

新型冠状病毒灭活疫苗测定能力验证研究

高晓明, 徐康维, 鲁旭, 乔志中, 权娅茹, 李长贵*, 项新华* (中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要:目的 通过开展新型冠状病毒灭活疫苗 pH 值、渗透压摩尔浓度、铝含量的测定能力验证, 评价疫苗质控实验室及疫苗生产企业实验室的检测能力。方法 采用 F 检验和 t 检验对新型冠状病毒灭活疫苗样品开展均匀性和稳定性考察, 样品通过均匀性稳定性检验后冷链运输分发至各参加实验室。以 Z 比分数评价参加实验室的 pH 值、渗透压摩尔浓度、铝含量检测能力。结果 全国共有 30 家实验室参加本次能力验证活动, pH 值、铝含量考核结果均为满意, 2 家实验室渗透压摩尔浓度考核结果为不满意, 后经参加测量审核, 获得满意结果。结论 参加本次能力验证的省级疫苗质控实验室以及疫苗生产企业具有较好的检测能力和质控水平。

关键词: 新型冠状病毒; 疫苗; pH 值; 渗透压摩尔浓度; 铝含量; 能力验证

doi: 10.11669/cpj.2024.23.011 中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)23-2288-05

Proficiency Testing of Inactivated COVID-19 Vaccine

GAO Xiaoming, XU Kangwei, LU Xu, QIAO Zhizhong, QUAN Yaru, LI Changgui*, XIANG Xinhua* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the testing capability of the vaccine quality control laboratories and vaccine manufacturer laboratories which participated in the proficiency testing of pH, osmotic pressure molar concentration and aluminum content of inactivated COVID-19 vaccine. **METHODS** Samples of inactivated COVID-19 vaccine were tested for uniformity and stability by F -test and t -test, and then distributed to participating laboratories by cold chain transportation. The abilities of the participating laboratories for determination of pH, osmotic pressure molar concentration, and aluminum content were evaluated by Z ratio. **RESULTS** A total of 30 laboratories across the country participated in this proficiency testing, and the pH and aluminum content assessment results were all satisfactory, while the osmotic pressure molar concentration results of two laboratories were unsatisfactory. After participating in measurement audits, satisfactory results were obtained. **CONCLUSION** The provincial vaccine quality control laboratories, and vaccine production enterprises participating in this proficiency testing have good testing capabilities and quality control levels.

KEY WORDS: COVID-19; vaccine; pH, osmotic pressure molar concentration; aluminum content; proficiency testing

疫苗接种是预防传染病最好的方法之一。我国具备全部疫苗品种的完善供应体系, 目前有 46 家疫苗生产企业, 能够生产超过 60 种疫苗用以预防 34 种疾病, 年产能超过 10 亿剂^[1]。我国已经于 2014 年、2017 年和 2022 年三次通过了世界卫生组织 (WHO) 的疫苗国家监管机构 (National Regulatory Authority, NRA) 认证, 并按照 NRA-全球基准评估工具 (global benchmarking tool, GBT) 的要求^[2]对我国疫苗全生命周期进行监管。我国多家企业生产的多种类型新冠疫苗获得国家药品监督管理局附条件批准上市, 新冠疫苗种类包括灭活疫苗、腺病毒载体疫苗、重组蛋白疫苗、流感病毒载体疫苗、mRNA 疫苗等。新冠灭活疫苗通过了

WHO 的认证并被列入 WHO 紧急使用清单, 在我国接种人数最多, 同时应用在全球多个国家和地区预防和控制新冠疫情。

2020 年 12 月 11 日, 国家市场监督管理总局令第 33 号公布, 修订后的《生物制品批签发管理办法》^[3]旨在加强生物制品批签发工作监督管理, 规范生物制品批签发行为, 保证生物制品安全、有效。要求我国施行生物制品批签发制度对获得上市许可的疫苗采用资料审核、样品检验等方式进行监管, 中国食品药品检定研究院 (以下简称中检院) 承担了疫苗的批签发检验工作。疫苗行业快速发展, 为缩短批签发时间, 保证疫苗的供应, 我国加快省级药检机构的建设, 增加批签发授权机构^[4]。通过法律规

作者简介: 高晓明, 男, 学士, 主管技师 研究方向: 实验室质量管理; 徐康维, 男, 博士, 副研究员 研究方向: 病毒性疫苗的质量控制及相关研究。高晓明和徐康维为共同第一作者 * **通讯作者:** 李长贵, 男, 博士, 研究员 研究方向: 病毒性疫苗的质量控制及相关研究
Tel: (010)53852132; 项新华, 男, 硕士, 主任技师 研究方向: 实验室质量管理与能力评价 Tel: (010)53851353

定以及国家药监局的考核授权,逐步形成了以中检院为中心,围绕省级药检机构作为支持的疫苗质控网络实验室。2021年中检院对我国多家省级药检机构进行了新型冠状病毒疫苗检验相关培训,并进行了能力考核。北京市药品检验研究所、上海市食品药品检验研究院、湖北药品监督检验研究院等多家省级药检机构通过了国家药品监督管理局考核并获得批签发授权^[5]。

能力验证作为国际通行的手段,能够客观地考察参加实验室的质量控制能力。中检院为国家药监局指定的生物制品批签发机构,同时具备中国合格评定国家认可委员会(CNAS)认可的能力验证提供者(proficiency testing provider, PTP)资质,能够为社会提供结果可信的能力验证计划^[6-7]。pH值、渗透压摩尔浓度、铝含量是新型冠状病毒灭活疫苗的重要物理指标,为检验疫苗质控实验室及相关企业的检测质量水平,中检院于2022年组织实施最新一轮新型冠状病毒灭活疫苗pH值、渗透压摩尔浓度、铝含量的测定能力验证(编号:NIFDC-PT-351)。

本能力验证计划依照ISO/IEC 17043《合格评定能力验证提供者通用能力要求》实施^[8]。

1 材料与方法

1.1 能力验证样品

能力验证使用的样品为某企业提供的新冠灭活疫苗,中检院委托某物流公司冷链运输至各参加实验室。每参加单位发放1套。每套包含新冠疫苗供试品20支,西林瓶包装,为同一样品。

1.2 检验方法

pH值检测参照《中国药典》2020年版三部0631 pH值测定法,建议使用量:5支样品混合后测定3次,报告结果;渗透压摩尔浓度检测参照《中国药典》2020年版三部0632 渗透压摩尔浓度测定法,单位 $\text{mOsmol} \cdot \text{kg}^{-1}$,测定3次,报告结果;铝含量检测参照《中国药典》2020年版三部3106 氢氧化铝(或磷酸铝)测定法,单位 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[9]。建议使用量:5支样品混合后测定。要求参加实验室在收到样品后10个工作日内完成实验,并在能力验证网络平台上提交结果报告。

1.3 均匀性检验

由能力验证组织者开展实验,随机取样10个样品,将单支样品按照新型冠状病毒灭活疫苗渗透压摩尔浓度检测方法进行测定,每个样品测定3次,对

结果进行单因子方差分析(F 检验),显著性水平取0.05。如样品之间无显著性差异,则表明样品均匀。

1.4 稳定性检验

将样品委托某冷链物流公司,从北京以 $2 \sim 8$ °C冷链运输至广州、哈尔滨后,返回中检院,实验室 $2 \sim 8$ °C保存样品和冷链运输返回后样品均按照新型冠状病毒灭活疫苗渗透压摩尔浓度检测方法进行测定, $2 \sim 8$ °C保存和运输至广州、哈尔滨后返回的样品各检测5支,每支样品测定3次。对结果进行 t 检验,显著性水平取0.05。如正常保存和运输后样品之间抗原含量无显著性差异,则表明样品稳定。

1.5 统计分析方法及评价原则

依据GB/T 28043-2019/ISO13528:2015和CNAS-GL002-2018,采用中位值和标准化四分位距法对参加实验室报告的结果进行统计分析,参加实验室报告结果的中位值(med)作为本次能力验证计划的指定值(X),标准化四分位距($NIQR$)或连续性能力验证计划标准差作为能力评定标准差,计算各实验室结果的 Z 比分数(Z 值)。

对本次能力验证计划参加者的检测结果,按公式1计算 Z 值:

$$Z = \frac{x - X}{\sigma} \quad \text{公式(1)}$$

式中: x 为参加实验室测试结果; X 为指定值; σ 为能力评定标准差。

本计划以下列准则评价样品的结果,即:

$|Z| \leq 2$ 表明“满意”,无须采取进一步措施;

$2 < |Z| < 3$ 表明“有问题”,产生警戒信号;

$|Z| \geq 3$ 表明“不满意”,产生措施信号。

三项检测项目全部合格,结果判定为合格,有合格项和可疑项,结果判定为可疑,有不合格项,结果判定为不合格。

1.6 统计学分析软件

使用SPSS 20和Excel 2016软件对结果进行统计分析。

2 结果

2.1 均匀性检验结果

采用单因子方差分析(F 检验)对样品渗透压摩尔浓度均匀性进行评价(表1), $F(1.58) < F$ 临界值(3.02), P 值大于0.05,无显著性差异。上述结果表明样品均匀性满足能力验证的要求(表2)。

表 1 渗透压摩尔浓度 202203032C 批次单因素方差统计表。mOsmol · kg⁻¹

Tab. 1 Single factor analysis of variance(ANOVA) statistics of osmotic pressure molar concentration lot No. 202203032C. mOsmol · kg⁻¹

Lot No.	First time result	Second time result	Third time result	Average	Sum	Variance
202203032C-1	290	290	291	290	871	0.33
202203032C-2	286	288	289	288	863	2.33
202203032C-3	289	289	291	290	869	1.33
202203032C-4	285	288	289	287	862	4.33
202203032C-5	290	290	290	290	870	0.00
202203032C-6	285	286	290	287	861	7.00
202203032C-7	288	285	289	287	862	4.33
202203032C-8	286	286	288	287	860	1.33
202203032C-9	286	287	291	288	864	7.00
202203032C-10	285	287	290	287	862	6.33

表 2 202203032C 批次单因素方差分析表

Tab. 2 One-way ANOVA lot No. 202203032C

Difference source	Square sum	df	Mean square	F	Significance	F crit
Inter group	48.800	9	5.422	1.579	0.189	3.02
Within the group	68.667	20	3.433	-	-	-
Total	117.467	29	-	-	-	-

注: df - 自由度。

Note: df - degree of freedom.

2.2 稳定性检验结果

对正常保存样品和冷链运输后样品渗透压摩尔浓度进行比较。样品以 2 ~ 8 °C 冷链运输至广州或哈尔滨后返回中检院样品渗透压摩尔浓度平均值为 290 和 291 mOsmol · kg⁻¹, 正常保存的样品为

291 mOsmol · kg⁻¹(表 3), 冷链运输至广州或哈尔滨后返回中检院样品和正常保存样品渗透压摩尔浓度稳定性检验 P 值分别为 0.391 和 0.821。样品在运输前后抗原含量均无显著性差异, 表明样品稳定性可以满足能力验证的要求(表 4 ~ 6)。

表 3 202203032C 批次渗透压摩尔浓度运输稳定性测试结果。mOsmol · kg⁻¹

Tab. 3 Transport stability test results of osmotic pressure molar concentration lot No. 202203032C. mOsmol · kg⁻¹

Save condition	No.	Testing 1	Testing 2	Testing 3	Average	Overall average
2 - 8 °C normal storage	1	289	291	291	291	291
	2	292	294	294		
	3	288	290	290		
	4	289	291	293		
	5	290	290	292		
Cold chain transportation to Guangzhou	6	288	290	291	290	
	7	288	291	291		
	8	291	291	292		
	9	289	290	291		
	10	289	290	294		
Cold chain transportation to Harbin	11	291	291	292	291	
	12	291	292	292		
	13	288	291	293		
	14	290	290	293		
	15	289	291	292		

2.3 能力验证结果

本次能力验证共有 30 家实验室报名, 共收到 30 家实验室反馈的结果(2 家单位报名 2 次, 32 份结果), 28 家实验室结果为满意, 2 家实验

室渗透压摩尔浓度检测项目偏离中位值, 为不满意结果。不满意结果的机构通过整改, 参加测量审核, 获得测量审核满意结果。各实验室结果见表 7。

表4 正常保存与冷链运输至广州的独立样本检验

Tab. 4 Independent sample testing for normal storage and cold chain transportation to Guangzhou

Levene test for variance equation				t-test of mean equation				
F	Sig.	t	df	Sig. (bilateral) P	Mean difference	Standard error value	95% confidence interval of the difference	
							lower limit	upper limit
0.396	0.534	0.872	28	0.391	0.533	0.611 5	-0.719	1.786

表5 正常保存与冷链运输至哈尔滨的独立样本检验

Tab. 5 Independent sample testing for normal storage and cold chain transportation to Harbin

Levene test for variance equation				t-test of mean equation				
F	Sig.	t	df	Sig. (bilateral) P	Mean difference	Standard error value	95% confidence interval of the difference	
							lower limit	upper limit
1.195	0.284	-0.228	28	0.821	-0.133	0.585	-1.332	1.065

表6 pH值渗透压摩尔浓度铝含量检测结果汇总

Tab. 6 Summary of pH, osmotic pressure molar concentration, aluminum content testing results

Testing items	Sample size/pieces	Median value	NIQR	CV/%	Minimum	Maximum	Range
pH	32	7.4	0.074 13	1.00	7.4	7.5	0.1
Osmotic pressure molar concentration/mOsmol · kg ⁻¹	32	289	2.22	0.77	286	297	11
Aluminum content/mg · mL ⁻¹	30	0.47	0.01	1.58	0.45	0.48	0.03

表7 参加者的结果评价表

Tab. 7 Participant results evaluation table

No.	Code	Sample numbers	pH	Z (pH)	Osmotic pressure molar concentration/mOsmol · kg ⁻¹	Z (osmotic pressure molar concentration)	Aluminum content /mg · mL ⁻¹	Z (aluminum content)	Results
1	369	BC03510013	7.5	1.35	288	-0.45	0.45	-2.00	satisfied
2	123	BC03510014	7.4	0.00	291	0.90	0.46	-1.00	satisfied
3	453	BC03510017	7.4	0.00	289	0.00	0.48	1.00	satisfied
4	074	BC03510008	7.5	1.35	288	-0.45	0.47	0.00	satisfied
5	052	BC03510001	7.5	1.35	287	-0.90	0.47	0.00	satisfied
6	647	BC03510023	7.4	0.00	291	0.90	0.47	0.00	satisfied
7	469	BC03510005	7.5	1.35	291	0.90	1)	/	satisfied
8	906	BC03510025	7.5	1.35	297	3.60	0.45	-2.00	dissatisfied
9	382	BC03510007	7.5	1.35	288	-0.45	0.48	1.00	satisfied
10	517	BC03510012	7.5	1.35	287	-0.90	0.47	0.00	satisfied
11	660	BC03510004	7.4	0.00	289	0.00	0.47	0.00	satisfied
12	890	BC03510029	7.4	0.00	288	-0.45	0.46	-1.00	satisfied
13	755	BC03510003	7.4	0.00	289	0.00	0.47	0.00	satisfied
14	964	BC03510031	7.5	1.35	297	3.60	0.46	-1.00	dissatisfied
15	080	BC03510021	7.5	1.35	287	-0.90	0.47	0.00	satisfied
16	598	BC03510016	7.5	1.35	290	0.45	0.45	-2.00	satisfied
17	551	BC03510027	7.4	0.00	288	-0.45	0.47	0.00	satisfied
18	310	BC03510032	7.4	0.00	291	0.90	0.48	1.00	satisfied
19	785	BC03510019	7.4	0.00	287	-0.90	0.48	1.00	satisfied
20	397	BC03510028	7.5	1.35	288	-0.45	0.47	0.00	satisfied
21	538	BC03510018	7.4	0.00	290	0.45	0.47	0.00	satisfied
22	150	BC03510015	7.4	0.00	291	0.90	0.47	0.00	satisfied
23	839	BC03510030	7.4	0.00	290	0.45	0.46	-1.00	satisfied
24	116	BC03510009	7.4	0.00	289	0.00	0.46	-1.00	satisfied
25	787	BC03510026	7.4	0.00	286	-1.35	0.47	0.00	satisfied
26	589	BC03510022	7.4	0.00	291	0.90	0.47	0.00	satisfied
27	762	BC03510006	7.4	0.00	289	0.00	0.47	0.00	satisfied
28	325	BC03510002	7.4	0.00	289	0.00	0.46	-1.00	satisfied
29	146	BC03510011	7.4	0.00	291	0.90	0.47	0.00	satisfied
30	546	BC03510024	7.4	0.00	290	0.45	0.45	-2.00	satisfied
31	388	BC03510010	7.4	0.00	288	-0.45	0.47	0.00	satisfied
32	841	BC03510020	7.4	0.00	290	0.45	/	/	satisfied

注: 1) 批签发机构实验室因所授权疫苗批签发品种不包含本计划的铝, 未参加; 企业 QC 实验室可只参加认证认可项目。

Note: 1) The laboratory of the lot release institution did not participate the aluminum content testing in this proficiency testing as the authorized vaccine lot release variety does not include it; Enterprise QC laboratories can only participate in certification and accreditation projects.

2.3.1 pH 值检测 对各实验室报告结果进行汇总分析,各实验室检测结果中位值为 7.4,NIQR 为 0.074 13,以中位值 7.4 作为指定值,NIQR 为标准差 σ ,各实验室评价结果均为满意。

2.3.2 渗透压摩尔浓度检测 各实验室检测结果中位值为 289 mOsmol \cdot kg⁻¹,NIQR 为 0.1,以中位值 289 mOsmol \cdot kg⁻¹ 作为指定值,NIQR 为标准差 σ ,2 家实验室评价结果在本次统计中存在偏离,为可疑结果。

2.3.3 铝含量检测 对各实验室报告结果进行汇总分析,各实验室检测结果中位值为 0.47 mg \cdot mL⁻¹,以中位值 0.47 mg \cdot mL⁻¹ 作为指定值,参考《预防用含铝佐剂疫苗技术指导原则》、GBT27404-2008《实验室质量控制规范》对准确度的要求以及持续性能力验证计划《NIFDC-PT-285 疫苗铝佐剂中铝含量测定能力验证计划报告》能力验证标准差,经专家组讨论,本次能力验证铝含量项目标准差 σ 为 0.01,各实验室评价结果均为满意。

3 讨论

3.1 各实验室总体情况

本次能力验证共有 32 家实验室参加并反馈结果 32 份,包括 21 家省级疫苗质控实验室和 7 家药品生产企业和 4 家其他类型实验室。21 家省级疫苗质控实验室结果均为“满意”,表明在省级药检机构,尤其是承担国家疫苗批签发任务的机构,具有良好的检测能力。

3.2 对参加实验室的偏离分析

两家实验室结果离群,仅代表其所报送的结果在本次统计中存在偏离的情况,并不代表其检测结果一定错误。渗透压摩尔浓度的检测,该项目采用的标准为《中国药典》2020 年版三部 0632 渗透压摩尔浓度测定法,该方法对仪器的准确性

要求较高。1 家企业实验室和 1 家其他类型实验室的检测结果偏高于本次能力验证各实验室的中位值,通过不符合分析,1 家实验室由于参加机构在进行仪器校准时,所用的校准点离中位值 289 mOsmol \cdot kg⁻¹ 较远,另 1 家实验室未进行期间核查,造成结果偏离。不满意结果的机构通过加强仪器和标准溶液的期间核查,对比仪器的检定校准结果和标准溶液的指定值,对仪器参数做相应调整,同时,在检测前,使用标准溶液对仪器进行校准的方式提高准确度。2 家结果不满意实验室实施整改工作,通过参加渗透压摩尔浓度的测量审核,最终获得满意结果,确定整改有效。

REFERENCES

- [1] LAI T Y. What are the differences between the four marketed vaccines[EB/OL]. [2021-03-22]. <http://www.chinanews.com/gn/shipin/cns-d/2021/03-05/news882184.shtml>.
- [2] World Health Organization (WHO). Benchmarking of the National Regulatory Authority (NRA) GBT Rev VI[S]. 2019.
- [3] The Standing Committee of the National People's Congress Drug Administration Law of the People's Republic of China[EB/OL]. (2019-08-26) [2021-04-15]. http://www.gov.cn/xinwen/2019-08/26/content_5424780.htm.
- [4] XU J, HUANG Q Q, ZHANG J. Impact of the newly-revised 'regulations for lot release of biological products' on some inspection processes and countermeasures[J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2021, 35(8): 871-876.
- [5] GAO X M, XIANG X H, CHEN G Q, et al. Construction of a quality system of vaccine lot release network laboratory [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2021, 35(8): 908-914.
- [6] ISO/IEC 17043: 2010 Conformity assessment-General requirements for proficiency testing[S]. 2010.
- [7] LIU Y D, ZHANG H Z, YU X, et al. Retrospective study on the proficiency testing progress of medicines control laboratories in China [J]. *China Pharm* (中国药师), 2020, 23(7): 1401-1403.
- [8] ISO/IEC 17043: 2010 Conformity assessment-General requirements for proficiency testing[S]. 2010.
- [9] *Ch. P*(2020) Vol III (中国药典 2020 年版. 三部)[S]. 2020: 474-476, 493-494.

(收稿日期:2023-06-12)