中图分类号:R917　　文献标志码:A　　文章编号:1006－4931(2025)12－0072－05
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.12.016

质控品在疫苗定量测定中的应用*

张　静[1,2],王佳霁[3],徐凯云[3],许娜娜[3],许雷鸣[1,2△]

(1. 安徽中医药大学药学院,安徽 合肥　230012;　2. 安徽省食品药品检验研究院,安徽 合肥　230051;
3. 安徽智飞龙科马生物制药有限公司,安徽 合肥　230000)

摘要:目的　为质控品在疫苗定量测定中的应用提供参考。**方法**　分析质控品在疫苗定量测定中的作用和价值、选用原则及使用和保存要点,并结合重组新型冠状病毒蛋白疫苗(CHO细胞)酶联免疫吸附试验(ELISA)定量测定实际案例,通过定期检测质控品并绘制Levey－Jennings质控图,结合数据判异规则,对实验数据的准确性和可靠性进行监控。**结果**　第18,19,20次的质控品吸附率检测结果在中心线同侧的警戒上限与失控上限之间,符合异常状态类型5,核查人员操作、仪器及所属设备发现,为检测人员未严格按标准操作规程操作所致,换人重新检测结果正常。**结论**　合理选用并正确应用质控品能对疫苗定量测定实验系统的长期稳定性和一致性进行深度评估,有效识别并纠正实验过程中的系统性或偶然性误差,显著提升疫苗定量测定实验结果的科学性和有效性。有望为疫苗定量测定领域的质量控制提供新的视角和实践路径,促进实验技术的标准化和规范化。

关键词:疫苗;定量测定;质控品;质量控制;Levey－Jennings质控图;误差分析

Application of Quality Control Materials in Vaccine Quantitative Determination

ZHANG Jing[1,2], *WANG Jiaji*[3], *XU Kaiyun*[3], *XU Nana*[3], *XU Leiming*[1,2]

(1. School of Pharmacy, Anhui Vniversity of Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China　230012;　2. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei, Anhui, China　230051;　3. Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical Co., Ltd., Hefei, Anhui, China　230000)

Abstract: Objective　To provide a reference for the application of quality control materials in vaccine quantitative determination. **Methods**　The role and value, selection principles and key points of use and preservation of quality control materials in the quantitative determination of vaccines were analyzed, then combined with the actual case of quantitative determination assay by enzyme－linked immunosorbent assay (ELISA) of recombinant novel coronavirus protein vaccine (CHO cell). By regularly testing quality control samples and drawing Levey－Jennings quality control charts, combined with outlier detection rules, the accuracy and reliability of experimental data were monitored. **Results**　The adsorption rate test results of the 18th, 19th, and 20th quality control samples were between the alert upper limit and the out of control upper limit on the same side of the centerline, indicating abnormal state 5. Through checking the operation of personnel, instruments, and related equipment, it was found that the issue was caused by the testing personnel not strictly following the standard operating procedures. The retest results were normal after replacing the personnel. **Conclusion**　Reasonable selection and correct application of quality control materials can deeply evaluate the long－term stability and consistency of the vaccine quantitative determination assay system, effectively identify and correct systematic or accidental errors in the experimental process, and significantly improve the scientific and effective results of vaccine quantitative determination assays. It is expected to open up new perspectives and practical paths for quality control in the field of vaccine quantitative determination, and promote the standardization and normalization of experimental techniques.

Key words: vaccine; quantitative determination; quality control materials; quality control; Levey－Jennings quality control chart; error analysis

疫苗定量测定是确保疫苗安全性和有效性的重要环节,但酶联免疫吸附试验(ELISA)、荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)等技术在实际操作中,易受多种因素干扰,包括操作者技能、仪器性能、试剂稳定性等[1]。为此,国内外药典和医药行业标准多明确要求在这些实验设计中引入空白对照、阴性对照、阳性对照和标准品等质量控制措施(简称质控措施),以增强疫苗定量测定检测结果的科学性和可信度[2－3]。然而,这些常规的质控措施主要聚焦于单次实验的即时质量监控,对于实验系统的长期稳定性和不同批次间的一致性缺乏深度、持续的评估,也无法及时识别实际检测工作中可能出现的系统性或偶然性误差[4－5]。质控品的引入可有效解决这一问题。质控品作为一种具有已知浓度或活性水平的参照物质,不仅能用于评估检测结果的重复性

*基金项目:安徽省科学技术厅应急攻关定向委托项目[2022e07020075];安徽省药品监管科技创新项目[AHYJ－KJ－202106]。
第一作者:张静,女,在读硕士研究生,研究方向为生物制品质量控制,(电子信箱)1059019790@qq.com。
△通信作者:许雷鸣,男,博士,副主任药师,研究方向为药检药理及生物制品质量控制,(电子信箱)xuleiming1980@163.com。

和精密度，还能作为连续性质量监控的基准，用于对实验室日常分析流程一致性的持续评估[6]。通过定期检测质控品，并结合Levey－Jennings质控图与数据判异规则，实时监控检测系统的性能，并及时识别并纠正涉及人、机、料、法、环等方面的潜在偏差，从而强化整个疫苗检验过程的质量控制[7－8]。然而，尽管质控品在疫苗定量测定中的重要性日益凸显，但当前关于如何有效运用质控品进行质量控制的系统性研究和实践经验仍显不足。鉴于此，本研究中全面剖析了质控品在疫苗定量测定中的应用策略，阐明其与参比品、标准品的区别与联系，提出科学合理的选用要求及使用和保存要点，并通过具体实例展示其在实际操作中的应用方法与效果。现报道如下。

1 质控品概述

1.1 与参比品、标准品的区别与联系

标准品具有极高的纯度、良好的均匀性和稳定性，以及可追溯的量值，主要用于校准检测系统，建立标准曲线，确保检测结果的准确性和量值的可追溯性，是量值传递的起点；参比品具有已知的特性量值，但其量值的精度和可追溯性与标准品相比略低，主要在方法学确认、实验室间比对等实验过程中使用，用于验证检测方法的准确性和结果的一致性，确保量值传递的准确性[9]。质控品通常具有已知的浓度或活性水平，但并不一定要求量值的高准确度或可溯源性，主要用于日常检测过程中的质量控制，通过与待测样品同步检测，实时监控检测系统的稳定性、精密度和准确性，帮助实验室评估并控制分析过程中的系统误差与随机误差[10]。可见，三者在疫苗定量测定中各司其职，但又联系紧密。特别是实验室使用自制参比品时，其稳定性尚未经过充分验证，质控品的应用就显得尤为重要，能实时反馈参比品的稳定性，避免因参比品不稳定而引起的检测结果偏差，确保检测结果的一致性和稳定性。质控品的使用，为实验室提供了持续监测检测能力的手段，促进了检测质量的稳定与提升。

1.2 选用要求

质控品可通过向有关机构采购或根据自身需求自行制备，适宜的质控品是成功实施质量控制的前提条件，故实验室应选择符合其预期用途的质控品[11]。为保证疫苗定量测定质量控制的有效运行，质控品需满足以下要求[10,12]。

质控品的基质应当与待测样本一致或尽可能接近，以确保质控品在检测过程中的表现尽可能与待测样本相同，从而使质控结果更接近反映真实的检验质量。为保证检验结果的准确性，建议疫苗定量测定实验选择质控品时应考虑其待测物浓度水平满足实验要求，如有可能，覆盖检测方法的测量范围。此外，质控品的稳定性和均匀性也必不可少。其中，稳定性是质控品的一项关键评判标准，涵盖了有效期稳定性和开瓶后（或复溶后）稳定性。优质的质控品在规定的储存条件下，其有效期内的稳定性可达到至少1年，能够在有效期内提供可靠的检测参考。故实验室宜采购或制备满足1年使用量的同一批次质控品，以实现在较长时间跨度内对检测过程的质量进行持续监控[本研究中在规定考察期内将质控品置(5±3)℃和(37±2)℃环境下考察稳定性]。质控品检验结果的变异是检测不精密度和质控品自身不均匀性共同作用的结果，而各单元间差异是影响质控品均匀性的最主要因素，只有将各单元间差异控制到最小，检测结果间的变异才能更好地反映实验室日常检验操作的真实不精密度（本研究中考察了质控品分装前、中、后三个阶段的装量、粒径大小与分布、抗原含量的均一性）。

此外，质控品必须具备生物安全性，确保其在使用过程中不会造成生物安全性风险。以及为了满足质量控制过程中对同一质控品进行连续测定的需求，单批次供应的质控品必须具备足够的量以供充分使用。

1.3 使用和保存要求要点[13]

质控品的分装和贮存：实验室在接收质控品后，应根据实际工作需求对其进行适当的分装处理。此外，应严格按照说明书或操作规程的相关要求做好质控品贮存，定期监测其贮存环境并记录，以确保其贮存条件符合要求。

冻干质控品的复溶和使用：复溶冻干质控品时，应确保所用溶剂的质量，并使用准确的移液器或器具量取溶剂。溶解过程中应轻柔摇晃容器，以促进内容物的完全溶解，待溶液温度平衡至室温时方可使用。若需重复使用，应在复溶有效期内完成。

质控品的检测和数据管理：为确保质控品效用的最大化，实验室应明确质控品的处理、检测和数据分析等步骤，严格按照质控品操作规程或者说明书执行。质控品需与待测样品在同样测定条件下进行检测，并将质控品结果记录在质控图上，以便观察各质控点是否超过预设的“控制限值”，从而判定该批样本的检测结果是否有效。

质控品的有效期管理：实验室应确保使用的质控品在有效期内，对于超出有效期的质控品，则应及时清除，以防误用。

2 质控品在疫苗定量测定质量控制中的具体应用

2.1 方法概述

质控品检测：由于各实验室所使用的仪器、试剂以

及校准物质等存在差异，故质控品的靶值（X）无论是定值还是非定值，均应在各自实验室常规工作条件下确定。在每个分析批长度内，确保至少包含1次质控品的检测。在此，将质控品至少20次独立测定结果的X作为暂定靶值，再计算出系列测定值的标准差（s）作为暂定标准差[14]。

统计学处理：使用Minitab 21统计学软件对连续测定≥20次的质控品的检测数据进行正态分布检验，$P>0.05$表示服从正态分布，反之则不服从正态分布，再使用该软件分别计算出质控品的$\overline{X}$和s。

质控图绘制：设定质控品的$\overline{X}$为中心线（CL），$\overline{X}\pm2s$为警戒（上、下）限（UWL、LWL），$\overline{X}\pm3s$为失控（上、下）限（UCL、LCL）。以检测日期或检测次数为横坐标，质控品检测结果为纵坐标，绘制Levey - Jennings质控图[15]。从第21次开始，将每次质控品的检测结果依次添加至该质控图中进行质量控制。

质控规则：参照Western Electric rules（西部电气规则），当质控品数据出现以下8种情况时视为异常状态[16-17]。8种异常状态的具体描述、可能原因及应对措施见表1。如系列质控数据未出现上述8种异常状态，则说明检测过程正常，质控品的检测结果为有效结果，进而判定同批次待测样品的检测结果处于统计控制状态，样品的检测结果准确可靠，为有效结果。

2.2 应用实例

2.2.1 质控品引入原因

以本实验室重组新型冠状病毒蛋白疫苗（CHO细胞）的ELISA定量测定实验为例，实验中采用自建方法，操作流程烦琐且高度依赖实验员的手动操作，如离心后样本的吸取、频繁的样本稀释、试剂处理等环节，任何细微差异均可能导致样品不同批次结果的显著波动。此外，实验中所用自制参比品的稳定性尚未经过充分验证，也可能影响结果的一致性和可靠性。为保证实验结果的准确可控，在该实验中引入质控品（符合1.2项要求）。

2.2.2 仪器与试药

仪器：SpectraMax M2e / SpectraMax M5型酶标仪（美谷分子仪器<上海>有限公司）。

试药：疫苗参比品（批号为A202107139）、质控品（批号为A202302045）、阳性对照（批号为M202302006），均由安徽智飞龙科马生物制药有限公司研制，参比品和质控品规格均为每剂含25 μg蛋白质，阳性对照每剂含334.7 μg蛋白质，规格均为每瓶0.5 mL。阴性对照（1%牛血清白蛋白，自配液）。

2.2.3 方法与结果

相关操作：将质控品于6 500×g离心5 min，取上清液，采用ELISA法进行检测。以参比品为标准，采用双平行线分析法计算质控品及目的蛋白相对比值，并乘以理论目的蛋白含量，得到质控品上清液及质控品的目的蛋白含量，连续测定20次（每天1次），计算吸附率（p），公式为$p=(1-C_s/C_t)\times100\%$。式中C_s、C_t分别为质控品上清液和质控品目的蛋白含量（单位均为μg/mL）。仅当1）参比品、质控品和阳性对照吸光度值平行孔差异（RD）≤20%；2）参比品、质控品吸光度值>0.030，阳性对照>1.000，阴性对照<0.100；3）参比品和质控品线性无显著差异，参比品与质控品斜率相等、具有相似性，以及参比品与质控品具有显著的剂量反应关系时，质控品吸附率结果才能被记录。记录连续测定前20次（每天1次）质控品的吸附率检测结果（见表2）。质控品的检测数据分布既有分散性又有集中趋势，$P=0.680>0.05$，服从正态分布，符合误差分析要求[18]。详见图1。计算得$\overline{X}$为58%，s为2.93%（修约为3%计算）。按上述质控方法运行4个月（2023年8月至11月）得6个质控品（按时间顺序）的吸附率检测结果Levey - Jennings质控图。详见图2。

其中第18，19，20次检测结果符合异常状态类型5。核查人员操作、仪器及所属设备等发现，这3次检测均为同一名检测人员操作完成，操作过程未严格遵守标准操作规程的规定，离心后吸取液体时触及离心管中

表1 质控品数据异常状态描述、可能原因及应对措施

Tab. 1 Description of abnormal states, possible causes and corrective actions of quality control material data

类型	异常状态描述	可能的原因及应对措施
1	任意一个质控点落在$\overline{X}\pm3s$区域外	检测结果失控，应立即查明失控原因并采取相应的纠偏措施
2	连续6个质控点全部递增或全部递减	检测系统存在系统误差，应从检测方法、仪器及其附属设备、试剂等多个方面进行排查，并追溯误差的根源
3	连续14个相邻质控点上下交错	
4	连续9个质控点在中心线同侧	
5	连续3个质控点中有2个点位于中心线同侧的$\overline{X}\pm2s$至$\overline{X}\pm3s$区之间	检测人员操作或计算错误，机器故障等问题，需分析原因并重新实验
6	连续5个质控点中有4个点落在中心线同侧的$\overline{X}\pm s$区域外	
7	连续8个质控点位于中心线（任一侧）的$\overline{X}\pm s$区外域	
8	连续15个质控点位于中心线（任一侧）的$\overline{X}\pm s$区域内	质控图所选数据不合理，应重新进行实验收集更广泛的数据并建立质控图

表 2 质控品连续测定吸附率（前 20 次）

Tab. 2 Adsorption rate of continuous determination of quality control materials (first 20 times)

序号	吸附率(%)	序号	吸附率(%)	序号	吸附率(%)	序号	吸附率(%)
1	52	6	59	11	58	16	56
2	58	7	61	12	57	17	58
3	57	8	62	13	54	18	57
4	55	9	61	14	56	19	60
5	57	10	59	15	59	20	65

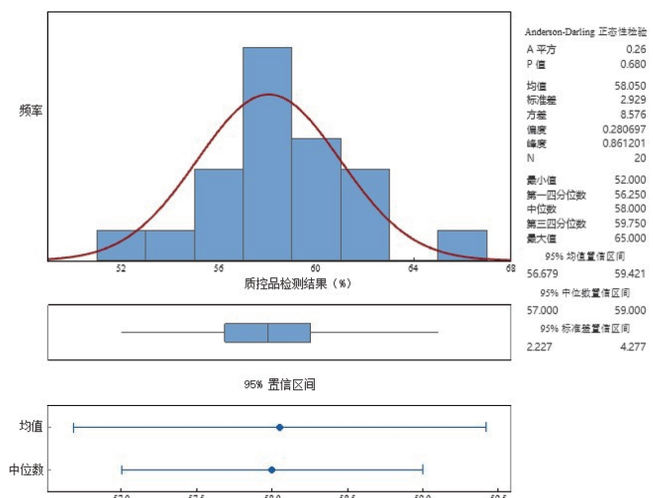


图 1 质控品的吸附率检测结果正态曲线

Fig. 1 Normal curve of adsorption rate results for quality control materials

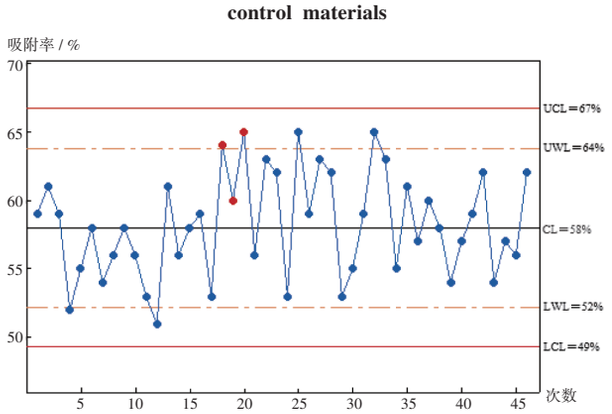


图 2 质控品的吸附率检测结果 Levey - Jennings 质控图

Fig. 2 Levey - Jennings quality control chart of adsorption rate results for quality control materials

沉淀较多的部分，导致可能吸入了沉淀物，从而影响了检测结果的稳定性并导致部分结果异常。更换为资深检测人员对质控品和样品重新进行检测，结果正常。

3 讨论

本研究中从理论分析和实践应用的角度出发，深入探讨了质控品在维护实验数据稳定性和重复性，以及提高结果准确性和可靠性方面的独特价值。基于科学原则和实践考量，提出质控品的选用标准及使用和保存要点；并介绍了质控品在疫苗定量测定项目质量控制中的具体应用。其中所选案例操作流程复杂，高度依赖操作人员的技术水平，且参比品的稳定性研究尚未明确，对结果的稳定性和可靠性构成了显著挑战。通过持续监控质控品在各批次中的表现，并结合 Levey - Jennings 质控图及异常判定规则进行分析，发现了吸附率检测结果存在异常的质控批次并归属于异常状态类型，通过对人员操作、仪器及所属设备等进行核查，最终发现异常是由新进的检测人员未严格遵守标准操作规程导致的。对此，实验室采取了纠正与预防措施，持续保证了检测数据的准确性和可靠性。后续实验中参比品的稳定性未再出现异常变化，未来将持续跟踪监测。

该实例有力证明了质控品在疫苗定量测定中的可行性和有效性。对于一些易受操作人员主观因素及仪器的精密度、反应时间、试剂盒批次等客观因素影响的实验，为确保检测结果的准确可靠，提高实验室日常工作中日内和日间标本检测的一致性，可采用特定质控品进行检测和连续监控，以便及时识别实验中出现的趋势性变化、失控等异常情况，同时也能及时发现影响测定结果准确性的潜在因素，有助于实验员判断误差类型并采取纠正预防措施，增加检验结果的可靠性。

综上所述，本研究中对优化和增强疫苗定量测定实验室的质量控制体系具有重要的指导意义。此外，本研究的理论视角和实践成果在生物制药行业检测领域内同样具有较高的适用性和参考价值，可为今后相关领域研究工作提供理论参考和实践经验，助力行业整体检测水平的提升与标准化建设[18]。

参考文献

[1] 彭绒雪，李金明. 临床实验室自身抗体检测性能验证与质量控制[J]. 临床检验杂志，2021，39（10）：721 - 724.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（三部）[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：35.
[3] YY / T 1183 - 2010，酶联免疫吸附法检测试剂（盒）[S].
[4] 刘 洁，祝天宇. 质控图在荧光定量 PCR 检测室内质量控制中的应用研究[J]. 计量与测试技术，2021，48（8）：1 - 7.
[5] 刘 晶，杜晶辉，刘瑞岩，等. 实时荧光聚合酶链反应检测新型冠状病毒室内质控方法初探[J]. 国际检验医学杂志，2023，44（1）：74 - 78.
[6] KINNS H，PITKIN S，HOUSLEY D，et al. Internal quality control：best practice [J]. J Clin Pathology，2013，66（12）：1027 - 1032.
[7] 耿 聪，李 寅，王艳梅，等. HIV 抗体 ELISA 检测室内质控品的制备及应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志，2018，41（4）：3 - 7.
[8] 高亦军，刘丽兰. 标准物质在检测实验室质量控制中的应