

# 缩宫素注射液效价测定的不确定度评定

李海芳\*,耿文宁,闫明俞(新疆维吾尔自治区食品药品检验所,乌鲁木齐 830004)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2575-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.46

**摘要** 目的:建立缩宫素注射液效价测定的不确定度评定方法。方法:建立评定缩宫素注射液效价测定的不确定度的数学模型,分析其测定不确定度的影响因素,并将由之引起的不确定度分量进行量化分析,计算扩展不确定度。结果:缩宫素注射液效价测定的扩展不确定度为0.20 u/ml,其效价可表示为(9.29±0.20)u/ml,包含因子K=2。结论:该方法适用于缩宫素注射液效价测定的不确定度评定。

**关键词** 缩宫素注射液;效价;测定;不确定度评定

## Uncertainty Evaluation of the Potency Testing of Oxytocin Injection

LI Hai-fang, GENG Wen-ning, YAN Ming-yu (Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute for Food and Drug Control, Urumqi 830004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method of the uncertainty evaluation of the potency testing of Oxytocin injection. METHODS: Mathematical model was established for potency testing of Oxytocin injection to analyze the influential factors of uncertainty. The uncertainty components were quantitatively analyzed and the uncertainty was calculated. RESULTS: The expanded uncertainty of the potency testing of Oxytocin injection was 0.20 u/ml and the potency was (9.29±0.20)u/ml, coverage factor K=2. CONCLUSIONS: The method is suitable for the uncertainty evaluation of potency testing of Oxytocin injection.

**KEYWORDS** Oxytocin injection; Potency; Testing; Uncertainty evaluation

续表2

Continued tab 2

待测成分	称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
芦丁	0.218 7	0.480 1	0.618 6	1.108 2	101.54		
	0.195 4	0.433 4	0.618 6	1.051 6	99.94		

### 2.9 样品含量测定

取3批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别取各组质量浓度约为10 μg/ml的混合对照品溶液与上述供试品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,按外标法计算含量,结果详见表3。

表3 样品含量测定结果(n=3, mg/ml)

Tab 3 Results of content determination of samples (n=3, mg/ml)

编号	槲皮素	山柰素	异鼠李素	芦丁
1	1.458 5	3.536 5	1.456 2	2.192 3
2	1.431 8	3.582 9	1.440 9	2.152 0
3	1.412 7	3.512 4	1.491 7	2.202 1

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

在试验条件摸索过程中,先后尝试了甲醇-水-磷酸、甲醇-水-乙酸等作流动相,最终以流动相A为甲醇-水-乙酸(10:88:2, V/V/V),流动相B为甲醇-水-乙酸(88:10:2, V/V/V),进行梯度洗脱(0 min, 35% B; 8 min, 50% B; 15 min, 70% B; 30 min, 80% B)的分离效果最佳。

### 3.2 流速的选择

由于山柰素与异鼠李素极性相似,较难达到基线分离,在确定流动相的前提下,流速试验了0.6、0.8、1.0 ml/min 3种,最终确定为1.0 ml/min。

### 3.3 检测波长的选择

通过紫外扫描获取槲皮素、山柰素、异鼠李素和芦丁对照品溶液的光谱图,发现4种对照品溶液在320~360 nm波长范围内最大吸收在327 nm,故选择327 nm为本试验的检测波长。

综上所述,本方法专属性强、结果稳定、重复性好,可作为控制银莽胶囊质量的方法。

## 参考文献

- [1] 杜向红,赵红卫,王豫,等.银杏叶提取物对神经系统作用的研究进展[J].中药材,2003,26(11):838.
- [2] 王德伟,朱红,高尔.银杏黄酮的药理作用和临床应用[J].食品与药品,2006,8(6):7.
- [3] 夏安周,邢淑华,张召辉.银杏叶提取物对肾缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2004,20(7):839.
- [4] 贾冬英,耿磊,姚开.苦荞麦茎及籽壳中黄酮类化合物(芦丁)的提取及其鉴定[J].食品科学,1998,19(9):46.
- [5] 张琪,刘慧灵,朱瑞,等.苦荞麦中总黄酮和芦丁的含量测定方法的研究[J].食品科学,2003,24(7):113.
- [6] 姜帆,杨星钢,郭迎新,等.银杏叶制剂溶出液中槲皮素、山柰素与异鼠李素的HPLC测定方法研究[J].沈阳药科大学学报,2013,30(9):691.

(收稿日期:2014-06-10 修回日期:2015-01-16)

(编辑:余庆华)

\* 副主任药师。研究方向:药品检验、药理毒理。电话:0991-2816492。E-mail:lhfhr@163.com

缩宫素注射液效价测定采用2010年版《中国药典》(二部)附录XII F 缩宫素生物测定法<sup>[1]</sup>进行测定。由于该方法为经典的生物检定方法,需要采用动物的离体器官进行检测,因此检测中干扰结果的因素较多、误差较大,当检测结果在标准规定边缘时就很难准确判定其是否符合药典要求。目前,已有关于缩宫素注射液制备及质量分析方法的研究<sup>[2-3]</sup>,但未见关于缩宫素注射液效价测定不确定度评定的文献报道。故笔者参考JJF1059-1999《测量不确定度评定与表示》<sup>[4]</sup>、CNAS-CL07:2011《测量不确定度的要求》<sup>[5]</sup>及有关文献<sup>[6-9]</sup>,对缩宫素注射液效价测定中不确定度分量进行了量化分析,并建立了缩宫素注射液效价测定的不确定度评定方法,以提高测定结果的准确性和可靠性。

## 1 材料

ALCB10型多道生理记录仪(上海奥尔科特生物科技有限公司);ED-13型开口浴槽循环器[优莱博技术(北京)有限公司]。

合成缩宫素标准品(中国食品药品检定研究院,批号:0529-9601,规格:16.6 u/支);缩宫素注射液(某厂生产,批号:1002271,规格:1 ml:10 u);试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 试验方法与结果

### 2.1 标准品溶液的制备

取合成缩宫素标准品1支,加0.9%氯化钠注射液16.6 ml,得1 u/ml标准品溶液。取上述1 u/ml标准品溶液1.0 ml至10 ml量瓶中,用0.9%氯化钠注射液稀释定容得浓度为0.1 u/ml的溶液;取0.1 u/ml标准溶液1.0、0.7 ml分别至10 ml量瓶中,用0.9%氯化钠注射液稀释定容得浓度分别为0.01、0.007 u/ml的溶液,作为标准品的高( $d_{s2}$ )、低( $d_{s1}$ )浓度稀释液。

### 2.2 供试品溶液的制备

取缩宫素注射液(标示量为10 u/ml)1.0 ml至10 ml量瓶中,加0.9%氯化钠注射液定容,得1 u/ml供试品溶液。取上述1 u/ml供试品溶液1.0 ml至10 ml量瓶中,用0.9%氯化钠注射液稀释定容得浓度为0.1 u/ml的溶液;取0.1 u/ml供试品溶液1.0、0.7 ml分别至10 ml量瓶中,用0.9%氯化钠注射液稀释定容得浓度分别为0.01、0.007 u/ml的溶液,作为供试品溶液的高( $d_{t2}$ )、低( $d_{t1}$ )浓度稀释液。

### 2.3 样品效价测定

按药典缩宫素生物测定法测定,并注意操作细节<sup>[10-11]</sup>。取选定的大鼠迅速处死,剖腹取出子宫,仔细分离附在子宫肌上的结缔组织,注意避免因牵拉使子宫肌受损。在子宫分叉处剪下左右2条,取一条将其下端固定于离体器官恒温水浴装置的浴杯底部,上端用线与记录装置相连,以描记子宫肌收缩;浴杯中加入一定量的子宫肌蓄养液(约30 ml),连续通入适量空气,蓄养液应调节至32℃并保持恒温( $\pm 0.5$ ℃)。子宫放入浴杯后,静置30 min,按次序准确注入等体积的标准品或供试品2种浓度稀释液0.6 ml,每次注入药物时,待子宫肌收缩至最高点开始松弛时约90 s,放去蓄养液并用新鲜蓄养液洗涤2次,再加入等量新鲜蓄养液,静置;相邻2次给药的间隔时间应相等,约5 min,每次注入药物应在前一次反应恢复稳定以后进行。标准品和供试品稀释液各取高、低2种浓度( $d_{s2}$ 、 $d_{s1}$ 、 $d_{t2}$ 、 $d_{t1}$ )为一组,按随机区组设计的次序轮流注入每组4种浓度稀释液,重复5组。测量各浓度所致子宫肌收缩的高度,照生物检定统计法(附录XIV)中的量反应平行线测定法计算效价(其

效价应为标示量的91%~116%)及实验误差。本法的可信限率(FL%)不得大于10%。

## 2.4 可靠性检验与效价计算

受试样品依照药典缩宫素生物测定法进行测定,按量反应平行线测定随机区组设计(2.2)法,进行可靠性检验与效价计算。大鼠子宫肌收缩力测定结果见表1。

表1 大鼠子宫肌收缩力测定结果(g)

Tab 1 Determination results of uterus muscle contraction in rats (g)

浓度	子宫肌收缩力					$\Sigma yk$
	1组	2组	3组	4组	5组	
$d_1$	0.580	0.423	0.435	0.254	0.435	2.127
$d_2$	0.798	1.124	1.402	0.955	0.846	5.125
$d_{t1}$	0.423	0.447	0.423	0.435	0.423	2.151
$d_{t2}$	1.148	1.209	1.281	1.112	0.931	5.681
$\Sigma ym$	2.949	3.203	3.541	2.756	2.635	15.084

估计效价(AT)为9 u/ml,剂间比:0.7。回归非常显著( $P < 0.01$ ),偏离平行不显著( $P > 0.05$ ),可信限率为7.6%,样品的测定效价(PT)为9.29 u/ml。则缩宫素注射液效价为标示量的92.9% ( $9.29/10 \times 100\% = 92.9\%$ )。

## 3 测量不确定度评定

### 3.1 测量数学模型

根据量反应平行线测定随机区组设计(2.2)法的计算公式得测量数学模型:

$$P_1 = A_1 \cdot d_{s2} / d_{t2} \cdot \text{antilg}(IV/W)$$

$$V = 1/2 \cdot (T_1 + T_2 - S_1 - S_2)$$

$$W = 1/2 \cdot (T_2 - T_1 + S_2 - S_1)$$

式中, $A_1$ 为估计效价; $d_{s2}$ 为标准品稀释液高浓度; $d_{t2}$ 为供试品稀释液高浓度; $I$ 为剂间比的对数值; $T_1$ 为5组低浓度供试品稀释液引起的子宫肌收缩力的总和; $T_2$ 为5组高浓度供试品稀释液引起的子宫肌收缩力的总和; $S_1$ 为5组低浓度标准品稀释液引起的子宫肌收缩力的总和; $S_2$ 为5组高浓度标准品稀释液引起的子宫肌收缩力的总和。

由计算公式及具体试验过程可以得出,效价测量过程中引入的测量不确定度与标准品的纯度、配制标准品溶液及供试品溶液所用的量瓶及移液管、子宫收缩力测定、微量加样器注入样品体积、温度、标定肌张力传感器使用砝码等均有密切关系。

### 3.2 不确定度来源分析

依据检验方法和数学模型,分析缩宫素注射液效价测定过程中引入不确定度的来源,结果详见图1。

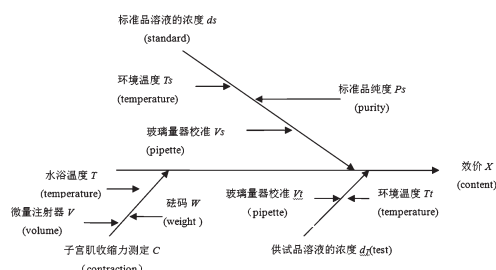


图1 缩宫素注射液效价测定不确定度的来源

Fig 1 Analysis of the sources of uncertainty in potency testing of Oxytocin injection

### 3.3 不确定度各分量的量化分析

3.3.1 子宫肌收缩力测定引入的相对标准不确定度 按以下公式进行计算:

$$f_{(总)} = mk - 1 = 5 \times 4 - 1 = 19$$

$$f_{(剂间)} = k - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$f_{(区组间)} = m - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$f_{(误差)} = f_{(总)} - f_{(剂间)} - f_{(区组间)} = 12$$

$$t = 2.20$$

$$s^2 = 0.019\ 29$$

$$U(C) = \frac{1}{W^2(1-t^2s^2m)/W} \sqrt{ms^2[(1-t^2s^2m/W^2)W^2+V^2]}$$

$$= 0.015\ 13$$

$$U_{rel}(C) = U(C)/\sqrt{m} = 0.006\ 8$$

式中,  $k$  为总剂量数;  $m$  为测试次数;  $f_{(总)}$  为总自由度;  $f_{(剂间)}$  为剂间自由度;  $f_{(区组间)}$  为区组间自由度;  $f_{(误差)}$  为误差自由度;  $t$  为  $t$  值表查询所得;  $s^2$  为误差的方差值。

3.3.2 标准品纯度引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(Ps)$  合成缩宫素标准品由中国食品药品检定研究院提供, 未提供不确定度参数, 设其纯度为 99.95%; 视为矩形分布 ( $k = \sqrt{3}$ )。因此, 标准不确定度  $U(Ps) = 5 \times 10^{-4}/\sqrt{3} = 0.000\ 29$ 。

3.3.3 标准品溶液配制引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(ds)$  A 级 10 ml、1 ml 移液管的容量允差分别为  $\pm 0.020$  ml 和  $\pm 0.007$  ml<sup>[12]</sup>, 按三角分布考虑, 取  $k = \sqrt{6}$ , 则 10 ml 移液管标准不确定度  $U(ds_1) = 0.020/\sqrt{6} = 0.008\ 2$  ml, 相对标准不确定度  $U_{rel}(ds_1) = U(ds_1)/10 = 8.2 \times 10^{-3}/10 = 0.000\ 82$ ; 1 ml 移液管标准不确定度  $U(ds_2) = 0.007/\sqrt{6} = 0.002\ 9$  ml, 相对标准不确定度  $U_{rel}(ds_2) = U(ds_2)/1 = 2.9 \times 10^{-3}/1 = 0.002\ 9$ 。A 级 10 ml 量瓶的容量允差为  $\pm 0.020$  ml, 按三角分布考虑, 取  $k = \sqrt{6}$ , 则 10 ml 量瓶标准不确定度  $U(ds_3) = 0.020/\sqrt{6} = 0.008\ 2$  ml, 相对标准不确定度  $U_{rel}(ds_3) = U(ds_3)/10 = 8.2 \times 10^{-3}/10 = 0.000\ 82$ 。配制中使用 10 ml 量瓶 3 次、10 ml 移液管 2 次、1 ml 移液管 4 次, 则其合成相对标准不确定度  $U_{rel}(ds) = \sqrt{2 \times U_{rel}(ds_1)^2 + 4 \times U_{rel}(ds_2)^2 + 3 \times U_{rel}(ds_3)^2} = 0.006\ 1$ 。

3.3.4 供试品溶液配制引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(d_T)$  A 级 10 ml 量瓶的容量允差为  $\pm 0.020$  ml, 按三角分布考虑, 取  $k = \sqrt{6}$ , 则 10 ml 容量瓶标准不确定度  $U(d_{T1}) = 0.020/\sqrt{6} = 0.008\ 2$  ml, 相对标准不确定度  $U_{rel}(d_{T1}) = U(d_{T1})/10 = 8.2 \times 10^{-3}/10 = 0.000\ 82$ 。A 级 1 ml 移液管的容量允差为  $\pm 0.007$  ml, 按三角分布考虑, 取  $k = \sqrt{6}$ , 则 1 ml 移液管标准不确定度  $U(d_{T2}) = 0.007/\sqrt{6} = 0.002\ 9$  ml, 相对标准不确定度  $U_{rel}(d_{T2}) = U(d_{T2})/1 = 2.9 \times 10^{-3}/1 = 0.002\ 9$ 。配制中使用 10 ml 量瓶 4 次、1 ml 移液管 4 次, 则其合成相对标准不确定度  $U_{rel}(d_T) = \sqrt{4 \times U_{rel}(d_{T1})^2 + 4 \times U_{rel}(d_{T2})^2} = 0.006$ 。

3.3.5 环境温度引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(T_1)$  实验环境在空调条件下, 设室温为  $(20 \pm 5)$  °C。溶剂水的体积膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4}$  °C<sup>-1</sup>, 按照矩形分布考虑, 取  $k = \sqrt{3}$ , 则环境温度引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(T_1) = 5 \times 2.1 \times 10^{-4}/\sqrt{3} = 0.000\ 61$ 。

3.3.6 水浴温度引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(T_2)$  开口浴槽循环器的温度稳定性为  $\pm 0.03$  °C, 按三角分布考虑, 取  $k = \sqrt{6}$ , 则其标准不确定度  $U(T_2) = 0.03/\sqrt{6} = 0.012$  °C, 相对标准不确定度  $U_{rel}(T_2) = U(T_2)/32 = 0.012/32 = 0.000\ 4$ 。

3.3.7 微量加样器引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(V)$  查询微量加样器的校准证书得知校准点为 500  $\mu$ l 时的扩展不确定度  $U(V)$  为 1.6  $\mu$ l,  $K = 2$ , 则其相对标准不确定度  $U_{rel}(V) = 1.6/(2 \times 500) = 0.001\ 6$ 。

3.3.8 由标定肌张力传感器引入的相对标准不确定度  $U_{rel}(W)$  标定肌张力传感器使用检定过的砝码 1 g 和 0.5 g, 查询其检定证书得知 1 g 砝码的最大允许误差为  $\pm 0.3$  mg, 0.5 g 砝码的最大允许误差为  $\pm 0.25$  mg, 则 1 g 砝码的标准不确定度  $U(W_1) = 0.3/2 = 0.15$  mg, 相对标准不确定度为  $U_{rel}(W_1) = U(W_1)/1\ 000 = 0.000\ 15$ ; 0.5 g 砝码的标准不确定度  $U(W_2) = 0.25/2 = 0.125$  mg, 相对标准不确定度  $U_{rel}(W_2) = U(W_2)/500 = 0.000\ 25$ 。因此, 其合成相对标准不确定度  $U_{rel}(W) = \sqrt{U_{rel}(W_1)^2 + U_{rel}(W_2)^2} = 0.000\ 29$ 。

### 3.4 合成相对标准不确定度的计算

标准品的纯度、配制标准品溶液及供试品溶液所用的量瓶及移液管、子宫肌收缩力测定、微量加样器注入样品体积、温度、标定肌张力传感器使用砝码等的不确定度相互独立, 故将上述数据合成得缩宫素效价测定合成相对标准不确定度  $U_{rel}(X) = \sqrt{U_{rel}(C)^2 + U_{rel}(Ps)^2 + U_{rel}(ds)^2 + U_{rel}(d_T)^2 + U_{rel}(T_1)^2 + U_{rel}(T_2)^2 + U_{rel}(V)^2 + U_{rel}(W)^2} = \sqrt{(6.8 \times 10^{-3})^2 + (2.9 \times 10^{-4})^2 + (6.1 \times 10^{-3})^2 + (6 \times 10^{-3})^2 + (6.1 \times 10^{-4})^2 + (4 \times 10^{-4})^2 + (1.6 \times 10^{-3})^2 + (2.9 \times 10^{-4})^2} = 0.011$ 。

### 3.5 扩展不确定度 U

样品的测定效价 ( $P_T$ ) 为 9.29 u/ml, 测量结果的合成相对标准不确定度  $U_{rel}(X) = 0.011$ , 则合成标准不确定度  $U(X) = 9.29 \times 0.11 = 0.10$  u/ml。按惯例, 若取包含因子  $K = 2$ , 得测量结果的扩展不确定度  $U = K \times U(X) = 0.20$  u/ml。因此, 缩宫素注射液效价可表示为  $(9.29 \pm 0.20)$  u/ml,  $K = 2$ , 为标示量的  $(92.9 \pm 2.0)\%$ 。

## 4 讨论

通过对缩宫素注射液效价测定的不确定度评定, 可以看出影响该制剂生物效价测定方法的因素很多, 同时影响值也较大, 因而生物测定法测得效价的不确定度值相比化学含量分析的不确定度值要大。该实验中对不确定度评定贡献由大到小的影响因素排序为: 子宫肌收缩力的测定 > 标准品溶液的配制 > 供试品溶液的配制 > 微量加样器 > 环境温度 > 水浴温度 > 标准品纯度及传感器标定。了解了此类方法中不确定度的主要来源有利于我们今后在实验中加以控制, 尽可能地优化实验操作, 降低引入的不确定度数值。

由于 2010 年版《中国药典》(二部) 要求缩宫素注射液效价应为标示量的 91% ~ 116%, 而本研究中发现测定值为标示量的 92.9%, 属边缘值; 同时考虑到生物测定方法误差较大等因素, 如果以实测值直接判断该品种是否符合药典要求, 会存在较大的风险。因此, 笔者及时对该方法进行了不确定度的评定, 得到扩展不确定度  $U = 0.20$  u/ml, 则该批缩宫素注射液效价为其标示量的 91% ~ 95%, 因而可以判断为符合药典要求。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 119.
- [2] 陈建国, 陆益红, 黄青, 等. 缩宫素的制备及其质量分析研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(5): 698.
- [3] 徐明明, 郑璐侠, 聂亮, 等. 缩宫素的毛细管区带电泳法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(4): 298.
- [4] 全国法制计量技术委员会. JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国计量出版社, 1999.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL07: 2011 测量不确定度的要求[S]. 北京: 中国计量出版社, 2011.

# 荧光定量 RT-PCR 滴度检测法在腮腺炎减毒活疫苗制造中的应用

张敬武<sup>1\*</sup>, 刘先超<sup>2</sup>[1.大连市药品检验所, 辽宁大连 116021; 2.科兴(大连)疫苗技术有限公司, 辽宁大连 116620]

中图分类号 R373.1;R392 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2578-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.47

**摘要** 目的:为促进荧光定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)滴度检测法在腮腺炎减毒活疫苗制造中的实际应用提供参考。方法:建立滴度- $c$ 值标准曲线回归方程;分别用微量细胞病变法和荧光定量 RT-PCR 滴度检测法对 10 批腮腺炎减毒活疫苗单次收获液及成品进行滴度检测,比较检测结果。结果:两种方法检测结果经配对  $t$  检验分析,  $P$  分别为 0.743、0.868, 差值均值分别在  $(-0.174, 0.094)$ 、 $(-0.113, 0.153)$  之间, 差异无统计学意义, 可以认为等同。结论:荧光定量 RT-PCR 滴度检测法可用于腮腺炎减毒活疫苗制造过程中的单次收获液及成品滴度检测, 有望进一步升级为《中国药典》方法。

**关键词** 腮腺炎减毒活疫苗; S79 株; 荧光定量逆转录-聚合酶链反应滴度检测法; 病毒滴度

## Application of Fluorescence Quantitative RT-PCR for Live-attenuated Mumps Vaccine Manufacturing

ZHANG Jing-wu<sup>1</sup>, LIU Xian-chao<sup>2</sup>[1.Dalian Institute for Drug Control, Liaoning Dalian 116021, China; 2.Sino-vac (Dalian) Vaccine Technology Co., Ltd., Liaoning Dalian 116620, China]

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide reference for improving the practical application of fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for the live-attenuated mumps vaccine manufacturing. METHODS: A regression equation of standard titer- $c$  value was established; micro cytopathic effect (micro-CPE) and fluorescence quantitative RT-PCR were respectively adopted for the titer of 10 batches of single harvest liquid of live-attenuated mumps vaccine and end products, and the results were compared. RESULTS: According to the  $t$ -test analysis, the  $P$  were respectively 0.743 and 0.868, and the average values were in the range of  $(-0.174, 0.094)$  and  $(-0.113, 0.153)$ , with no significant differences. They were similar. CONCLUSIONS: Fluorescence quantitative RT-PCR can be used for the titer detection of single harvest liquid and end products in the process of live-attenuated mumps vaccine manufacturing. And it is expected to further upgrade to *Chinese Pharmacopoeia* method.

**KEYWORDS** Live-attenuated mumps vaccine; S79 strain; Fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction; Titer of virus

腮腺炎疫苗是一种常见的儿童接种疫苗,主要用于预防流行性腮腺炎。我国用于生产该疫苗的病毒株主要为 S79 株,为 RNA 病毒,属副黏病毒科。目前,国内判定腮腺炎减毒活疫苗病毒滴度的方法一直采用微量细胞病变法<sup>[1]</sup>,为《中国药典》法定方法,但该方法消耗时间长、定量精确性低、影响因素较多。而国内外已有荧光定量逆转录-聚合酶链反应(Reverse transcription-Polymerase chain reaction, RT-PCR)滴度检测法

(简称荧光定量 RT-PCR 滴度检测法)在疫苗制造、疾病诊断等方面应用的报道。本试验通过对上述两种方法用于腮腺炎减毒活疫苗单次收获液及成品的病毒滴度检测的结果进行比较,旨在为荧光定量 RT-PCR 滴度检测法在腮腺炎减毒活疫苗制造中的实际应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

- [6] 钱桂英,柏大为.微生物检定法测定庆大霉素普鲁卡因胶囊中庆大霉素含量的不确定度分析[J].中国药房,2011,22(45):4 289.
- [7] 李海芳,王维剑,朱毅忠.注射器针尖刺穿力测定的不确定度分析[J].中国医疗器械信息,2011,17(7):55.
- [8] 刘英.效价测定法标定标准品含量的不确定度分析[J].中国计量,2006(6):70.
- [9] 谢鹏.注射用门冬酰胺酶效价测量的不确定度评定[J].

- 广东轻工职业技术学院学报,2011,10(1):18.
- [10] 李海芳,钱德明.缩宫素生物效价测定实验的几点体会[J].中国药品标准,2008,9(4):247.
- [11] 朱爱民,李昇刚,袁雪涛,等.缩宫素生物测定试验中离体子宫的稳定性研究[J].中国药事,2011,25(10):988.
- [12] 全国流量容量计量技术委员会.JJG196-2006 常用玻璃量器检定规程[S].北京:中国计量出版社,2006.

(收稿日期:2014-05-14 修回日期:2015-05-07)

(编辑:周 箐)

\* 主管药师,硕士。研究方向:药物分析、分子生物学。E-mail: gssyphu@163.com