·新药述评与论坛·

《中华人民共和国药典》2020 年版三部病毒性疫苗制品增修订概况

徐　莉[1],郭中平[2]

(1 国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022;2 国家药典委员会,北京 100061)

[摘要]　本文介绍了《中华人民共和国药典》2020 年版三部中病毒性疫苗制品相关的增修订情况,主要内容包括品种收载情况及新增品种概述、增修订品种及通则情况以及共性增修订内容等。对增修订的特点及原因进行分析,并提出了对下一步工作的建议,便于相关从业人员更好地理解和执行《中华人民共和国药典》2020 年版。

[关键词]　中华人民共和国药典;病毒疫苗;标准;黄热疫苗;狂犬病疫苗;脊髓灰质炎疫苗;通则

[中图分类号] R95　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2021)22－2024－05

Updates and amendments of viral vaccines in the Chinese Pharmacopoeia 2020

XU Li[1], GUO Zhong-ping[2]

(1 *Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022, *China*;
2 *Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing* 100061, *China*)

[**Abstract**]　This article reviews the updates and amendments of viral vaccines in volume Ⅲ of the Chinese Pharmacopoeia (ChP) 2020 edition, including a brief introduction to the newly added, updated and revised monography and general chapter and analysis of the features and reasons, and gives suggestions for the next step work. It is beneficial for better understanding and implementation of the Chinese Pharmacopoeia 2020.

[**Key words**]　Chinese Pharmacopoeia; viral vaccines; standard; yellow fever vaccine; rabies vaccine; poliomyelitis vaccine; general chapter

根据第十一届国家药典委员会全体会议通过的《中华人民共和国药典》2020 年版编制大纲,经各课题承担单位起草、复核和疫苗制品专业委员会审核,完成了《中华人民共和国药典》2020 年版三部病毒性疫苗的增修订,目前《中华人民共和国药典》2020 年版已正式出版,现将病毒性疫苗的主要增修订情况介绍如下,为新版药典的实施提供支持和参考。

1　品种遴选及收载情况

按照国家药品监督管理局官方网站可查询的信息,我国目前已上市的病毒性疫苗基本上已全部被收载入《中华人民共和国药典》2015 版,未收载的已上市病毒性疫苗为数非常有限。依照国家药品标准制修订工作程序和品种遴选原则,经第十一届药典委员会疫苗专业委员会和医学专业委员会从药学和医学两方面按照“安全有效、质量可控”审议确定,将黄热减毒活疫苗、冻干人用狂犬病疫苗(人二倍体细胞)、Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗(Vero 细胞)、口服Ⅰ型～Ⅲ型脊髓灰质炎减毒活疫苗(人二倍体细胞)等 4 个品种作为《中华人民共和国药典》2020 年版三部拟新增品种并立项开展标准研究,经相关课题承担单位的起草、复核和扩大验证后,提交第十一届药典委员会相关专业委员会审议通过,经国家药品监督管理局批准后正式收载于本版药典。

2　新增品种概述

2.1　黄热减毒活疫苗　该疫苗系采用黄热病毒减

[作者简介]　徐莉,女,助理研究员,主要从事生物制品技术审评工作。联系电话:(010)85242991,E-mail:xul@ cde. org. cn。

[通讯作者]　郭中平,女,研究员,研究方向:生物制品质量标准。联系电话:(010)67079561,E-mail:guozhongping@ chp. org. cn。

毒株接种鸡胚,经培养、收获组织、研磨、离心收获病毒上清液、加入适宜稳定剂冻干制成。用于预防黄热病。该品种目前仅由 1 家企业生产,已上市多年,已被《中华人民共和国药典》2015 年第一增本版收载,且在《欧洲药典》(EP)、《英国药典》(BP)、《美国药典》(USP)和《印度药典》(IP)均已收载。

相比于《中华人民共和国药典》2015 年版第一增补本,《中华人民共和国药典》2020 年版各论中做出 2 项修订,即将“2.3.1 接种鸡胚”的参数不再具体化,仅进行通用性描述;同其他相关疫苗产品,为进一步明确“热稳定性试验”系为生产企业对该产品上市后特定有效期内的稳定性预测而设定的、应在出厂检验时进行的检测项目,出厂后不再适合重复检测,将“3.4.7 热稳定性试验”由“成品出厂前应进行热稳定性试验”修订为“由生产单位在成品入库前取样测定”。

2.2 冻干人用狂犬病疫苗(人二倍体细胞) 该疫苗系采用狂犬病病毒固定毒种接种于人二倍体细胞,经培养、收获、浓缩纯化、灭活病毒后,加入适宜稳定剂冻干制成,用于预防狂犬病。国内首家冻干人用狂犬病疫苗(人二倍体细胞)系采用 Pitman-Moore 株狂犬病固定毒作为毒种,接种 MRC-5 细胞进行制备,于 2014 年获批上市,目前国内仅 1 家企业生产,多家企业处于研发或申报阶段。

本品于 2020 年首次收载入《中华人民共和国药典》。《中华人民共和国药典》2020 年版中本品相较于冻干人用狂犬病疫苗(Vero 细胞),质量标准除部分差异外,整体上基本一致。部分差异包括,冻干人用狂犬病疫苗(Vero 细胞)明确了毒种传代限定具体代次,并明确了毒种及病毒单次收获液的病毒滴度要求以及原液蛋白含量要求,冻干人用狂犬病疫苗(人二倍体细胞)仅规定应符合批准的要求,未明确具体传代限定代次和病毒滴度限值。另外,不同于 Vero 细胞,人二倍体细胞属于人源细胞,无需检测宿主细胞蛋白质残留量以及宿主细胞 DNA 残留量。

2.3 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗(Vero 细胞) 该疫苗系采用脊髓灰质炎病毒Ⅰ~Ⅲ型减毒株分别接种于 Vero 细胞,经病毒培养、收获、浓缩、纯化、灭活、按比例混合后制成。用于预防由脊髓灰质炎Ⅰ~Ⅲ型病毒导致的脊髓灰质炎。

该品种于 2015 年首次批准上市,是我国自主研发一类新药,具有良好的安全性和免疫原性,已纳入国家计划免疫程序。目前国内有 2 家企业生产,为《中华人民共和国药典》收载的第 1 个灭活的脊髓灰质炎疫苗,接种途径为肌内注射,用于预防儿童脊髓灰质炎病毒感染,避免了减毒活疫苗可能带来的疫苗相关病例的缺陷,提高了疫苗接种的安全性[1]。

目前国外药典收载采用脊髓灰质炎病毒强毒株 Salk 株制备的脊髓灰质炎灭活疫苗,不包括 Sabin 株制备的脊髓灰质炎灭活疫苗。2014 年版 WHO 指导原则脊髓灰质炎灭活疫苗收载了 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗内容[2]。

按照《中华人民共和国药典》2015 年版三部生物制品通则[3]、人用疫苗总论的要求,根据已上市 2 家品种的国家药品标准,参考 WHO 脊髓灰质炎灭活疫苗指导原则[2]及《中华人民共和国药典》2015 年版三部口服脊髓灰质炎灭活疫苗各论,综合已获批上市产品的注册标准,拟定了本品各论。目前国内上市使用的 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗研发按照 WHO 指导原则中脊髓灰质炎灭活疫苗要求进行,除 Sabin 株特有质量控制项目外,其他质量控制项目和质量标准与 WHO 指导原则中脊髓灰质炎灭活疫苗基本一致。

相较于口服脊髓灰质炎减毒活疫苗,本品毒种检定项目中对鉴别试验、病毒滴定的培养温度条件进行了修订;根据 WHO 及国外相关指南,在分枝杆菌检查增加了“也可采用经过验证的分枝杆菌核酸检测替代培养法”,家兔检查中增加了“经原代猴肾细胞制备毒种应作该项检查”,免疫原性检查中增加亚种子批,增加 Sabin 株基因鉴别试验,删除了 rct 特征试验。纯化液中设置比活性测定,灭活验证试验按照 WHO 指导原则进行。半成品检测细菌、真菌,并从体外效力(D 抗原含量测定)和体内效力(大鼠效力试验)两方面评估。成品检测包括进行鉴别、理化、安全性和生物学活性等项目的全面评估。

2.4 口服Ⅰ和Ⅲ型脊髓灰质炎减毒活疫苗(人二倍体细胞) 该疫苗系采用脊髓灰质炎病毒Ⅰ和Ⅲ型减毒株分别接种于人二倍体细胞,经培养、收获病毒液制成的二价液体疫苗,用于预防Ⅰ和Ⅲ型脊髓灰质炎。本品于 2015 年首次批准上市,目前国内由 1 家企业生产。《中华人民共和国药典》2015 年版收载的脊髓灰质炎疫苗口服制剂包括脊髓灰质炎减毒活疫苗糖丸(人二倍体细胞)、口服脊髓灰质炎减

毒活疫苗(猴肾细胞)和脊髓灰质炎减毒活疫苗糖丸(猴肾细胞)。欧洲药典、日本药典、印度药典和巴西药典收载的均为含Ⅰ~Ⅲ型的脊髓灰质炎病毒口服液体制剂。

基于 WHO 全球消灭脊髓灰质炎的计划,为消除由Ⅱ型疫苗株病毒引起的疫苗相关脊髓灰质炎病例(VDPV),我国自 2016 年 5 月 1 日起实施新的脊髓灰质炎疫苗免疫策略,停用三价脊髓灰质炎减毒活疫苗,用二价脊髓灰质炎减毒活疫苗替代三价,同时将脊髓灰质炎灭活疫苗(IPV)纳入国家免疫规划。口服Ⅰ和Ⅲ型脊髓灰质炎减毒活疫苗(人二倍体细胞,bOPV)与脊髓灰质炎减毒活疫苗糖丸(人二倍体细胞,tOPV)使用相同的生产用Ⅰ型和Ⅲ型脊髓灰质炎病毒株,且在半成品之前的生产工艺二者基本不变,质量控制要求保持一致。对于成品质量标准,其中外观、装量、抗生素残留和 pH 值《欧洲药典》未做规定。分型病毒滴度和热稳定性试验拟定的国家标准与欧洲标准一致。其他常规项目均符合我国药典的统一要求。具体质量标准方面,bOPV 与 tOPV 种子批毒种、单一收获液、单价原液检定项目及标准设置一致;半成品检定项目一致,但病毒滴度标准存在差异;成品检定项目方面,bOPV 与 tOPV 在病毒滴度、外观和装量差异质量标准方面存在差异,bOPV 较 tOPV 增加抗生素残留检定项和 pH 值检定项。

3 增修订品种情况

2020 年版药典对大部分《中华人民共和国药典》2015 版已收载且载入 2020 年版药典的预防类病毒性疫苗进行了修订。品种修订主要体现以下几个方面[1]:① 对质量标准和生产工艺控制描述进行了规范和简化。② 进一步优化了安全性检测方法。③ 完善病毒减毒活疫苗毒种免疫原性检查,结合药品注册管理要求逐步实现与国际标准的接轨。④ 明确全基因序列测定在减毒活疫苗质量控制中的应用和要求。⑤ 结合国家对疫苗上市后不良反应监测的相关要求及国家免疫规划的实施情况,取消疫苗使用说明内容的收载。

对质量标准和生产工艺控制描述进行了规范和简化,主要包括对品种制造部分生产工艺步骤和参数等内容进行修订,质量标准项目类别顺序进行调整,对检定项目进行修订等。

修订后的生产工艺内容通用性和普适性增强,具体包括如细胞制备的温度、培养基,病毒接种量、培养温度,病毒收获时间,病毒灭活工艺参数,种子批限定代次,单次收获液保存、原液保存等由《中华人民共和国药典》2015 年版中具体参数描述修订为通用性描述,如采用“适宜的”、“按批准的执行”等词句进行描述。其中特殊情况为在重组乙型肝炎疫苗(汉逊酵母)各论中新增了 1 种规格。

对质量标准项目顺序进行调整,主要为将单次病毒收获液由制造项下转移至检定项下,体现对制品质量控制要求的系统性。检定项目修订包括将热稳定性试验明确为在成品出厂前测定;基于国际上对铝佐剂含量标示的惯例,将氢氧化铝含量测定修订为铝含量测定,标准限度以铝含量作为标示。此外,增加乙型脑炎减毒活疫苗外观项下的相关描述;将森林脑炎灭活疫苗各论中牛血清白蛋白残留量由“ng·mL^{-1}”修订为“ng·剂$^{-1}$”,DNA 残留“pg·mL^{-1}”修订为“pg·剂$^{-1}$”,与国内外其他相关技术要求保持一致;流感全病毒灭活疫苗和流感病毒裂解疫苗血凝素含量要求由“应为配制量的 80% ~120%”修订为“应不低于标示量 80%”;流感病毒裂解疫苗卵清蛋白含量由“应不高于 500 ng·mL^{-1}”修订为“应不高于 200 ng·mL^{-1}”。

进一步优化了安全性检测方法。例如,对冻干人用狂犬病疫苗(Vero 细胞)品种的宿主细胞蛋白和 DNA 残留量检定方法优化及标准化。2020 年版药典采用新建立的 Vero 细胞蛋白质国家标准品作为标准品检测 Vero 细胞蛋白质残留量,根据研究数据,将残留限度由“ < 4.0 μg·剂$^{-1}$”修订为“ < 6.0 μg·剂$^{-1}$”;同时增订 Vero 细胞 DNA 残留量测定采用荧光定量 PCR(qPCR)法(通则 3407 第三法),该方法能准确定量且采用客观的结果判定方式并可区分片段大小。由于方法验证时尚未完全排除成品对检测方法的干扰,因此,2020 年版药典将该项检测纳入原液检定项进行检测,对应限度标准由“应不高于 100 pg·剂$^{-1}$”调整为“应不高于 3 ng·剂$^{-1}$”。

完善病毒减毒活疫苗毒种免疫原性检查,将冻干甲型肝炎减毒活疫苗、麻疹减毒活疫苗、腮腺炎减毒活疫苗、风疹减毒活疫苗(人二倍体细胞)等已收载减毒活疫苗各论毒种检定项下的免疫原性检查要求修订为“建立或变更主种子批时应确认主种子批的免疫原性,必要时应根据药品注册管理的相关要求开展相应的临床试验”。

依据生物制品通则《生物制品生产检定用菌毒种管理及质量控制》相关要求,明确减毒活疫苗各

论全基因序列测定的应用和要求。

4 增修订通则情况

新增黄热减毒活疫苗猴体试验检查法通则(“3307 黄热减毒活疫苗猴体试验”)。

疫苗效力测定方面,新增通则“3534 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗效力试验”。人用狂犬病疫苗效价测定在传统经典的 NIH 效力试验方法基础上,新增通则“3503 人用狂犬病疫苗效价测定法中第二法改良 NIH 法”,以备在特定情况下的疫苗检定使用。改良 NIH 法是在 NIH 法基础上采用参考疫苗和供试品单点稀释和结果判定的方法,可减少实验动物用量、降低实验人员的工作量和操作时间等。WHO 对于单一稀释法用于人用狂犬病疫苗的推荐意见是疫苗上市后,至少经过 2 年的连续考察及确认,当疫苗批间一致性良好、质量可控时,经国家监管当局批准,改良 NIH 法可用于上述企业生产的疫苗批签发的效价测定。当某批疫苗采用单一稀释法测定疫苗效价不符合规定时,应采用经典的 NIH 法进行复试和结果判定。

5 共性增修订内容

5.1 疫苗总论修订[4] 参考《欧洲药典》9.0 版[5]修订联合疫苗定义,修订辅料人血白蛋白来源要求,增订内包材的质控要求,半成品配制增加对多批原液合并的要求,半成品检测项目仅保留无菌检查和含铝佐剂相关项目检查。工艺杂质残留检测方面考虑 ICH[6]对工艺杂质按照与疫苗关键质量属性相关的工艺杂质和一般工艺杂质 2 类分别要求。新增对联合疫苗、标准物质的要求。参考 ICH 5C[7]更加明确稳定性评价的表述,便于实际操作。基于 2020 年版药典疫苗各论不再收载使用说明,因此,在总论中进一步明确说明书应符合国家相关规定等原则性要求。

2020 年版药典“人用疫苗总论”对于原液制备的关键修订内容是增订关于制备工艺参数设定的原则,即“原液制备的工艺步骤和参数的设定应基于工艺效能,纯化工艺的选择应兼顾抗原纯度、活性、残留物限度等因素,以获得最适的收获物和最少的工艺杂质为目标,工艺应经验证”。此外,半成品配制方面,明确了关于原液合批配制的相关原则,即“疫苗制品的生产设计应使相关设备的能力与生产规模相匹配,为保证上市产品的溯源和追踪,半成品配制原则上应来源于一批原液,不同批原液合批配制半成品的,应评估可能存在的风险并经批准”。

5.2 生物制品通则新增《生物制品通用名称命名原则》 为规范生物制品通用名称的使用,保证临床使用和流通过程中对生物制品的准确识别,以及对上市药品全生命周期追溯和药物警戒监管,根据我国生物制品实际情况,参照国际通用原则制定了“生物制品通用名称命名原则”,该原则对疫苗通用名称进行了进一步规范和细化,疫苗属于命名原则中尚无 WHO 国际通用名称(INN)分类的生物制品。

5.3 通则增修订 修订通则“3604 新生牛血清”。随着国内对人用生物制品生产用动物来源的生物材料安全性、有效性等问题越来越重视,疫苗生产企业对牛血清产品的质量要求越来越高,牛血清的质量控制工作也需进一步加强和提高。研制了用于新生牛血清血红蛋白含量测定用的国家标准品。对于支持细胞增殖检查,《美国药典》在细胞的种类和评价方法上均有更细化更全面的要求,而我国药典仅有在半贴壁细胞上的检测要求。2020 年版药典对“血红蛋白”和“支持细胞增殖检查”2 个项目进行了标准修订,力求进一步提高新生牛血清的质量控制工作,加强与国际标准接轨。

5.4 其他增修订 其他新增的相关生物制品通则、通则及指导原则包括:生物制品病毒安全性控制、3308 禽源性病毒荧光定量 PCR 检查法、3407 外源性 DNA 残留量测定法(第三法)、生物制品稳定性试验指导原则等。

6 小结

2020 年版药典在 2015 年版药典的基础上新增收载预防用病毒性疫苗品种数量进一步增加,质量标准紧跟科技发展前沿,不断提高且更加完善,与国际标准更加协调,更具合理性和可操作性。

2020 年版药典质量标准整体上与同类品种国际相关标准基本一致,但是基于我国国情,《中华人民共和国药典》较国际标准更加注重制品的最终放行检验,部分品种成品检测项目明显更多,在涉及与安全性相关的杂质控制限度要求高于 WHO 标准和《欧洲药典》等,且 2020 年版药典对杂质等检测项目纳入了新技术方法,可更好控制产品的安全性[9]。新增且完善了生物制品通用技术要求,全面覆盖已上市生物制品质量控制的各个环节。如参照国际通用名称命名原则,制定了生物制品通用名称命名原则[8],其中明确了疫苗品种的命名原则,由此可规范生物制品通用名称的使用,保证临床使用和流通过程中对生物制品的准确识别,以及对上市药品全

生命周期追溯和药物警戒监管。对各论体例、描述以及质量指标进行修订,与国际标准更加协调统一,且适用范围更广,对在研同类品种具有很好的引导作用。

与此同时,还应看到质量标准尚有进一步提高的空间,如目前减毒活疫苗滴度检测存在方法学差异,可考虑研究变更病毒滴度测定方法,以达到同国外检测方法接轨的目的。可考虑将全基因序列测定纳入病毒性疫苗各论项下毒种主种子批检定项目要求中。此外,疫苗效价测定法置信区间的完善也需进一步开展相关研究。

[参 考 文 献]

[1] 曹琰, 王晓娟, 赵雄, 等.《中国药典》2020 年版(三部)增修订概述[J]. 中国药品标准, 2020, 21(4):290 - 294.

[2] WHO. WHO TRS NO.993, Annex 3: Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated)[EB/OL].(2020 - 11 - 06). https://www.who.int/biologicals/vaccines/Annex_3_POLIO_vaccines_TRS_1024.pdf.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2015 年版. 三部. 北京: 中国医药科技出版社,2015:3 - 28.

[4] 王晓娟, 曹琰, 赵雄, 等. 2020 年版《中华人民共和国药典》三部人用疫苗总论增修订概况及建议[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(19):1561 - 1563.

[5] EDQM. EP 9.0[S]. 2017: 695 - 698.

[6] ICH. Guideline for elemental impurities Q3D(R1)[EB/OL].(2019)[2020 - 10 - 20]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322.pdf.

[7] ICH. Quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological/biological products Q5C[EB/OL].(1995)[2020 - 10 - 20]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q5C%20 Guideline.pdf.

[8] 郭中平,徐莉. 我国生物制品通用名命名原则的修订[J]. 中国生物工程杂志,2017,37(8):110 - 118.

[9] 朱凤昌,崇小萌,杨青,等. ICH Q3C 残留溶剂指导原则与中国药典残留溶剂控制策略[J]. 中国医药工业杂志,2021,52(9):1259 - 1262.

编辑:王宇梅/接受日期:2021 - 05 - 12