



中华人民共和国国家标准

GB/T 27424—2020

合格评定 非可溯源生物质控品 质量控制规范

Conformity assessment—Specification for biological quality control
materials without metrological traceability

2020-11-19 发布

2021-06-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 总则	2
5 研制	2
6 验收	5
7 运输	6
8 贮存	6
9 使用	6
10 处置.....	6
11 文件编制和标识管理.....	6
附录 A (资料性附录) 形态标本质控品质量控制示例	8
附录 B (资料性附录) 质控品研制均匀性及稳定性评估方法	10
附录 C (资料性附录) 单纯疱疹病毒 II 型 IgG 抗体质控品质量控制示例	13
参考文献	22

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国认证认可标准化技术委员会(SAC/TC 261)提出并归口。

本标准起草单位:青岛海关技术中心、中国合格评定国家认可中心、中国计量科学研究院、北京航天总医院、福州海关技术中心、大连海关技术中心、日照海关综合技术服务中心、中国动物卫生与流行病学中心、郑州安图生物工程股份有限公司、圣元营养食品有限公司、山东省动物疫病预防与控制中心。

本标准主要起草人:雷质文、刘培海、吕京、王晶、陈宝荣、傅博强、刘功成、郑腾、王有福、姜勇、李阳、兰邹然、陶雨风。

引 言

在生物测量中,经常遇到无合适的标准物质的情况,实验室内部研制或从外部获得质控品,用于评价生物测量结果的精密度,以满足实验室管理特定的质量控制要求。常见的非可溯源生物质控品,按物质属性分为抗原类、抗体类、毒株类、菌株类、细胞类等。

本标准无意定义一种标准物质/标准样品的新类别。本标准中的“非可溯源生物质控品”是应用于生物领域的质量控制物质,“非可溯源”是这类物质的特点,“生物”是其应用的领域。

非可溯源生物质控品属于一类实用的、用于质量控制的标准物质/标准样品,其无法溯源或根据应用目的无需建立溯源性,不要求定值结果具有计量溯源性和测量不确定度,但其均匀性、稳定性等性能应满足预期的特定应用要求,且有的生物质控品具有生物安全风险,故应在非可溯源生物质控品全“生命周期”内开展质量控制。



合格评定 非可溯源生物质控品 质量控制规范

1 范围

本标准规定了非可溯源生物质控品研制、验收、运输、贮存、使用和处置等全“生命周期”的质量控制要求,以及质量控制过程中文件编制和标识管理要求。

本标准适用于实验室生物检测活动中对于非可溯源生物质控品的质量控制,其他非可溯源质控品或标准物质的质量控制也可参考使用。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 15000.2—2019 标准样品工作导则 第2部分:常用术语及定义

GB/T 15000.3 标准样品工作导则(3) 标准样品 定值的一般原则和统计方法

GB/T 20468 临床实验室定量测定室内质量控制指南

GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

WS/T 356 基质效应与互通性评估指南

3 术语和定义

GB/T 21415—2008 和 GB/T 15000.2—2019 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用,以下重复列出了 GB/T 21415—2008 和 GB/T 15000.2—2019 中的某些术语和定义。

3.1

质控品 quality control materials

质量控制物质

用于测量过程中质量控制的标准物质。

[GB/T 15000.2—2019,定义 2.1.22]

3.2

非可溯源生物质控品 quality control materials without metrological traceability

用于测量质量控制的生物标准物质,其特性值无法或根据其应用目的无需建立溯源性的标准物质。

3.3

均匀性 homogeneity

标准物质中特定部分的某个规定特性值的一致性。

[GB/T 15000.2—2019,定义 2.1.12]

3.4

稳定性 stability

标准物质在指定条件下贮存时,某个特定特性值在规定时间内保持在规定的限值范围内。

[GB/T 15000.2—2019,定义 2.1.15]

3.5

互换性 commutability

标准物质的特性。由两个测量程序测量某一给定物质的特定量产生的测量结果间的数学关系,与测量常规样品的量得出的数学关系的一致程度。

注: 在一些领域里,互换性又称作互通性。

[GB/T 21415—2008,定义 3.9]

3.6

基质效应 matrix effect

除被测特征以外,样品特征对特定测量程序测定被测特征及其测得值的影响。

注 1: 某个基质效应的明确原因即为一个影响量。

注 2: “基质效应”有时被错误用于因被分析物的变性或加入非真实组分(代用品)以模拟分析物等缺少互换性。

注 3: “基质效应”有时又称“基体效应”。

[GB/T 21415—2008,定义 3.15]

3.7

定值 value assignment

标准物质特性值或特性属性的测定,是研制(生产)过程的一部分。

[GB/T 15000.2—2019,定义 2.1.10]

4 总则

非可溯源生物质控品属于一类实用的、用于质量控制的标准物质/标准样品,其无法或无需建立溯源性,不要求定值结果具有计量溯源性和测量不确定度,且部分具有生物安全风险。实验室应识别非可溯源生物质控品的质量控制要素,建立质量控制程序,开展质量控制,并予以记录。

5 研制

5.1 原料选择与采集

5.1.1 非可溯源生物质控品研制所需原料包括生物原料、辅料、化学原料及其他辅助材料。各类原料和辅料的质量应符合法规、标准和实验要求。如果原料和辅料由外部供应,实验室应评估供应商资格、能力和表现,并保留采购合同、质量标准、出厂检验报告以及实验室的技术性验收资料等。

5.1.2 采集非可溯源生物质控品研制所需原料时,应考虑以下特定事项:

- a) 原料采自人或动物组织器官、病原微生物或基因工程材料时,所有活动应符合国家法律法规、安全要求和伦理要求;
- b) 所选样本的真实性具有较高的可信度,避免使用错误的生物组织;
- c) 有关患者样本保存和使用的道德规范;
- d) 采集原料(例如血清、病原微生物)前,应确定灭活剂的种类和使用剂量,评估相关灭活剂的潜在风险(包括对原料的效价和人的影响);
- e) 针对所采集原料加工处理方式的生物安全风险,例如当制备过程中可能接触受污染的尖锐物品或者容易产生气溶胶时。

5.1.3 为避免任何污染,应对非可溯源生物质控品研制用原料和辅料进行标识、妥善保存和隔离,防止误用、损坏、变质或玷污。有毒有害原料的存放应有安全保障措施。

5.2 原料加工与处理

5.2.1 采集所有必需原料和辅料后,应进行适当的加工与处理。加工与处理场所、设施设备、人员防

护、废物处理等应满足相应级别的安全防护要求。

5.2.2 原料加工与处理过程,包括但不限于:

- a) 干燥或冻干;
- b) 研磨与粉碎;
- c) 筛分或萃取;
- d) 混合与调配;
- e) 过滤或提纯;
- f) 灭菌或灭活;
- g) 稳定化;
- h) 生物工程方法。

5.2.3 某些加工与处理工艺可能影响非可溯源生物质控品的均匀性等,如冻干样品可能存在干燥程度不同的问题,应通过方案设计与工艺优化,尽量避免或降低其影响,避免污染,防止特性值发生变化。

5.3 分装和包装

5.3.1 原料经加工和处理后,宜在分装和包装前,按照 WS/T 356 评估基质效应。

注:例如,在制备血清质控品时,使用人工基质或者动物血清稀释阳性(或高值)血清时,评估基质效应。

5.3.2 批量样品的分装过程中,应尽量避免或降低分装方法对样品均匀性的影响。分装时应满足生物安全、洁净度和温度等特殊环境要求,可在洁净室、超净工作台(HEPA 滤网)或生物安全柜中分装。

5.3.3 包装应满足该非可溯源生物质控品的预期用途,并符合生物制品运输和使用的要求。包装材料类型取决于所贮存样品的内在稳定性(如易氧化、光敏、吸湿、易挥发、吸附性等)及需贮存的环境温度和时间,一般情况下宜选用密封性好、便于使用和品质良好的玻璃瓶或中高密度聚乙烯瓶包装。

5.3.4 不同水平(不同浓度或不同含量)的非可溯源生物质控品应尽可能独立包装。最小包装单元的包装量宜根据测量的取样量和样品稳定时间确定,也可根据用户的实际需要确定。

5.4 均匀性评估

5.4.1 按照 GB/T 15000.3 的规定,基于非可溯源生物质控品的类型、制备工艺、制备量、预期用途、使用方式等制定均匀性评估方案。均匀性评估方案和稳定性评估方案宜同步设计。

5.4.2 在非可溯源生物质控品分装成最小包装单元后,通常应采用随机抽样或分层抽样的原则进行均匀性评估,抽样量、测量次数、测量顺序、数据处理、结果分析等应符合统计学原则。

注:如果仅通过抽样检验,则进行定性特性的非可溯源生物质控品均匀性评估时,要求的抽样数量会非常高,这对典型批量的非可溯源生物质控品而言通常并不现实。因此,对于定性特性的非可溯源生物质控品,均匀性实验评估的目的可能仅限于对无法预计的粗大不均匀性的检查,同时提供有关材料来源、加工等其他方面的信息,用以支持均匀性评估结论。

5.4.3 当同一非可溯源生物质控品含有多个被测特性时,每个被测特性的均匀性和最小取样量可能不同,宜基于实验数据或经验确定。如果仅对代表性被测特性进行均匀性评估时,可通过文献、随后的定值及稳定性评估获得有关其他被测特性均匀性及最小取样量的证据。

5.4.4 动植物检疫及卫生检疫鉴定实验室研制用于形态鉴定类生物质控品时,可抽取一定数量的样品发给一定数量具有较高造诣的专家鉴定,要求专家对所制备的质控品进行形态鉴定,按照形态鉴定结果给出定性结果或赋予一定的分值,实验室可根据专家判定结果及描述的形态特征判断本批质控品是否均匀。

注:附录 A 给出了形态类生物质控品均匀性评估参考案例。

5.4.5 使用不同测量程序进行均匀性评估,其结果可能有差异,宜在非可溯源生物质控品研制报告中

就测量程序及其精密度做出说明。

5.4.6 应评估单元内、单元间、测量程序等引起的结果分散性,利用统计方法综合判断其对非可溯源物质控品预期用途的影响程度(参见附录 B 和附录 C)。

5.5 稳定性评估

5.5.1 根据 GB/T 15000.3 的规定,基于生物测量工作的需要和工作方法,制定稳定性评估方案。

5.5.2 应根据稳定性评估方案,对非可溯源物质控品的运输稳定性、开瓶后的稳定性或长期稳定性进行评估,明确相应的环境条件、贮存和使用要求(参见附录 B 和附录 C)。

5.5.3 评估所有特性值贮存期间的稳定性会导致较高的经济和时间成本。如果实验室研制的非可溯源物质控品仅供实验室内部使用、不涉及超出正常贮存条件的运输问题,则无需进行运输稳定性评估。

5.5.4 定性特性的非可溯源物质控品进行稳定性研究时,可在其贮存条件下,不同时间点抽取样品,观察主要参数或特征是否变化,如无变化或虽有变化不影响物质控品结果,可认为是稳定的。附录 A 给出了形态类物质控品稳定性评估参考案例。

5.5.5 对具有多个被测特性的非可溯源物质控品,可通过文献、经验或实验评估所有被测特性的稳定性。对于多次重复使用的非可溯源物质控品,评估已开封单元的稳定性是有价值的。

5.5.6 使用不同测量程序进行稳定性评估,其结果可能有差异,宜在非可溯源物质控品研制报告中说明。

5.5.7 必要时,应基于特性值的稳定性评估结果以及其他背景信息确定所研制非可溯源物质控品的有效期,并开展适当的稳定性监测。稳定性监测可与质控品的应用过程结合,如利用质控图发现因样品不稳定导致的变化趋势。

5.6 互换性评估(必要时)

5.6.1 一般情况下,不对非可溯源物质控品进行互换性评估。必要时,按照 WS/T 356 的规定进行互换性评估。非可溯源物质控品的互换性仅存在于测量程序与比对测量程序之间,当任意一个方法发生变化时,需重新进行互换性评估。

5.6.2 进行互换性评估前应设计互换性评估方案,方案中应明确被测特性、测量程序、比对程序、实验样品、统计方法等内容。

5.6.3 应在相同条件下测量检测样品和待评价的非可溯源物质控品,通过数学相关性确定互换性能。

5.6.4 测量环境、贮存时间、试剂批号等对不同测量程序的影响可能不同,从而影响非可溯源物质控品的互换性评估结果。需要时,应评估测量环境、贮存时间、试剂批号等变化对非可溯源物质控品互换性评估结果的影响程度。

5.7 定值

5.7.1 按照 GB/T 15000.3 的规定,基于非可溯源物质控品的类型、预期用途、应用方法特性、相关标准要求等选择适宜的定值方案。必要时,完整的定值方案还包含实验室定值状态的确认和定值期间质控方案。

5.7.2 非可溯源物质控品定值活动应符合国家法规、标准、国际公约等对生物制品安全、伦理等方面的相关要求。

注:定量特性的非可溯源物质控品,均匀性测试结果的总平均值可作为其指示值,总平均值的标准偏差用于估计特性值的范围,通常将总平均值标准偏差的 2 倍和 3 倍值作为质量控制图的警示限和控制限。也可不少于 5 组独立定值数据/实验室开展协作定值,如不满足时,实验室宜通过风险评估的方式评估定值结果。参照附录 C

给出的定量特性生物质控品定值参考案例。

5.7.3 定性特性的非可溯源生物质控品,其定值方式根据实际情况而定,可由专家组公议确定,也可通过实验的方式确定。采用专家公议方式进行定值时,通常基于以下几点考虑:

- a) 定值专家的相应专业能力;
- b) 一般有三名或三名以上专家分别独立进行评价,至少两名或两名以上专家评价意见一致;
- c) 当多名专家进行定值评价时,若不同专家对于同一结果的评价产生不同性质的结论时,可由专家组全体成员复议,并按多数原则确定结果并形成记录;
- d) 必要时,可请权威的资深专家复议。

6 验收

6.1 一般要求

6.1.1 无论是通过什么方式获得的非可溯源生物质控品,应经验收合格才能使用。

6.1.2 如果非可溯源生物质控品的量较少,无法满足开展技术验收的要求,或者技术验收成本过高时,实验室应对该质控品的使用进行风险评估,识别出可能存在的风险,采取简化的技术验收措施。

6.1.3 实验室应对验收形成记录。记录内容包括名称、编号、批号、包装、标识、证书、特性值、有效日期、入库日期、数量、生产商、验收人、验收结论等。如果使用检测技术进行实验验收,还应有验收时检测方法、检测结果等相关信息。

6.1.4 实验室应对验收合格的非可溯源生物质控品,分类管理,明确标识,妥善贮存。

6.2 自制的非可溯源生物质控品的验收

6.2.1 研制人员宜独立于非可溯源生物质控品的验收过程。

6.2.2 验收人员应核查研制策划方案、研制过程原始记录、研制报告以及涉及影响其使用的任何信息(包括生物安全信息),做出适用性评判。

6.3 采购的非可溯源生物质控品的验收

6.3.1 应核实是否符合“标准物质/标准样品采购计划”的要求,检查包装及标识的完好性(或密封度)、证书与实物的对应性,了解证书中标明的特性值、基质组成、有效日期、保存条件、安全防护、特殊运输要求等内容。对于有低温等特殊运输要求的非可溯源生物质控品,可行时应检查运输状态。

6.3.2 必要且可行时,可采用适当的实验方式来验证非可溯源生物质控品的特性值、基质组成等特性。

6.3.3 更换非可溯源生物质控品生产商或批次时,宜对新旧质控品进行比较,既验证旧质控品特性值的稳定性,也可确认新质控品满足使用要求。

6.4 赠予/互换非可溯源生物质控品的验收

6.4.1 实验室通过赠予或互换等方式获得非可溯源生物质控品进行验收时,应向对方索取背景资料和技术资料。

6.4.2 若能索取得到上述所要求的资料,实验室应按照 6.3 对赠予或互换等方式获得非可溯源生物质控品进行技术性验收,评估可否在本实验室正确使用非可溯源生物质控品。

6.4.3 若无法获得上述所要求的资料,可按照 6.1.2 中的要求进行风险评估,必要时按照 6.2 补充所要求的相关材料。

7 运输

- 7.1 需要在一定范围分发非可溯源生物质控品时,应确保运输条件不会对其特性值产生负面影响。必要时,进行运输稳定性评估。
- 7.2 应对运输过程中的环境条件进行适当的监控和记录。
- 7.3 运输过程中,应避免因溢洒、泄露与扩散等引起的生物安全风险。

8 贮存

- 8.1 应以稳定性评估为依据,在适宜的条件下安全贮存非可溯源生物质控品以保证在有效期内保持其性能参数。
- 8.2 应按要求贮存非可溯源生物质控品,确保非可溯源生物质控品不因环境因素的影响而变质、失活,每一单元的包装宜密封,并远离高热、强光和高湿等极端环境。
- 8.3 通常在合适的温度下避光贮存非可溯源生物质控品,如在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温条件下贮存血清基质的生物质控品。
- 8.4 应定期监控非可溯源生物质控品的贮存环境条件,如温度、湿度、照度等,确保贮存条件符合要求,并记录。
- 8.5 有生物安全风险的非可溯源生物质控品的贮存应符合国家法规和标准的规定。

9 使用

- 9.1 无论哪种方式获得的非可溯源生物质控品,都应有使用说明。使用前,应仔细研读使用说明,核实使用条件,应对生物安全风险,并验证其物理外观和性状是否满足实验要求。
- 9.2 使用非可溯源生物质控品时,其取样量应不能低于最小取样量。
- 9.3 对于液态生物质控品,应确认质控品是否可重复使用,并注意多次开封包装以及反复冻融操作对均匀性和稳定性的影响,每次使用前应充分混匀。
- 9.4 对于固态生物质控品,应确认使用溶剂的种类和质量符合要求,使用前应充分混匀;如果重复使用,应注意多次开封包装以及反复冻融操作对均匀性和稳定性的影响。
- 9.5 使用过程中,发现质控结果失控时,实验室应停止使用非可溯源生物质控品,评估风险,并采取必要的纠正措施。必要时,停止相关检测工作,直至召回测试报告。

10 处置

- 10.1 非可溯源生物质控品超过有效期,或在有效期内受到污染或变质时,认定为失效,应适当标识,尽快处置,以免误用。
- 10.2 对于废弃的非可溯源生物质控品,特别是废弃的有毒、有害、易传染、易扩散的生物质控品,应采取安全稳妥的方式进行销毁,或移交环境保护部门认定的机构进行专业化处置,并建立销毁记录。

11 文件编制和标识管理

11.1 文件编制

- 11.1.1 实验室内部自行研制非可溯源生物质控品时,应编制研制报告。其内容包括但不限于:

- a) 相关技术要求；
- b) 批量原料的采集与制备；
- c) 单个单元所用包装容器的类型；
- d) 所采用的分装程序；
- e) 任何特殊的稳定化、灭菌或灭活措施；
- f) 有关材料的补充数据(如颗粒尺寸、水分含量等)；
- g) 研制中所采用方法/程序的全部细节；
- h) 由研制中所采用方法/程序获得的全部数据；
- i) 特定的经验,以避免研制新批次或相关质控品时发生重大失误或缺陷；
- j) 影响其使用的任何信息,包括生物安全信息等。

11.1.2 实验室内部自行研制非可溯源生物质控品时,应编制说明文件。其内容包括但不限于:

- a) 材料名称及描述；
- b) 编号和/或批号；
- c) 制备日期；
- d) 预期用途及对其使用的特殊说明；
- e) 定值(如适用)；
- f) 最小取样量(基于均匀性评估得到)；
- g) 贮存说明；
- h) 有效期的信息；
- i) 特殊的安全预防措施,如生物安全预防措施。

11.2 标识管理

11.2.1 实验室应对非可溯源生物质控品加贴合适的标识,并附有安全提示和有效使用的说明。

11.2.2 非可溯源生物质控品标识信息内容包括但不限于:

- a) 名称和描述；
- b) 编号和/或批号；
- c) 危险和安全标识(必要时)；
- d) 贮存环境条件,如温度、湿度、照度等；
- e) 制备或购买的日期；
- f) 有效期。

附 录 A
(资料性附录)
形态标本质控品质量控制示例

A.1 候选物的采集和收集

形态标本的来源分为两种方式:采集和收集。两种来源标本的相关信息必须详实,主要包括:采集地、产地或来源国家及地区,采集、收集或截获人及日期,鉴定人及日期,确保形态标本能准确溯源。

A.2 材料的处理

形态标本在制作前需经过整枝或整姿、灭活、干燥或液浸等处理,如果采集的昆虫样本较硬的话,应当再加一个回软的步骤。同一种形态标本至少保存 10 个个体,同时增加一份 95%酒精液浸形态标本,便于分子诊断。对于种间标本的差异性小于 95%的样本,需重新采样,以确保标本的准确性和均匀性。旧的或具有差异的形态标本,经过分子诊断后无差异也可以继续使用,只要其特性在可接受的范围内。

A.3 制备

有害生物的种类不同,形态标本的制作方法也不尽相同,主要是采用物理或化学的手段永久保存形态标本,如:昆虫标本的制作方法主要采用针插和液浸,而植物标本制作方法采用干制和浸制两大类方法。

A.4 均匀性评估

针对每一个标本个体的均匀性,就是考量其是否具备该物种的典型形态特征。每一个标本均应经过 3 名及 3 名以上业内专家对其典型形态特征进行确认,证明该标本能够代表该物种,其典型形态特征符合该物种定义要求。

对制备的批量标本,选择一定数量的标本进行均匀性评估,考察选定数量的标本的典型特征是否符合,并需专家进行确认,证明每个标本都能够代表该物种,其典型形态特征符合该物种定义要求。

A.5 稳定性评估

通过均匀性评估检验后的形态标本,稳定性评估周期第一年时需分别在 3 个月,6 个月和 12 个月开展,之后每年进行一次评估。评估的主要内容:形态特征是否完整、颜色是否有变化,是否发生腐败变质现象。

A.6 定值

因标本类质控品主要为形态特征的描述,大部分为定性结果,可以阳性或阴性为定值结果。也可根据形态特征的符合情况通过计分方式进行定值。



A.7 标本的入库与管理

制作好的形态标本要及时入库或入标本馆,入库时需进行标本登记,留下档案,便于溯源和管理。记录入库标本的方法有流水账式、活页式或表格式,标签式和计算机登记等。登记内容必须包括:入库时间、标本来源、份数、定名情况等。

A.8 贮存和运输

形态标本的成本较高,供应有限,因此考虑形态标本如何采集、制作和贮存是非常重要的。一旦贮存条件确认之后,质量控制形态标本应用一个合适的环境监测系统持续监控。建议将形态标本贮藏在至少两个不同的地方,以防止出现持续的偏离正常的贮藏条件。形态标本应贮存在安全的环境中,在可控的获取和分配范围内。尽管大部分形态标本在常温下证实是稳定的,但少数形态标本最好冷藏或冷冻以保证经过重新测试后货架期能够延长。

制备好的标本质控品如需运输,应注意运输过程贮存条件符合标本的贮存要求,还应注意运输过程的生物安全性,防止因运输条件不符合造成的生物危害因子的溢洒、扩散与传播。

附录 B
(资料性附录)

质控品研制均匀性及稳定性评估方法

B.1 均匀性评估方法

可用 F -检验法进行质控品均匀性评估。假定均匀性评估抽取 m 个包装单元,每个包装单元进行 n 次重复测定。

按照公式(B.1)和公式(B.2)分别计算单元间方差和单元内方差:

$$S_1^2 = \frac{n \sum_{i=1}^m (\bar{X}_i - \bar{\bar{X}})^2}{m - 1} \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

- S_1^2 ——均匀性检验中所得的组间均方;
- n ——每一单元内重复测定的次数;
- \bar{X}_i ——第 i 个单元内的测定平均值;
- $\bar{\bar{X}}$ —— m 个单元测定结果的总平均值;
- m ——均匀性检验抽取的单元数。

$$S_2^2 = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{m(n - 1)} \dots\dots\dots (B.2)$$

式中:

- S_2^2 ——均匀性检验中所得的组内均方;
- m ——均匀性检验抽取的单元数;
- X_{ij} ——第 i 个单元内的第 j 个测定值。

按照公式(B.3)计算统计量 F :

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \dots\dots\dots (B.3)$$

该统计量 F 是自由度为 $[m - 1, m(n - 1)]$ 的 F 分布变量。

根据自由度 $[m - 1, m(n - 1)]$ 及给定的显著水平 α ,可由 F 分布临界值表查得临界的 F_α 值。若按公式计算的 F 值满足:

- $F < F_{\alpha, [m-1, m(n-1)]}$ 时,表示组间均方与组内均方无显著差异,样品均匀。
 - $F \geq F_{\alpha, [m-1, m(n-1)]}$ 时,表示组间均方与组内均方有显著差异,样品不均匀。
- 可进一步利用方差分析法评估样品的单元间方差。

B.2 稳定性评估方法

B.2.1 斜率法

斜率法是通过在不同时间检测非可溯源生物质控品的特性值,以时间为 X 轴,以特性值为 Y 轴,观察特性值与时间的关系。为保证评估结果的准确度,线性拟合的点数应不少于 4 个。

按照公式(B.4)计算斜率:

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \dots\dots\dots (B.4)$$

式中:

b_1 ——用时间和特性值拟合直线的斜率;

n ——稳定性检验的重复次数;

X_i ——第 i 个时间点;

Y_i ——第 i 个时间点观测的特性值;

\bar{X} ——所有时间点的平均值;

\bar{Y} ——所有观测特性值的平均值。

按照公式(B.5)计算截距:

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \dots\dots\dots (B.5)$$

式中:

b_0 ——用时间和特性值拟合直线的截距;

b_1 ——用时间和特性值拟合直线的斜率;

\bar{X} ——所有时间点的平均值;

\bar{Y} ——所有观测特性值的平均值。

按照公式(B.6)拟合直线的标准偏差:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2} \dots\dots\dots (B.6)$$

式中:

S ——拟合直线的标准偏差;

n ——稳定性检验的重复次数;

X_i ——第 i 个时间点;

Y_i ——第 i 个时间点观测的特性值。

按照公式(B.7)计算斜率的标准偏差:

$$S(b_1) = \frac{S}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \dots\dots\dots (B.7)$$

式中:

$S(b_1)$ ——斜率的标准偏差;

S ——拟合直线的标准偏差;

n ——拟合直线的点数;

X_i ——第 i 个时间点;

\bar{X} ——所有时间点的平均值。

查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95, n-2}$ 。若 $|b_1| < t_{0.95, n-2} \times S(b_1)$,表明斜率不显著,未观测到不稳定性。

B.2.2 t -检验法

t -检验方法是计算不同时间点取样的平均值,通过比较平均值来评价非可溯源生物质控品的稳定性。

按照公式(B.8)计算 t 值:

$$t = \frac{|\bar{x}_2 - \bar{x}_1|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \times \frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2}}} \dots\dots\dots (B.8)$$

式中:

\bar{x}_1 ——第一次检验测数据的平均值;

\bar{x}_2 ——第二次检验测数据的平均值;

S_1 ——第一次检验测数据的标准偏差;

S_2 ——第二次检验测数据的标准偏差;

n_1 ——第一次检验测的测量次数;

n_2 ——第二次检验测的测量次数。

为了保证平均值和标准偏差的准确度, n_1 、 n_2 应不小于 6。

若 t 小于显著水平 $\alpha=0.05$, 自由度为 $n_1 + n_2 - 2$ 的临界值 $t_{(1-\alpha), (n_1+n_2-2)}$, 则平均值间无显著差异, 稳定性符合要求。



附 录 C (资料性附录)

单纯疱疹病毒 II 型 IgG 抗体质控品质量控制示例

C.1 原料的选择和采集

选用单纯疱疹病毒 II 型 IgG 抗体(简称: HSV-2 IgG)测定值均 ≥ 500 AU/mL 的临床样本血清进行混合制成候选材料,或外购阳性血清作为候选材料(测定值符合上述标准),体积不低于 200 mL(需根据实验室使用量来制定)。筛选 HSV-2 IgG、HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体结果均为阴性的临床样本或外购血清,用于候选材料的稀释。

用有国家食品药品监督管理部门批准的试剂盒(酶联免疫吸附试验)对候选材料中的 HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体进行检测,HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体结果均为阴性。

C.2 制备方法

将候选材料按照不同稀释比例配制成水平 1(30 AU/mL)质控品、水平 2(60 AU/mL)质控品和水平 3(120 AU/mL)质控品。按最终浓度 0.01%加入硫柳汞,充分混匀,该系列质控品为无沉淀物,均匀澄清的液体。

C.3 质控品的初步检测

用 HSV-2 IgG 抗体检测试剂盒对水平 1(30 AU/mL)~水平 3(120 AU/mL)质控品进行初步检测,结果见表 C.1。

表 C.1 初步检测结果

水平	测定值/(AU/mL)	理论值/(AU/mL)	偏差
水平 1	28.5	30	5.0%
水平 2	56.8	60	5.3%
水平 3	115.3	120	3.9%

该结果与理论值偏差小于 15%,符合要求。

C.4 分装与保存

分装前将生物安全柜清洁消毒,紫外照射 30 min。在生物安全柜内分装水平 1~水平 3,分装量为每支 0.5 mL。制备量为 1 000 支/水平。

C.5 均匀性评估

按照 GB/T 15000.3 的要求从分装成最小包装单元的样品中随机抽样,每个浓度水平抽样数目为

25 支,每支样品平行检验 3 次,进行均匀性评估。

水平 1 质控品均匀性评估数据结果见表 C.2。

表 C.2 水平 1 均匀性评估数据结果

单位:AU/mL

测试数	平行检验 1	平行检验 2	平行检验 3
1	27.8	27.8	31.8
2	32.0	28.0	31.4
3	31.9	27.2	28.0
4	32.4	32.8	28.9
5	30.6	29.5	32.1
6	28.3	28.6	32.7
7	27.4	27.7	29.3
8	32.1	31.7	31.6
9	30.8	30.2	32.5
10	31.3	32.1	31.5
11	28.7	30.0	27.0
12	28.1	28.2	30.0
13	31.8	29.4	32.4
14	31.4	32.7	32.5
15	27.3	32.4	28.8
16	27.1	32.5	31.2
17	32.1	31.7	32.8
18	31.7	27.3	27.1
19	29.1	31.5	27.4
20	32.6	30.0	27.2
21	31.3	30.1	27.8
22	32.3	27.3	29.5
23	31.9	27.1	29.5
24	27.2	32.6	30.0
25	27.3	31.7	30.9

水平 2 质控品均匀性评估数据结果见表 C.3。

表 C.3 水平 2 均匀性评估数据结果

单位:AU/mL

测试数	平行检验 1	平行检验 2	平行检验 3
1	55.7	56.6	63.1
2	54.1	65.4	56.6
3	63.4	58.3	61.5

表 C.3 (续)

单位: AU/mL

测试数	平行检验 1	平行检验 2	平行检验 3
4	61.6	62.5	57.0
5	64.0	65.5	65.7
6	60.3	62.7	58.8
7	59.6	63.6	60.2
8	65.3	64.7	61.7
9	55.4	65.1	54.7
10	59.8	63.1	64.2
11	56.6	63.8	56.3
12	59.4	56.4	65.0
13	55.7	57.2	64.5
14	60.7	65.1	64.8
15	60.9	63.4	60.9
16	63.0	57.0	55.1
17	65.9	64.2	63.6
18	63.7	58.9	65.8
19	63.0	59.0	57.5
20	59.0	58.6	57.7
21	63.0	55.2	60.0
22	58.6	60.3	54.1
23	60.7	61.7	61.0
24	54.2	61.7	59.5
25	55.5	63.9	64.9

水平 3 质控品均匀性评估数据结果见表 C.4。

表 C.4 水平 3 均匀性评估数据结果

单位: AU/mL

测试数	平行检验 1	平行检验 2	平行检验 3
1	120.0	122.1	128.1
2	110.6	127.0	127.3
3	124.2	116.0	127.3
4	127.5	123.3	123.9
5	118.7	116.2	110.2
6	123.2	120.2	117.7
7	120.2	123.5	120.3
8	113.6	115.9	125.7

表 C.4 (续)

单位: AU/mL

测试数	平行检验 1	平行检验 2	平行检验 3
9	122.7	121.5	119.2
10	126.7	117.4	129.6
11	119.2	128.7	111.4
12	128.3	128.3	116.7
13	118.1	114.5	118.0
14	123.6	118.5	125.5
15	126.8	125.1	122.9
16	128.9	114.7	110.5
17	120.1	124.7	117.1
18	129.8	115.7	124.5
19	123.1	129.3	118.8
20	129.2	126.3	127.3
21	116.2	120.6	111.3
22	111.1	112.8	112.3
23	123.7	112.7	115.8
24	110.5	121.3	115.3
25	120.3	125.6	110.7

分别对水平 1~水平 3 质控品进行 F 检验的结果见表 C.5。

表 C.5 水平 1~水平 3 F 检验结果统计

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
\bar{X}	30.10	60.63	120.61
S_1^2	4.04	13.62	42.39
S_2^2	3.968	11.735	29.354
F 值	1.019	1.161	1.444

查 F 分布表, $m=25, n=3$, 得临界值 $F_{0.05, (24, 50)} = 1.74$ 。由上表可以看出, 水平 1~水平 3 质控品的 F 值均小于 1.74, 说明单元间方差与单元内方差无显著差异, 样品均匀。

C.6 稳定性评估

C.6.1 稳定性评估设计

分别对开瓶稳定性(使用稳定性)、37 °C 条件下的稳定性和贮存稳定性进行评估, 不同条件的放置时间设计见表 C.6。

表 C.6 稳定性评估条件

条件	放置时间
开瓶稳定性(使用稳定性) (开瓶后 2℃~8℃保存)	0 天
	3 天
	7 天
	14 天
37℃条件下的稳定性	0 天
	3 天
	7 天
	14 天
贮存稳定性 (-18℃以下保存)	0 个月
	3 个月
	6 个月
	9 个月
	12 个月

稳定性评估样品应从最小包装单元中随机抽取。每种质控品随机抽取 26 支,每支进行 2 次重复测定。

C.6.2 开瓶稳定性(使用稳定性)评估

开瓶稳定性(使用稳定性)条件下水平 1~水平 3 质控品放置不同时间的稳定性评估(t 检验)数据结果见表 C.7~表 C.9。

表 C.7 开瓶不同天数的稳定性评估数据结果

天数	水平 1 均值	水平 2 均值	水平 3 均值
0	31.9	62.0	120.1
3	28.1	59.1	119.8
7	27.8	56.2	111.8
14	18.1	35.3	82.3

14 天稳定性结果:查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95,2} = 4.30$ 。

表 C.8 14 天开瓶稳定性评估(t 检验)结果

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
b_0	32.088 9	64.593 2	125.359 5
$ b_1 $	0.937 7	1.911 4	2.814 1
$S(b_1)$	0.179 8	0.417 3	0.628 8
$t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$	0.773 0	1.794 3	2.703 9

由上表可知,3个水平质控品的 $|b_1| > t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$,由此可知开瓶14天观测到3个水平质控品不稳定性。

7天稳定性结果:查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95,1} = 12.71$ 。

表 C.9 7天开瓶稳定性评估(t 检验)结果

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
b_0	31.133 3	61.782 4	121.297 3
$ b_1 $	0.565 5	0.815 5	1.230 4
$S(b_1)$	0.331 2	0.071 4	0.541 9
$t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$	4.209 5	0.907 4	6.887 0

由上表可知,3个水平质控品的 $|b_1| > t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$,由此可知开瓶7天未观测到3个水平质控品的不稳定性。

C.6.3 37℃条件下的稳定性评估

37℃条件下水平1~水平3质控品放置不同时间的稳定性评估(t 检验)数据结果见表 C.10~表 C.12。

表 C.10 37℃条件下不同天数的稳定性评估结果

天数	水平 1 均值	水平 2 均值	水平 3 均值
0	32.6	60.6	128.1
3	31.9	58.2	112.8
7	28.0	56.0	112.1
14	21.2	38.3	79.6

14天稳定性结果:查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95,2} = 4.30$ 。

表 C.11 14天37℃条件下稳定性评估(t 检验)结果

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
b_0	33.5359	62.8641	127.6827
$ b_1 $	0.8518	1.5982	3.2555
$S(b_1)$	0.0971	0.3607	0.6199
$t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$	0.4173	1.5511	2.6657

由上表可知,3个水平质控品的 $|b_1| > t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$,由此可知37℃14天观测到3个水平质控品的不稳定性。

7天稳定性结果:查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95,1} = 12.71$ 。

表 C.12 7 天 37 °C 条件下稳定性评估(t 检验)结果

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
b_0	33.081 1	60.437 8	124.905 4
$ b_1 $	0.674 3	0.651 4	2.171 6
$S(b_1)$	0.208 3	0.070 2	1.383 3
$t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$	2.645 6	0.891 8	17.567 9

由上表可知,3 个水平质控品的 $|b_1| > t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$,由此可知 37 °C 7 天未观测到 3 个水平质控品的不稳定性。

C.6.4 贮存稳定性评估

贮存稳定性条件下水平 1~水平 3 质控品放置不同时间的稳定性评估(t 检验)数据结果见表 C.13~表 C.14。



表 C.13 贮存不同月数的稳定性评估结果

月数	水平 1 均值	水平 2 均值	水平 3 均值
0	31.3	60.9	124.0
3	27.2	56.8	117.6
6	31.8	57.1	117.6
9	29.0	61.1	118.9
12	31.3	63.0	118.5

12 个月贮存稳定性结果:查 t 分布表,得临界值 $t_{0.95,3} = 3.18$ 。

表 C.14 12 个月贮存稳定性评估(t 检验)结果

统计量	水平 1	水平 2	水平 3
b_0	29.760 0	58.080 0	121.260 0
$ b_1 $	0.060 0	0.283 3	0.323 3
$S(b_1)$	0.236 2	0.216 8	0.138 6
$t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$	0.751 1	0.689 5	0.440 7

由上表可知,3 个水平质控品的 $t_{0.95,n-2} \times S(b_1)$,由此可知保存 12 个月未观测到 3 个水平质控品不稳定性。

C.7 定值

在相应检测系统上测试质控品,取水平 1~水平 3 质控品,2 个操作人,上午和下午各测试 1 次,连续测试 5 天,各得到 20 组数据。依据格拉布斯(Grubbs)准则检测结果中的可疑值,将 20 组有效检测结果计算均值 \bar{X} ,标准差 SD ,确定范围 $(\bar{X} \pm 2SD)$ 。

水平 1~水平 3 各 20 组检测数据以及定值汇总见表 C.15。

表 C.15 水平 1~水平 3 各 20 组检测数据及定值汇总表

单位: AU/mL

测试数	水平 1	水平 2	水平 3
1	28.6	61.7	130.2
2	29.8	59.2	105.2
3	30.9	58	125.4
4	27.9	64.3	126.4
5	30.5	65.7	107.9
6	27	54.9	130.6
7	27.6	61.9	128.4
8	27.3	65.7	127.2
9	32.5	64.4	125.7
10	31.7	65.2	121
11	29.9	61.4	127.3
12	29.9	54.2	129.2
13	32.8	54.6	129.5
14	29.1	63.4	108.7
15	31.4	59.3	107.5
16	28.2	59.2	105.5
17	28.4	54.2	113.2
18	29.9	56.9	109.9
19	28.6	59.2	124.9
20	27.3	56.3	108.2
\bar{X}	29.5	60	119.6
SD	1.8	4	9.8
$\bar{X} \pm 2SD$	29.5 ± 3.6	60 ± 8	119.6 ± 19.6

C.8 验收

实验室从外部获得该质控品,按照生产厂家声明的技术要求进行检验,并做好相应检验记录,主要记录内容见表 C.16。

表 C.16 质控品的验收记录

检测项目	厂家技术要求	检测结果	是否符合要求
外观	质控品应不得有凝块、无沉淀,液体无渗漏。 外包装应完整、标签标识清晰	质控品无凝块、无沉淀,液体无渗漏。 外包装完整、标签标识清晰	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准

表 C.16 (续)

检测项目	厂家技术要求	检测结果	是否符合要求
装量	不得低于标示量	水平 1:0.510 mL; 水平 2:0.515 mL; 水平 3:0.510 mL	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准
测定值	在声称的检测系统上用相应试剂盒测定质控品各水平,结果应在给定的范围内	水平 1:30.2 AU/mL; 水平 2:61.2 AU/mL; 水平 3:123.1 AU/mL	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准
均匀性	瓶间变异系数 CV 应不大于 10.0%	水平 1:5.6%; 水平 2:3.4%; 水平 3:2.9%	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准
稳定性	质控品开瓶后在 2℃~8℃保存 7 天,质控品测定结果应在给定的范围内	水平 1:27.5 AU/mL; 水平 2:57.3 AU/mL; 水平 3:110.4 AU/mL	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准
生物安全性	质控品中 HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体结果均为阴性	用有国家食品药品监督管理部门批准的试剂盒 对质控品中的 HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体进行检测,HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体结果均为阴性	<input checked="" type="checkbox"/> 符合标准 <input type="checkbox"/> 不符合标准

C.9 运输

按照说明书要求进行运输,运输过程中温度应实施监控。

C.10 贮存

按照非可溯源生物物质控品要求贮存,并做好相应的贮存条件监控。

C.11 使用

按照 GB/T 20468,来正确使用质控品,并用于质量控制。

C.12 处置

质控品应视为潜在的传染性物质,废弃处理时,按照当地政府和有关国家规定进行。

参 考 文 献

- [1] JJF 1001 通用计量术语及定义
 - [2] JJF1265 生物计量术语与定义
 - [3] JJF 1644 临床酶学标准物质的研制技术规范
 - [4] SN/T 2435 出入境动物检疫诊断试剂盒质量评价规程
 - [5] ISO 指南 80 Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs)
 - [6] ISO 指南 35 Reference materials —Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability
-

