

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.04.03

伊维菌素注射液含量测定的兽药检测实验室能力比对结果分析

戴青,王轩,赵晖,韩宁宁,杨秀玉,张秀英*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2021-10-04 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 04-0017-05 [中图分类号] S851.66

[摘要] 为加强兽药检验检测机构能力建设,进一步提升检测技术水平,组织开展了全国省级兽药检测机构伊维菌素注射液含量测定的能力比对。依据《中国兽药典》2020 年版一部附录 0512 高效液相色谱法以及中国合格评定国家认可委员会(CNAS)规定的程序进行本次能力比对。采用单因子方差分析对制备的测试样品进行均匀性检验,采用 t 检验对样品进行稳定性考察,采用 Z 比分数评价各参加实验室的测试结果,以稳健统计的平均值作为指定值。参加本次能力比对的 34 家兽药检测实验室中,32 家结果为满意,满意率 94.1%。

[关键词] 伊维菌素注射液含量测定;能力比对;高效液相色谱法; Z 比分数

Result Analysis of Laboratory Capability Comparison of Veterinary Drug Inspection for Content Determination of Ivermectin Injection

DAI Qing, WANG Xuan, ZHAO Hui, HAN Ning-ning, YANG Xiu-yu, ZHANG Xiu-ying*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: ZHANG Xiu-ying, E-mail: xiu1875@163.com

Abstract: In order to strengthen the capacity-building of veterinary drug inspection and testing institutions and further improve the level of detection technology, veterinary drug testing and other relevant institutions were organized to carry out the capability comparison of content determination of Ivermectin Injection. This capability comparison was carried out according to appendix 0512 high performance liquid chromatography of the Chinese Veterinary Pharmacopoeia (2020 edition) and the procedure prescribed by China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS). The homogeneity of the samples was tested by one-way ANOVA, and the stability of the samples was examined by t -test which met the requirements. The Z -score was used to evaluate the test results of the participating laboratories. The average value of robust statistics was used as the specified values. Among the 34 veterinary drug testing laboratories participating in the capability comparison, 32 were

作者简介: 戴青,硕士,从事抗生素检验检测工作。
通讯作者: 张秀英。E-mail: xiu1875@163.com

satisfied, with a satisfaction rate of 94.1%.

Key words: content determination of Ivermectin Injection; capability comparison; high performance liquid chromatography; Z -score

伊维菌素是阿维菌素的衍生物,由阿维链霉菌发酵产生,对畜禽体内外寄生虫特别是线虫和节肢动物均有良好的驱杀作用,是兽医临床深受重视的高效抗寄生虫药物^[1-2]。《中国兽药典》2020 年版一部^[3] 记载了伊维菌素注射液的质量标准,采用高效液相色谱法测定伊维菌素的含量。采用高效液相色谱法进行含量测定是兽药质量控制的关键指标,在实验室日常工作中属于高频次检验项目,该项目检测结果的准确性关系到临床用药的有效性和安全性,因此实验室对该项检测能力的掌握十分重要^[4]。实验室间比对是按照预先规定的条件,由两个或多个实验室对相同或类似的被测样品进行检测的组织、实施和评价,从而确定实验室能力,识别实验室存在的问题与实验室间的差异,是判断和监控实验室能力的有效手段之一。本研究对中国 34 家兽药检测机构采用高效液相色谱法测定伊维菌素注射液含量的能力进行测试(图 1),其中省级兽药检测机构 29 家,第三方检测机构 3 家,兽药生产企业 2 家。研究能力比对样品的均匀性与稳定性、结果统计、能力评价等情况,并对测试结果进行讨论。

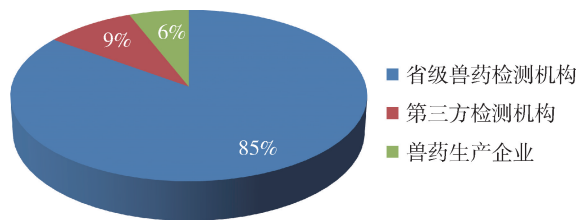


图 1 参加实验室比例分布图

Fig 1 Proportion distribution of participating laboratories

1 材料与方法

1.1 材料 高效液相色谱仪(2695 型,Waters 公司);紫外检测器(2487 型,Waters 公司);电子天平(XS205DU 型,Mettler Toledo 公司);甲醇(色谱纯,Merck 公司);乙腈(色谱纯,Merck 公司);伊维菌素对照品(来源/批号/含量:中国兽医药品监察所/

K0192007/92.0%)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 能力比对样品为伊维菌素注射液,规格为 5 mL:50 mg,采用安瓿包装,每支装量为 5 mL,保存条件为遮光,密闭,在阴凉干燥处保存。

1.2.2 样品均匀性和稳定性考察 根据 CNAS-GL003《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》要求^[5],从能力比对样品中随机抽取 10 支进行均匀性检验,每支样品在重复性条件下测定 2 次,采用单因子方差分析法计算统计量 F 值。为考察样品对运输过程中高温的耐受性,随机抽取 4 支样品放置于 40 °C 下,分别放置 1 d、3 d、5 d、7 d 后测定伊维菌素含量。为考察样品对高湿环境的耐受性,随机抽取 4 支样品放置于相对湿度 80% 条件下,分别放置 1 d、3 d、5 d、7 d 后测定伊维菌素含量。每支样品在重复性条件下测定 3 次,采用 t 检验法分别将高温、高湿条件测定结果的平均值与第 0 天均匀性检验样品的测定结果进行比较。

1.2.3 评定方法及标准 根据 CNAS-GL002《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》要求,采用稳健统计法计算各参加实验室的 Z 值^[6]。本项能力比对统计分析采用稳健统计方法,以各实验室测定结果的稳健平均值作为指定值(X),以各实验室测定结果的稳健标准差作为能力评定标准差(σ)。将各实验室报告的两次测定结果计算平均值作为实验室测试结果(x),根据以下公式计算实验室 Z 比分数。

$$Z = (x - X) / \sigma$$

以 Z 比分数评价各实验室结果,即:若同一实验室两份样品的 Z 比分数均满足 $|Z| \leq 2$,检测结果为满意结果;若同一实验室两份样品的 Z 比分数有 1 个或两个满足 $2 < |Z| < 3$,检测结果为有问题;若同一实验室两份样品的 Z 比分数有 1 个或两个满足 $|Z| \geq 3$,检测结果为不满意结果或离群值。

2 结果与分析

2.1 样品均匀性考察结果 样品的均匀性测定结果见表 1 – 表 2,采用单因子方差分析法计算统计量 F 值,F 临界值 $F_{0.05(9,10)} = 3.02$,统计量 F 小于 3.02,表明在 0.05 显著性水平时,样品是均匀的。

表 1 能力比对样品伊维菌素注射液含量均匀性考察结果

Tab 1 Results of content uniformity of Ivermectin Injection in capacity comparison samples			
样品号	测定次数 1 含量/%	测定次数 2 含量/%	平均含量 /%
1	94.61	94.78	94.70
2	94.41	94.46	94.44
3	94.20	93.62	93.91
4	94.61	95.12	94.87
5	93.44	94.98	94.21
6	95.18	94.92	95.05
7	94.48	95.42	94.95
8	92.65	94.54	93.60
9	94.94	92.07	93.51
10	94.72	94.43	94.58

表 3 40 ℃条件下放置稳定性考察结果

Tab 3 Results of storage stability at 40 ℃						
	测定次数 1 含量/%	测定次数 2 含量/%	测定次数 3 含量/%	平均含量/%	总体平均值/%	SD/% t
1 天	93.91	93.84	93.73	93.83	93.91	0.458 1.774
3 天	93.31	93.20	93.34	93.28		
5 天	93.93	94.72	94.17	94.27		
7 天	94.14	94.32	94.28	94.25		

表 4 相对湿度 80 %、25 ℃条件下放置稳定性考察结果

Tab 4 Results of storage stability at 25 ℃ and relative humidity of 80 %						
	测定次数 1 含量/%	测定次数 2 含量/%	测定次数 3 含量/%	平均含量/%	总体平均值 /%	SD/% t
1 天	94.04	95.61	94.72	94.79	94.26	0.792 0.399
3 天	94.43	93.26	94.53	94.07		
5 天	94.27	92.89	93.24	93.47		
7 天	94.81	94.34	94.96	94.70		

2.3 能力比对结果 参加本项能力比对的 34 家单位均在规定时间内报送了检测结果 (表 5,图 2 – 图 3),对所有结果进行格拉布斯检验,无离群值。

表 5 检测结果统计量汇总

Tab 5 Summary of test result statistics							
测定项目	参加实验室数	结果统计数	稳健平均值/%	能力评定标准差/%	最大值/%	最小值/%	极差/%
含量测定	34	34	93.81	1.4627	96.98	92.24	4.74

表 2 均匀性考察方差分析结果

Tab 2 Variance analysis results of uniformity investigation								
总平 均值	测定总 次数	样品间 平方和 Q1	样品内 平方和 Q2	f_1	f_2	F	$F_{0.05(9,10)}$	
94.38 %	20	5.5619×10^{-4}	7.9219×10^{-4}	9	10	0.78	3.02	

2.2 样品稳定性考察结果 采用单一样本 t 检验的方法对高温、高湿条件测定结果的平均值与第 0 天均匀性检验样品测定结果进行比较 (表 3 – 表 4),查表得在显著性水平 $\alpha = 0.05$,自由度为 30 ($n_1 + n_2 - 2$) 时 $t_{0.03,30}$ 的临界值为 2.042,统计量 t 值小于 2.042,表明样品在 40 ℃ 和相对湿度 80% 条件下分别放置 7 天与第 0 天含量测定结果无显著性差异,样品是稳定的。

本项能力比对 32 家单位的结果为满意,2 家单位结果有问题,满意率 94.1 %。

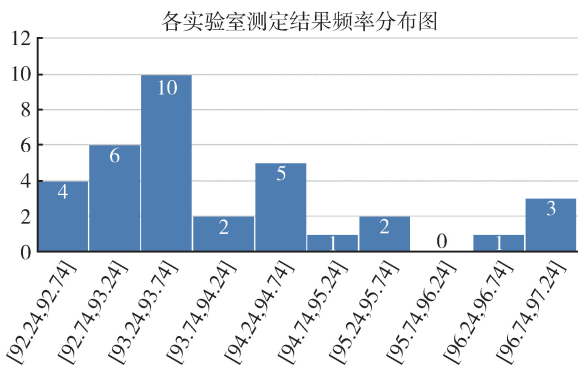


图 2 参加实验室检测结果频率分布图

Fig 2 Frequency distribution of participating laboratories' results

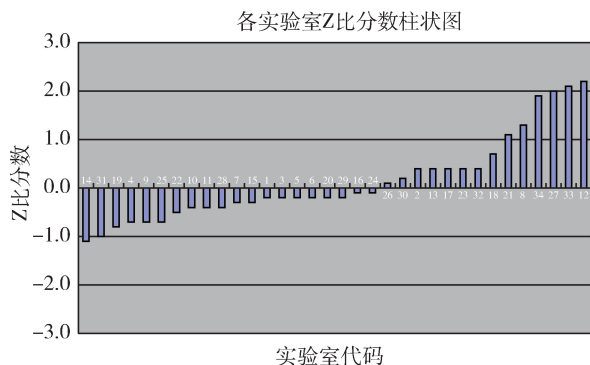


图 3 参加实验室检测结果 Z 比分数图

Fig 3 Z-score of participating laboratories' test results

3 讨论与结论

本项能力比对要求配制的溶液浓度为 0.2 mg/mL, 有 3 家实验室对照品称量仅约 10 mg, 称样量少可能导致测定结果的不准确性。定量测定时, 对照品溶液和供试品溶液均应分别配制两份进行测定^[7], 有 4 家实验室对照品溶液仅配制一份, 其测定结果的偏差直接影响供试品溶液的测定。建议日常检测中采用双样双针进样, 以降低实验中仪器误差。在溶液的配制过程中, 玻璃仪器的精度不足、定容操作失误、样品是否完全溶解等因素均会对实验结果产生较大影响, 实验中所用的移液管与容量瓶均应经检定合格后方可使用。本项能力比对规定供试品取样方法为精密量取, 应选择准确度符合国家标准精密度要求的移液管进行取样, 在使用移液管时, 需考虑润洗、流出时间、等待时间等因素的

影响^[8]。

本项能力比对涉及的主要仪器设备为高效液相色谱仪和分析天平, 所有仪器设备在使用期间均应按使用频繁程度和仪器的稳定性定期校准, 并对校准结果进行确认, 满足检验要求后方可使用, 必要时还应进行期间核查。高效液相色谱法属于仪器分析法, 《中国兽药典》中要求对色谱系统进行适用性试验, 一般要求用对照品溶液连续进样 5 次, 其峰面积测量值的相对标准偏差应不大于 2.0%。能力比对样品及标准物质应按照作业指导书规定的环境条件进行储存, 需放至室温后开瓶并立即使用。在称量过程中, 标准物质由冷藏条件取出后, 未放至室温或开瓶后放置时间过长, 则可能引湿或失水, 从而引入较大系统偏差。

伊维菌素注射液含量测定能力比对的主要目的是为了评价参加实验室采用高效液相色谱法进行含量测定的水平, 有助于实验室进一步提高检测技术和加强质量管理。本研究首次对中国 34 家兽药检测机构伊维菌素注射液含量测定能力进行了测试, 通过稳健统计法计算各参加实验室的 Z 值, 测试结果的满意率为 94.1%, 表明承担兽药监督抽检和风险监测任务的单位具有较高的高效液相色谱法检验检测能力。各检测机构应进一步完善质量管理, 不断提高实验室检测技术和实验室管理水平, 确保日常检测结果准确、可靠。

参考文献:

- [1] 李朋朋, 张 聪, 张晓会, 等. 两种伊维菌素注射液在家兔体内的生物等效性研究 [J]. 中国兽药杂志, 2016, 50 (1): 43-46.
- [2] 刘根新, 王福厚, 车清明, 等. 伊维菌素不同制剂在兽医临床的应用 [J]. 中国兽药杂志, 2011, 45 (12): 53-55.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典一部 2020 年版 [S].

Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. The First Volume of Chinese Veterinary Pharmacopoeia 2020 Edition [S].

[4] 姚尚辰,马步芳,张培培,等. 抗生素 HPLC 含量测定能力验证研究[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(10): 1034 – 1039.

Yao S C, Ma B F, Zhang P P, *et al.* The Proficiency Testing for the Determination of Antibiotics by HPLC – based Assays [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2020, 45(10): 1034 – 1039.

[5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS – GL003:能力验证样品均匀性和稳定性评价指南. 2018 [Z].

China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS – GL003: Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing [Z]. 2018.

[6] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS – GL002:能力验证结果的统计处理和能力评价指南. 2018 [Z].

China National Accreditation Service for Conformity Assessment.

CNAS – GL002: Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation [Z]. 2018.

[7] 中国食品药品检定研究院. 中国药品检验标准操作规程 2019 年版[S].

National Institutes for Food and Drug Control. Chinese Standard Operation Specification for Drug Inspection 2019 Edition [S].

[8] 李启华,刘爱芬,冯莉华,等. 吸量管规范化使用的探讨[J]. 理化检验 – 化学分册, 2016, 52(1): 70 – 73.

Li Q H, Liu A F, Feng L H, *et al.* Discussion on Standardized Use of Pipette [J]. Physical Testing and Chemical Analysis, 2016, 52(1): 70 – 73.

(编辑:陈希)