서 염두에 둘 점은 일부 무세포 백일해 백신에 들어있는 일부 상용 항원에 대해서는 확인된 기능적 분석법이 아직 없다는

것이다.

세포 매개성 면역(CMI) 반응이 일부 감염에 대한 면역에서 하나의 역할을 수행할 수도 있다. 하지만, 접종 후 세포 매개성 면역(CMI) 반응을 평가하기 위해 면역분석법을 표준화하는 일은 힘든 일이라, 지금 현재 이러한 분석법은 허가를 뒷받침하는데 사용되지 않고 있다. 그럼에도 불구하고, 해당사항이 있다면 백신항원에 대한 면역반응의 모든 측면과 관련해 지식체계를 넓힐 수 있도록 세포 매개성 면역(CMI)에 대한 탐색적 평가를 권장해야 한다.

디프테리아 백신에 대한 항체반응을 측정하기 위한 분석법은 기능적 시험법(functional assay; 혈청 검체에서 디프테리아 독소의 독소 영향을 막는 디프테리아 항체의 능력을 입증하는 시험)과 비기능적 시험법(nonfunctional binding assay; 혈청 검체에서 디프테리아 독소나 독소이드에 결합하는 디프테리아 항체의 능력을 입증하는 시험)으로 구분된다.

Vero 세포 분석은 체외 독소중화(미세중화)검사로, 혈청에서 중화항체를 측정하는데 사용될 수 있으며, 디프테리아 백신에 대한 반응을 측정하는 표준정량법(gold standard method)으로 간주된다. 이 방법은 밸리데이션 시험의 일환으로 다른 체외 혈청 시험법의 타당성과 성능을 확인하는데 사용될 수 있다. 하지만 Vero 세포 분석은 세포배양설비와 다른 체외 혈청학적 시험법에 비해 상대적으로 많은 양의 혈청을 필요로 하므로 일반적으로 이용되지 않는다.

따라서 소량의 검체를 사용하는 체외 혈청시험법(in vitro serological assay)이 선호될 수 있으며, 자동화로 보다 신속하게 처리할 수 있어서 다량의 검체를 확인하는데 적합하다. 이러한 비기능적 시험법에는 ELISA, 이중항원 ELISA(double-antigen enzyme-linked immunosorbent assay, DAE), 이중 이중항원 시간차 형광 면역 분석법(dual double-antigen time-resolved fluorescence immunoassay, DA-DELFI), 수동 적혈구 응집시험(passive hemagglutination assay, PHA)와 독소 결합 억제시험(toxin binding inhibition assay, ToBI)을 포함한다. 비기능적 체외 혈청시험법은 Vero 세포 분석과 다양한 상관관계를 보여주므로 특히 기능적 항체 수준이 낮을 때 Vero세포 독소 중화 시험을 기준으로 적절히 검증되어야 한다. 선택된 방법은 승인이 있어야 하며, 가능하면, 백신의 임상평가 중 일부 단계에서 기능적 항체 반응을 측정하는 분석(예. 임상시험 검체의 일부를 분석)을

실시해야 한다.

디프테리아 항독소의 IU로 측정된 디프테리아 항독소(Diphtheria Antitoxin Human) 국제표준품은 독소중화검사 및 체외 면역분석법에 사용될 수 있다. ELISA와 다른 체외 혈청분석에 사용될 예정인 2차 참조물질은 모든 분석 결과를 ml 당 IU로 표시하는 독소중화검사를 사용하여 국제표준품과 비교하여 보정되어야 한다.

파상풍 백신에 대한 항체반응측정 분석법은 기능적 시험과 비기능적 시험법(혈청 검체에서 파상풍 항체가 파상풍 독소나 독소이드와 직접 경쟁하거나, 직접 결합하는 능력을 입증하는 시험)으로 구분된다. 기능적인 시험에는 기니피그나 쥐를 대상으로 한 체내 독소중화시험(in vivo TNT)이 있다. 이 체내 분석법은 독소/항독소 혼합물을 피하주사로 동물에게 주입하는 다소 까다로운 절차이다. 이 절차에는 전문시설이 필요하며, 비용이 많이 들고, 비교적 대량의 혈청을 요한다. 결과적으로 이 방법은 백신 임상시험에서 흔히 쓰이지 않는다.

그래서 검증된 체외 혈청시험을 선호하며, 이 방법은 속도, 적은 검체량, 손쉬운 사용법, 자동화 적응성으로 인해 대량의 혈청검체 시험에 더 적합하다. 현재 기능적인 파상풍 항체를 검출할 수 있는 적절히 검증된 체외분석법이 없으므로 상기 방법을 독소중화시험으로 사용하면 된다. 하지만 여러 체외혈청시험이 개발되어 검증되었으며 이 분석은 체내 독소중화시험(in vivo TNT)과 특히 항체수준이 높을 때 깊은 상관관계를 보인다. 이러한 분석법으로는 ELISA, 독소 결합 억제시험(toxin binding inhibition assay, ToBI)시험, 입자 응집 시험(particle agglutination test)이 있다. 이중항원 ELISAs(double-antigen enzyme-linked immunosorbent assay, DAE) 시험이나, 이중 이중항원 시간차 형광 면역 분석법(dual double-antigen time-resolved fluorescence immunoassay, DA-DELFA) 같은 방법들도 있으며, 이 방법들은 파상풍과 또 다른 하나 이상의 항원에 대한 항체반응을 동시에 평가하는 데에도 사용된다. 일부 실험실에서는 수동 적혈구 응집시험(passive hemagglutination assay, PHA)를 이용하기도 하나, 이 방식은 더 가변적이라 체내 독소중화시험(in vivo TNT)과의 상관관계가 적은 것으로 나타난다.

백일해 백신에 대한 항체반응측정 분석법은 특정 항원에 결합하는 항체 농도를 측정하는 방법(예, ELISA), 적용가능할 경우, PT 중화 항체가(예, CHO 세포 분석 방법) 또는 B. pertussis 응집 역가를 측정하여 기능성 생물학적 활성을 측정하는

방법으로 평가한다. 다만, 시중에서 판매되는 대다수 ELISA 키트 제품을 포함하여 진단과 역학 조사 목적으로 개발하여 최적화된 분석 방법은 백신 면역원성 시험에 필요한 성능 특성을 갖추지 못했을 가능성이 크다는 점을 생각할 필요가 있다. 예를 들어 백일해 성분 각각(예, PT, FHA 등)을 평가하는데 필요한 특이성과 기하 평균 농도(GMC)를 구하기 위한 정확성을 갖추지 못했을 수 있다.

기능적 시험법으로 PT 중화 항체와 전세포 B. pertussis 응집 항체를 분석하는 방법이 확립되었다. 백일해 백신의 보호 유효성과 직접적인 상관관계에 있는 기능적 한계치가 발견되지 않았지만, 안전성과 유효성이 증명된 것과 새로운 백신 제제를 전반적으로 비교하는데 중요한 변수라 할 수 있다.

항체 평가를 위해 선택된 방법은 계획한 목적에 따라 관련 검체를 이용하여 검증해야 하며, 승인이 있어야 한다. 가능하다면, 백신의 임상평가 중 일부 단계에서 기능적 항체 반응을 측정하는 분석(예, 임상시험 검체의 일부를 분석)을 실시해야 한다.

### 8.3.3 접종시험에 대한 면역원성 평가변수

기허가 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에 함유된 항원과 관련하여 표2를 보면 권장 분석법의 요약내용이 나오며, 기초접종 및 추가접종용 백신의 임상평가 1차 평가변수가 제시되어 있다. 이와 관련해서는 WHO 자료, 국가나 지역 지침서, 또는 참고문헌이 있으며, 보다 세부적인 정보를 원하면 이 자료들을 참고하면 된다.

표 2. 기초접종 및 추가접종 시험을 위한 면역원성 분석과 평가변수<sup>29)</sup>

항원	분석법	참고 자료	제안하는 1차 평가변수		설명
			기초접종	추가접종	
디프테리아 독소이드	미세중화 분석법 (베로세포)	(2, 31, 38-41)	비율 $\geq 0.01$ IU/ml 또는 $\geq 0.1$ IU/ml (설명 참고)	유의성 있게 증가하는 피험자의 비율 <sup>29)</sup>	보통 독소중화분석법을 선호한다. 중화분석법과 상관관계가 있는 것으로 나타난 항원결합분석법도 허용된다. 기초접종에서는 독소중화분석을 사용하고, 2차 년도에 추가용량을 투여하는 경우 ml당 0.01IU의 역치를 허용할 수 있다. 그렇지 않으면 ml당 0.1IU의 역치를 사용해야 한다. 추가접종의 경우, 역치수준이나 대폭 증가한 비율을 이용하려고 하면, 접종 전에 역치를 초과할 것으로 예상되는 비율을 고려해야 한다.
파상풍	ELISA	(3, 30)	비율 $\geq$ ml당	유의성 있게	마우스 중화분석법과 상관관계가 있는 것으로

독소이드			0.1IU	증가하는 피험자의 비율 <sup>㉔</sup>	나타난 항원결합분석법을 가장 흔히 사용한다.
전세포 백일해 <sup>㉔</sup>	1)응집분석법 2 ) P T 용 ELISA 3)다른 항원용 ELISA	(4, 42-45)	a)GMT/GMC b)4배 증가 비율	a)GMT/GMC b)4배 증가 비율 <sup>㉔</sup>	방어와 상관관계가 있는 값은 규정되어 있지 않다. 목표는 시험의 반응들과 각 분석법의 대조군들을 비교하는 것이다. a)와 b) 모두 공동 1차 평가변수로 권장한다.
무세포 백일해	백신에 든 모든 백일해 항원에 대한 ELISA <sup>㉔</sup>	(5, 42-45)	a)GMT/GMC b)4배 증가 비율	a)GMT/GMC b)4배 증가 비율 <sup>㉔</sup>	방어와 상관관계가 있는 값은 규정되어 있지 않다. 목표는 시험의 반응들과 각 분석법의 대조군들을 비교하는 것이다. a)와 b) 모두 공동 1차 평가변수로 권장한다.
비활성형 소아마비 백신	3개의 혈청형 각각에 대한 바이러스 중화 분석법	(46)	중화역가가 1:8 이상인 비율	a)GMT/GMC b)중화역가가 1:8 이상인 비율	중화항체가 있으면(역가 $\geq$ 1:8) 소아마비 타입 1, 2, 3에 대해 방어적인 것으로 간주한다.
b형 헤모필루스 인플루엔자 접합백신	ELISA (b형 헤모필루스 혈막 다당류 ; PRP)	(8, 47-49)	a)ml당 0.15 $\mu$ g 이상 비율 b)ml당 1.0 $\mu$ g 이상 비율	ml당 1.0 $\mu$ g 이상 비율	접종 후 anti-PRT 수치가 ml당 0.15 $\mu$ g이면 이를 최소방어수치로 간주한다. ml당 1.0 $\mu$ g의 접종 후 수치는 이후 1년간의 방어상태를 가리킨다. 기초접종의 경우, a)와 b) 모두 공동 1차 평가변수로 권장한다.
B형 간염 백신	B형 간염 표면항원 항체용 ELISA	(6)	ml당 10mIU 이상 비율	ml당 10mIU 이상 비율	

주 :

㉔ 표에 기술된 약어 - ELISA : 효소결합면역분석법, GMT : 기하평균역가, GMC : 기하평균농도, PT : 백일해 독소, PRP : b형 헤모필루스 인플루엔자 혈막 다당류인 polyribosyl-ribitol-phosphate, IU : 국제단위

㉔ 고도로 효과적인 전세포 백일해 백신에 대한 항체반응에는 본질적인 이질성이 있다. 하지만, 목록에 나온 분석법은 비교 면역원성 실험을 평가할 때 사용해도 된다.

㉔ 백일해 독소중화 분석법과 전세포 응집 분석법을 이용한 추가 근거 데이터를 권장한다.

㉔ 접종 전에서 접종 후에 이르는 항체농도의 증가 규모(예. 4배)는 사전에 규정하여 입증해야 한다. 접종 전 항체농도가 특히 높은 사람에 대해서는 증가규모가 적을 수도 있다.

### 8.3.4 1차 분석

1차 분석은 규정된 접종 이후의 항체반응을 기반으로 해야 한다. 추가 접종용으로 사용되는 백신의 경우, 이것은 보통 단일접종으로 이루어진다. 새로운 백신과 기허가 대조백신 간에 공통된 항원과 새로운 백신에만 있는 항원에 대한 면역반응은 공동 1차 평가변수로 설정해야 한다.

면역반응 평가의 적절한 시간간격을 정의하려면 시험목적에 고려해야 한다. 대부분의 경우, 새로운 백신의 임상시험은 최종투여 후 약 4주에 백신성분에 대한 항체 반응을 결정하기 위한 것이다. 하지만 혈청검체의 채취 시기는 근거를 제시한 후에 승인을 받아야 한다. 추가접종을 평가하는 시험에서 혈액검체는 대개 추가투여 후 4주에 채취하나, 경우에 따라서는 추가투여 2주 이내처럼 더 짧은 기간 안에 면역반응이 정점에 이를 수 있다. 따라서 무작위 소규모 인원을 대상으로 추가접종을 투여한 후에 4주 미만의 시점에서 면역반응을 탐색해야 유용한 정보를 얻을 수 있으며, 항원유발 반응 속도에 대해서도 이해할 수 있다.

비열등성 평가의 1차 변수, 미리 정해진 비열등성 한계, 비교시험의 전체 피험자 수 선택의 타당한 이유를 신중히 밝혀야 한다. 비열등성 기준의 엄격성과 관련해 고려해야 할 요소는 평가변수의 임상적 적절성, 예방되고 있는 질병의 중증도, 표적군의 취약성이다. 특히 취약한 시험군을 대상으로 하거나, 혈청학적 평가변수가 질병 방어와 상관관계가 많은 것으로 알려져 있다면, 중증질환이나 쇠약성 질환에 대해 더 엄격한 한계(limit)를 입증할 수 있다. 새로운 백신이 안전성이나 접종률 개선 면에서 상당한 편익을 주는 것으로 알려져 있다면, 덜 보수적인 한계를 고려할 수 있다. 비열등성 기준은 시험의 검체크기에 영향을 줄 것이므로, 타당성을 고려해야 할 수도 있다. 그러므로 다른 환경에서는 동일항원에 대해 다른 기준을 두는 게 적절할 수도 있다. 비열등성 한계를 설정할 때에는 순차적인 비교시험과 함께 시간이 흐르면서 면역원성이 감소되는 가능성도 고려해야 한다. 이러한 경우, 그 결과는 새로운 백신이 원래 허가된 백신에 비해 면역원성이 상당히 떨어질 수 있다는 것이다. 하지만 공동체 내에서 병원체 순환이 줄어든 뒤 자연적인 면역력의 상승이 없듯이, 백신의 면역성이 실제보다 낮게 평가될 수 있음을 염두에 두어야 한다.

일반적으로는 후보백신과 기허가 백신 간의 면역반응을 비교하는 시험이 필요한데, 일부 경우에는 동일한 분석법을 이용하여 이전의 방어 유효성 시험 중에 생성된 과거의 데이터와 비교함으로써 근거를 제공할 수도 있다.



기허가된 디프테리아·파상풍(DT) 포함 혼합백신에 함유된 대부분의 항원의 경우, 1차 평가는 백신에 반응하는 피험자의 비율이 될 것이다(표2에 규정된 대로). 보통, 이것은 사전에 지정된 역치에 이르는 피험자의 비율이다. 하지만 일부 백신의 경우 반응이란 면역반응이 접종 전 수준 이상으로 유의성 있게 증가하는(예. 4배 이상) 접종자의 비율로 설정할 수 있다. 반응자에 대한 대체정의를 제대로 입증할 수 있다면, 이러한 정의를 고려해도 된다. 시험군들은 사전에 규정된 적절한 비열등성 기준을 사용하여 비교해보아야 한다. 대개, 관찰된 차이(대조제품 - 새로운 혼합백신)의 95% 양측 신뢰구간 상한치는 대부분은 0.05나 0.10 미만이어야 한다.

일부 항원과 적응증의 경우, 공동 1차 분석(co-primary analyses)에서는 새로운 백신과 기허가 대조 백신의 면역 반응의 크기를 비교해 보아야 한다. 전세포와 무세포 백일해 백신을 평가할 때와 같은 국제적으로 용인되는 방어항체가 없는 경우 혹은 시험군의 다수의 피험자가 접종 전에 방어항체를 초과하는 경우 추가접종에 대한 면역 반응을 평가할 때 1차 평가변수를 두 가지 이상 설정하는 것을 권장된다. 각 백신에 대한 면역반응의 크기는 사전에 명시된 비열등성 한계를 설정하고 기하평균농도(GMC)나 기하평균역가(GMT)를 비교한다. 특히, 새로운 백신 대비, 대조 백신의 기하평균농도(GMC)나 기하평균역가(GMT) 비율의 95% 양측 신뢰구간 상한치는 대부분은 1.5나 2.0 미만이어야 한다.

평가변수를 접종 전후의 항체가 증가한 피험자수의 비율을 기반으로 할 경우에는 접종 전후의 혈액 샘플이 필요하나, 평가변수가 특정 역치에 이르는 피험자 비율을 기반으로 한다면 모든 피험자의 접종 전 혈액샘플이 필요하지는 않다. 하지만 임상시험의 평가변수를 평가하는데 접종 전후의 항체가 필요하지 않더라도 접종후의 항체가 증가를 설명하는데 도움이 되므로 접종 전 항체가에 대한 정보를 수집하는 것이 좋다.

항체 측정시험 중 우선순위를 정해서 여러 시험을 할 때나 추가적인 항체 측정시험을 할 때, 혈청의 양에 한계가 있어 일부 혈청을 선택하여 할 때는 샘플을 무작위로 배정하여 선택해야 한다.

혼합백신의 경우에는 면역원성 평가 시 많은 공동 1차 평가변수를 설정할 수 있다. 혼합된 항원에 대해 면역 간섭을 보일시 임상개발을 진행하거나 제품의 허가를 진행하기 전에 면역간섭에 의한 임상적 영향과 사전에 설정한 비열등성 기준을

충족하지 못하는 원인에 대하여 충분히 고려해 보아야한다.

### 8.3.5 2차 분석

대부분의 연구에서는 한 개 혹은 그 이상의 평가변수를 설정하여 보다 정확하게 면역반응에 대해 평가할 수 있어야한다. 새로운 백신과 기허가된 대조백신의 항체가의 크기가 1차 평가변수에 포함되지 않았다면, 2차 평가변수에서 고려해야한다. 면역반응 정도에 대한 측정은 미리 정해놓은 비열등성 한계를 이용하여 기하평균농도(GMC)나 기하평균역가(GMT)를 비교한다. 이때 비열등성 한계를 설정할 때는 근거가 있어야 한다.

### 8.3.6 기능적 항체반응의 평가

항원결합분석법(antigen-binding assay)을 이용하여 1차 평가변수를 설정하였어도 항체의 기능적 활성(functional activity)을 측정할 수 있다면 혼합백신을 평가하는데 중요한 역할을 할 것이다. 항원 또는 새로운 백신에 대한 사용 경험이 적은 경우에는 일부 시험군과 대조군을 대상으로 기능적 항체를 측정해도 좋을 것이다. 7.3.2에서 다룬바와 같이, 기능적 분석법은 밸리데이션 연구에서 중요한 역할을 하며, 그 덕분에 비기능적 분석법을 통해 의미 있는 면역반응 평가를 할 수 있음을 확인할 수 있다.

### 8.3.7 역 누적분포 곡선에서 나온 추가 정보

역 누적분포(RCD: reverse cumulative distribution curve) 곡선의 사용은 특정수치 이상의 항체농도를 가진 개개인의 누적비율을 보여주는 것이며, 시험백신과 기허가 대조 백신을 비교했을 때, 그리고 시간에 따른 항체량의 변화를 모니터할 때 특히 유용한 것으로 나타났다. 예를 들어, 역 누적분포는 방어임계값 미만의 시험군 비율을 보여주며, 추가접종 시기를 결정할 때 영향을 주는 데이터를 제공해준다. 역 누적분표를 사용할 때 각 시험군과 비교하는 것은 대개 정량적이며, 사실상 탐색적인 일이다. 이는 역 누적분표 곡선은 비교통계분석에 비교적 적합하지 않기 때문이다.

### 8.3.8 운반체 단백질에 대한 면역반응

현재까지, 기허가 다당류 접합백신에 사용되는 운반체 단백질에는 비독성 유전자변형 디프테리아 독소 분자(CRM197), 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 헤모필루스 인플루엔자의 단백질 D, *Neisseria meningitidis* 혈청군 B의 외막단백 복합체(OMPC)가 포함되었다. 경우에 따라 이러한 운반체 단백질에 대한 면역반응을 모니터링하는 게 적절할 수도 있다. 운반체로서 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드나 CRM197을 사용하는 접합백신을 투여하면 관련 항독소 항체량이 높아지는 것으로 나타났기 때문이다. 하지만, 이것은 지금까지 디프테리아 독소이드 및 파상풍 독소이드가 들어있는 백신을 사용하는 것이 일반접종을 대체하는 것으로 용인되지 않았다. 일반적인 영유아 백신(즉, 디프테리아 독소이드 및 파상풍 독소이드가 함유된 백신)과 함께 새로운 접합백신을 동시투여하면 항독소량이 많아질 수 있다. 일부 반응율의 증가는 높은 항독소량과 관련될 수 있으므로, 이러한 사용 환경에서 관찰되는 반응원성에는 세심한 주의를 기울여야 한다. 운반체 단백질에 결합된 혼합백신 항원의 반응은 동일한 운반체 단백질을 사용하는 다른 접합백신과 함께 투여했을 때 줄어든 수도 있다.

### 8.3.9 면역기억

혼합백신에 들어있는 일부 항원의 경우에는(예. 다당류 복합백신) 임상시험을 통해 영아 예방접종이 면역기억 반응을 보인다는 자료를 만들 필요가 있다. 이러한 자료는 새로운 백신의 추가접종에 대한 근거를 마련할 수 있다.

### 8.3.10 항체지속과 추가접종 시기

시간이 지남에 따른 항체농도의 감소는 불가피하므로, 기초접종 이후 다양한 시점에서 장기적인 면역지속력을 평가해야 한다. 일부 경우 임상 초기 단계에서 장기면역 지속력에 대한 자료를 제공할 수 있다. 시간이 경과함에 따른 항체가 감소를 그 자체의 면역손실이나 추가접종의 조짐으로 여겨서는 안 된다. 질병에 대한 방어 상태를 유지하기 위해 나중에 추가용량의 필요성을 평가하려면 유효성 평가와 함께 장기적으로 항체가를 고려해야 한다. 추가용량의 필요성과 시기를 정할 때는 역학조사

및 장기 모니터링을 토대로 한다(7.5).

## 8.4 안전성 평가

백신 안전성의 허가 전 평가는 임상 프로그램에서 상당히 중요한 부분이며, WHO의 ‘백신의 임상평가 지침서: 규제기관(*Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectation*)’의 일반원칙 및 ‘백신 임상평가 가이드라인(2017)’에 부합하도록 개발되어야 한다. 앞에서 언급한 바와 같이 안전성 평가도 설정된 목표에 맞게 비교연구로 진행되어야 한다(7.2). 또한 흔히 발생하는 이상반응과 발생률이 낮은 이상반응에 대해서도 적극적으로 모니터하도록 설계해야 하며, 중증 이상반응과 성분이 유사한 백신과 관련된 특정이상반응(예. 과도한 사지 부종, 저긴장-저반응 에피소드(hypotonic-hyporesponsive episode), 열성발작)도 적극적으로 모니터링 해야 한다.

허가 시 안전성 데이터베이스의 최소허용크기를 정할 때는 백신의 구성(모든 항원과 면역증강제 포함), 새로운 항원의 존재, 동일하거나 유사한 구성의 백신에 대한 과거 경험, 예방 중인 질병의 중증도, 백신 접종대상군의 규모를 고려해야 한다. 새로운 백신의 안전성 데이터를 만들 경우 피험자는 약 3,000 ~ 5,000명 정도로 정하는 것이 정하는 것이 좋으며 이는 약 1:1,000의 비율로 발생하는 이상반응을 발견할 수 있기 때문이다.

임상시험 시 대규모의 유효성 평가 대신 소규모의 면역원성 평가만 이루어질 경우 안전성 평가를 해야 하는 피험자가 면역원성 평가 피험자 수보다 많게 설정해도 된다. 허가 전 안전성 데이터의 규모는 제조업체가 적합한 근거를 바탕으로 승인을 받아야 한다.

디프테리아 백신을 투여 받은 뒤에 나타나는 이상약물반응의 빈도는 백신의 제형(예. 디프테리아 항원용량) 및 피험자 특성(예. 접종 전 이력, 이전의 백신 투여 후 경과시간, 연령, 접종 전 디프테리아 항체 수준)에 따라 다를 수 있다. 기초접종과 비교하여 디프테리아 독소이드를 이용한 추가접종 후에 국소적인 이상반응이 관찰되는 비율이 높기 때문에 추가접종과 관련된 안전성 평가에 각별한 주의를 기울여야 한다. 운반체 단백질로서 CRM197이나 디프테리아 독소이드를 함유된 다당류 접합백신과 동시에(또는 직후에) 디프테리아 백신을 투여하면 반응원성이 증가할 가능성이

있으므로 그에 대해서도 고려해야 한다.

디프테리아 접종 후 흔히 발생할 것으로 예상되는 이상약물반응으로는 접종부위의 통증, 홍조, 부종과 같은 국소이상반응 및 접종 후 발열반응과 같은 전신반응이 일어날 수도 있다. 허가 전 임상시험에서 중증 이상반응을 모니터해야 하지만, 중증 이상반응을 모니터하기 위해 시판 후 감시를 실시해야 한다.

파상풍 백신을 투여 받은 뒤에 나타나는 이상약물반응의 빈도와 중증도는 백신의 제형(예. 파상풍 독소이드의 양), 피험자 특성(예. 접종 전 이력, 이전의 백신투여 후 경과시간, 연령, 접종 전 파상풍 항체수준), 부수적인 백신과의 동반 사용에 따라 다를 수 있다. 이론적으로는 운반체 단백질로서 파상풍 독소이드가 함유된 다당류 접합백신과 동시에(또는 직후에) 파상풍 독소이드 백신을 투여하면 반응원성이 증가할 가능성이 있다. 기초접종 대비 파상풍 백신을 추가 접종한 이후 국부적으로 일부 이상약물반응이 대거 관찰된 적이 있다. 따라서 파상풍 추가접종 연구를 설계할 때는 안전성 결과에 영향을 미칠 수 있는 요인(예. 이전 용량 이후 경과시간)과 관련해 적절한 등록기준을 마련해야 한다. 등록절차는 백신의 접종 연령대를 두루 적절히 대표할 수 있도록 설계해야 한다. 안전성 데이터는 임상개발 기간 동안에 수집한다. 허가 전 임상 안전성 평가에는 대개 비교 안전성 데이터가 포함되며, 여기서 시험용 백신과 기허가 대조 백신을 비교한다. 빈번하게 발생하는 이상반응과 발생빈도가 낮은 중증 이상반응이 있는지 피험자를 세심히 모니터한다. 파상풍 접종 후 흔히 발생할 것으로 예상되는 이상약물반응으로는 접종부위의 통증, 홍조, 부종과 같은 국소이상반응과 접종 후 발열반응과 같은 전신반응이 일어날 수도 있다. 허가 전 임상시험에서 중증 이상반응을 모니터해야 함에도 불구하고, 파상풍 독소이드와 연관된 중증 이상반응(예. 아더스 반응, Guillain-Barré syndrome)은 상당히 드물게 나타나므로 대부분의 임상시험에서 확실히 평가하기가 힘들다. 따라서 중증 이상반응을 모니터링하려면 시판 후 감시도 실시해야 한다.

백일해 백신은 추가 접종의 안전성을 평가하는 시험 시에 이상반응 정보(예, 사지의 광범위한 부기 증상)을 자세하게 모니터한다.

이 외에도, 안전성 평가에는 예방접종을 통해 이득을 얻을 수 있는 고위험 피험자(예. 조산아, 만성질환자나 면역력이 약화된 피험자)가 포함되어야 한다. 이러한 시험군의 안전성은 대개 시판 후 연구를 통해 평가한다(7.5)

## 8.5 시판 후 연구 및 감시

기허가 백신의 유효성, 안전성, 품질 모니터링은 시판 후 감시와 시판 후 연구를 통해서도 이루어진다. 허가 후 모니터링의 목적은 일상적인 사용 조건 하에서 표적 집단을 대상으로 백신의 성능을 평가하고, 드물게 발생하는 이상반응을 모니터링하는 것이다. 특히, 정제 백일해 백신의 보호 효과에 대한 과학적 증거를 축적하고 가능한 경우에는 언제나 백신의 유용성에 대한 정보를 보고한다.

항체 지속성 및 추가접종 용량의 필요성을 평가하는 데는 시판 후 연구도 유용하게 쓰일 수 있다. 시판허가권자는 허가 시에 시판 후 감시 프로그램을 제시해야 한다. 이 프로그램은 시판승인용 특정 백신에 관한 품질, 안전성, 유효성 기준을 토대로 해야 한다.

많은 경우에, 포괄적인 시판 후 안전성 및 유효성 데이터는 제조업체만 수집할 수 있는 게 아니므로 제조업체와 보건기관 간의 긴밀한 협력이 필요하다. 수집된 모든 데이터는 정기적으로 식약처에 제출하며, 시판허가에 영향이 있다면 적절한 조치를 취해야 한다.

시판 후 감시는 상당히 드물게 발생하여 임상시험 동안 검출하기에 다소 무리가 있는 희귀한 부작용을 파악해낼 수 있는 유일한 방법일 수 있다. 안전성 데이터를 수집하려면 능동적이거나 수동적인 과정을 통해 감시를 실시할 수 있다. 중증이상반응에 대한 자발적인 보고(수동적인 감시)가 가장 많이 사용된다. 적극적인 시판 후 조사를 할 경우 백신의 효과에 대한 과학적 근거를 마련할 수 있다. 그러나 신뢰할 수 있는 데이터를 만들기 위해서는 질병의 발생 등을 추적할 수 있는 보건시설이 있는 지역이 좋다.

## 9. 참고문헌

1. Requirements for diphtheria, tetanus, pertussis, and combined vaccines (revised 1989). Annex 2 in: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fortieth report.* Geneva, World Health Organization, 1990 (WHO Technical Report Series, No.800).
2. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of diphtheria vaccines. In: WHO Expert committee on Biological Standardization. Sixty-third report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
3. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of tetanus vaccines. In: WHO Expert committee on Biological Standardization. Sixty-third report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
4. Recommendations for whole-cell pertussis vaccine. Annex 6 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-sixth report. Geneva, World Health Organization, 2007 (WHO Technical Report Series, No.941).
5. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-second report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
6. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-second report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
7. Recommendations for the production and control of poliomyelitis vaccine (inactivated). Annex 2 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-first report. Geneva, World Health Organization, 2002 (WHO Technical Report Series, No.910).

8. Recommendations for the production and control of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines, Annex 1 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-ninth report. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No.897).
9. Recommendations for diphtheria, tetanus, pertussis and combined vaccines (Amendments 2003). Annex 5 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-fourth report. Geneva, World Health Organization, 2005 (WHO Technical Report Series, No.927).
10. WHO manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines (document WHO/IVB/11.11). Geneva, World Health Organization (in press).
11. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. Annex 1 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-fourth report. Geneva, World Health Organization, 2005 (WHO Technical Report Series, No.927).
12. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. Replacement of Annex 1 of WHO Technical Report Series, No. 924.
13. Procedure for assessing the acceptability, in principle, of vaccines for purchase by United Nations agencies. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-first report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press). ([http://www.who.int/immunization/sage/1\\_WHO\\_ECBS\\_22Oct\\_after\\_endorsement.pdf](http://www.who.int/immunization/sage/1_WHO_ECBS_22Oct_after_endorsement.pdf)).
14. Immunization Practices Advisory Committee web site ([http://www.who.int/immunization\\_delivery/systems\\_policy/ipac/en/](http://www.who.int/immunization_delivery/systems_policy/ipac/en/), accessed 31 January 2013).
15. Dagan R et al. Reduced response to multiple vaccines sharing common protein epitopes that are administered simultaneously to infants. *Infection and Immunity*, 1998, 66(5):2093–2098.
16. FDA. Center for Biologics Evaluation and Research Clinical Review of Menactra (<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/Approved>).



proved Products/UCM218550.pdf). 2005:page 27.

17. Stickings P et al. Collaborative study for the calibration of a replacement international standard for diphtheria toxoid adsorbed. *Biologicals*, 2010,38(5):529–538.
18. Stickings P et al. Animal refinement and reduction: alternative approaches for potency testing of diphtheria and tetanus vaccines. *Procedia in Vaccinology*, 2011,5:200–212.
19. Winsnes R, Hendricksen C. Collaborative study for the validation of serological methods for potency testing of tetanus toxoid vaccines for human use (Part 1). *Pharmeuropa Special Issue Biol*, 2000,1:82–124.
20. Winsnes R et al. Collaborative study for the validation of serological methods for potency testing of diphtheria toxoid vaccine (Part 2). *Pharmeuropa Bio*, 2006,1:73–88.
21. Winsnes R et al. Collaborative study on a guinea pig serological method for the assay of acellular pertussis vaccines. *Pharmeuropa Bio and Scientific Notes*, 2009,1:27–40.
22. WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for vaccines (document WHO/IVB/11.03). Geneva, World Health Organization, 2011 ([http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/WHO\\_IVB\\_11.03\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/WHO_IVB_11.03_eng.pdf), accessed 31 January 2011).
23. WHO good manufacturing practices: main principles for pharmaceutical products. Annex 3 in: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Products. Forty-fifth report. Geneva, World Health Organization 2011(WHO Technical Report Series, No.961).
24. Good manufacturing practices for biological products. Annex 1 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second report. Geneva, World Health Organization, 1992(WHO Technical Report Series, No.822).
25. Guidelines on stability evaluation of vaccines. Annex 3 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-seventh report. Geneva,

- World Health Organization, 2007(WHO Technical Report Series, No.962).
26. Sawyer LA et al. Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine. *Vaccine*, 1994,12(9):851–856.
  27. WHO policy statement. The use of opened multi-dose vials of vaccine in subsequent immunization sessions (document WHO/V&B/00.09). Geneva, World Health Organization, 2000 (<http://www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF99/www9924.pdf>, accessed 31 January 2013).
  28. Aluminum hydroxide, adsorbed. Monograph 01/2008;1664. European Pharmacopeia. Strasbourg, Council of Europe, 2008.
  29. Note for guidance on pharmaceutical and biological aspects of combined vaccines (document CHMP/BWP/477/97). London, European Medicines Agency, 1998.
  30. Borrow R, Balmer P, Roper MH. The immunological basis for immunization series. Module 3:Tetanus update 2006. Geneva, World Health Organization, 2007.
  31. Scheifele DW, Ochnio JJ. The immunological basis for immunization series. Module 2 : Diphtheria update 2009. Geneva, World Health Organization, 2009.
  32. Assay of tetanus vaccine (adsorbed). Monograph 2.7.8. European Pharmacopeia. Strasbourg, Council of Europe.
  33. Assay of pertussis vaccine. Monograph 2.7.7. European Pharmacopeia. Strasbourg, Council of Europe.
  34. Assay of diphtheria vaccine (adsorbed). Monograph 2.7.6. European Pharmacopeia. Strasbourg, Council of Europe.
  35. Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory authorities. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-first report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
  36. Guideline for good clinical practice. E6(R1). ICH Harmonized Tripartite Guideline 1996. Geneva, International Conference on Harmonisation of

Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1996.

37. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of pneumococcal conjugate vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixtieth report. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).
38. Di Giovine P et al. External quality assessment for the determination of diphtheria antitoxin in human serum. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2010,17(8):1282–1290.
39. Efstratiou A, Maple PAC. Diphtheria : manual for the laboratory diagnosis of diphtheria. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe,1994.[http://whqlibdoc.who.int/euro/1994-97/ICP\\_EPI\\_038\\_%28C%29.pdf](http://whqlibdoc.who.int/euro/1994-97/ICP_EPI_038_%28C%29.pdf),accessed 31 January 2013).
40. Miyamura K et al. Micro cell culture method for determination of diphtheria toxin and antitoxin titres using VERO cells. I. Studies on factors affecting the toxin and antitoxin titration. *Journal of Biological Standardization*, 1974,2(3):189–201.
41. Walory J, Grzesiowski P, Hryniewicz W. Comparison of four serological methods for the detection of diphtheria anti-toxin antibody. *Journal of Immunological Methods*, 2000,245(12):55–65.
42. Meade BD et al. Description and evaluation of serologic assays used in a multicenter trial of acellular pertussis vaccines. *Pediatrics*, 1995, 96(3):570–575.
43. Meade BD et al. Relationships between functional assays and enzyme immunoassays as measurements of responses to acellular and whole-cell pertussis vaccines. *Pediatrics*, 1995,96(3):595–600.
44. Tondella ML et al. International Bordetella pertussis assay standard-ization and harmonization meeting report. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States, 1920 July 2007. *Vaccine*, 2009,27(6):803–814.

45. Xing D et al. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2009,16(3):303–311.
46. Sutter RW et al. Defining surrogate serologic tests with respect to predicting protective vaccine efficacy: poliovirus vaccination. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1995,754:289–299.
47. Robbins JB et al. Quantitative measurement of "natural" and immunization-induced *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide antibodies. *Pediatric Research*, 1973,7(3):103–110.
48. Anderson P. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *Journal of Infectious Diseases*, 1984,149(6):1034–1035.
49. Peltola H et al. *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide vaccine in children: a double-blind field study of 100,000 vaccinees 3 months to 5 years of age in Finland. *Pediatrics*, 1977,60(5):730–737.
50. Horne AD et al. Analysis of studies to evaluate immune response to combination vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, 33 (Supple 4) : S306–S311.
51. Reed GF, Meade BD, Steinhoff MC. The reverse cumulative distribution plot: a graphic method for exploratory analysis of antibody data. *Pediatrics*, 1995,96(3):600–603.
52. Granstrom M et al. Scientific panel on childhood immunisation schedule: diphtheria-tetanus-pertussis (DTP) vaccination. In: ECDC guidance. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2009 ([www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu), accessed 31 January 2013).
53. Hanley JA, Lippman-Hand A. If nothing goes wrong, is everything all right? Interpreting zero numerators. *Journal of the American Medical Association*, 1983, 249(13):1743–1745.
54. Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products. Annex 2 in: WHO Expert Committee on Biological

Standardization. Forty-second report. Geneva, World Health Organization, 1992(WHO Technical Report Series, No.822).

55. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of DT-based combined vaccines. (revised 2012). Annex 2 in: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-third report. Geneva, World Health Organization, 2012 (WHO Technical Report Series, No.800).

56. 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부, 백신 임상평가 가이드라인 2017,6.

## “디프테리아, 파상풍 및 정제백일해 기반 혼합백신 평가 가이드라인”

---

발 행 일 2020월 11월

발 행 인 박인숙

편 집 위 원 김재옥, 임재현, 김도근, 지승완, 진미령, 김현국, 이은경,  
임종미, 배창준, 김병철, 이유림, 송주경, 신진영

도움주신 분

발 행 처 식품의약품안전평가원

---