

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.05.07

磺胺间甲氧嘧啶钠注射液含量测定的能力比对结果分析

彭文绣,王雷,张秀英,马秋冉*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2022-10-20 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 05-0041-06 [中图分类号] S859.79

[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磺胺间甲氧嘧啶钠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 0701 电位滴定法与永停滴定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。分别采用单因子方差分析法和 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则对测试样品进行均匀性检验,采用 t 检验方法和 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则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。参加本次能力比对的 36 家兽药检测实验室中,33 家结果为满意,满意率 91.7%。

[关键词] 磺胺间甲氧嘧啶钠注射液含量测定;能力比对;永停滴定法;Z 比分数

Result Analysis of Laboratory Capacity Comparison for Content Determination of Sulfamonomethoxine Sodium Injection

PENG Wen-xiu, WANG Lei, ZHANG Xiu-ying, MA Qiu-ran*

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

Corresponding author: MA Qiu-ran, E-mail: maqiuran1989@foxmail.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 the capacity comparison of content determination of Sulfamethoxine Sodium Injection. According to appendix 0701 potentiometry and dead-stop titration of the Chinese Veterinary Pharmacopoeia (2020 edition) and the procedures stipulated by China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS), this comparison was carried out. The homogeneity of the samples were tested by one-way ANOVA and $S_s \leq 0.3\sigma$ criteria, respectively, and the stability of the samples were examined by t -test and $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ criteria which met the requirements. The Z-score was used to evaluate the test results of each participating laboratory.

作者简介: 彭文绣, 硕士, 从事兽药检验检测工作。

通讯作者: 马秋冉。E-mail: maqiuran1989@foxmail.com

Among the 36 veterinary drug testing laboratories that participated in the capacity comparison, 33 were satisfied with the results, with a satisfaction rate of 91.7%.

Key words: content determination of sulfamethoxine sodium injection; capacity comparison; dead – stop titration; Z – score

磺胺间甲氧嘧啶钠是一种广谱抗菌药,对大多数革兰氏阳性菌和阴性菌都有较强抑制作用,能用于由敏感菌引起的各种疾病,如:猪弓形虫病,禽、兔球虫病等^[1]。《中国兽药典》2020 年版一部^[2] 收录了磺胺间甲氧嘧啶钠注射液的质量标准,采用永停滴定法测定磺胺间甲氧嘧啶钠的含量。作为容量分析方法的一种,永停滴定法仪器装置简单,操作方便快捷,无需对照品且还具有较高的准确性,在兽药生产分析中被广泛应用。但该方法对仪器设备的性能状况(如参数设置、仪器稳定性、电极选择及维护等)要求较高,若使用不当,将导致结果出现偏差,而含量测定结果的准确性直接关系到临床用药的安全、有效,因此,实验室需熟练掌握该项检测能力。

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、实施和评价活动,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。这是判断和监控实验室能力的有效手段之一。本研究将对参加的兽药检测机构采用永停滴定法测定磺胺间甲氧嘧啶钠注射液含量的能力进行测试,并对结果进行分析,以评价实验室的检测工作质量和检测能力。

1 材料与方 法

1.1 材料 自动电位滴定仪(819 型, Metrohm), A 级 5 mL 移液管,其他试剂均为分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备 能力比对样品为磺胺间甲氧嘧啶钠注射液,规格为 10 mL: 1 g,采用透明玻璃安瓿包装,每支装量为 10 mL,保存条件为遮光,密闭保存。

1.2.2 样品均匀性和稳定性考察 根据 CANS – GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价

指南》要求^[3],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,分别采用单因子方差分析法和 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则判定样品是否均匀。为考察样品对运输过程中高温、高湿的耐受性,随机抽取 4 支样品于 40 ℃、相对湿度 80% 的极端条件下,分别放置 5、10 d 后测定磺胺间甲氧嘧啶钠含量。每支样品在重复性条件下测定 2 次,采用 t 检验法将各条件下的测定结果与第 0 天均匀性检验的结果进行比较,同时采用 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则评价样品稳定性。此外,还对样品长期稳定性进行考察,分别测定样品在保存条件下放置 21、42、126 d 的含量。在每个时间点各随机取样 4 支,每支样品重复测定 2 次,将各时点下的测定结果与均匀性检验的结果进行比较,分别用 t 检验方法和 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则评定样品的稳定性。

1.2.3 评定方法及标准 根据 CNAS – GL002: 2018《能力验证结果的统计处理和评价指南》要求^[4],采用 Z 比分数(Z 值)评价实验室的检测能力。以专家实验室的 75 个测定结果平均值为指定值, X 为 97.6%, 不确定度为 0.5% ($k=2$),溯源至对氨基苯磺酸基准物/MACKLIN/C13045386;以参加实验室报送结果的标准化四分位距为标准差 $\hat{\sigma}$, 计算参加实验室结果的 Z 值,即: $Z = \frac{x - X}{\hat{\sigma}}$,其中

x 为参加者结果,并按照下列规则进行结果评价:若 $|Z| \leq 2$,检测结果为满意;若 $2 < |Z| < 3$,检测结果为可疑;若 $|Z| \geq 3$,检测结果为不满意。

2 结果与分析

2.1 参加实验室范围 本计划共有 36 家实验室报名参加,分布于全国除港澳台外的 29 个省(自治区)、直辖市(表 1)。其中,省级兽药检测机构 29 家、第三方检测机构 7 家。

表 1 参加实验室分布情况

Tab 1 the distribution of participating laboratories

| 省、自治区、 直辖市 | 省级兽药 检测机构 | 第三方 检测机构 | 合计 |
|---------------|--------------|-------------|----|
| 北京 | 1 | 1 | 2 |
| 天津 | 1 | 0 | 1 |
| 河北 | 1 | 0 | 1 |
| 山西 | 1 | 0 | 1 |
| 内蒙古 | 1 | 0 | 1 |
| 辽宁 | 1 | 1 | 2 |
| 吉林 | 1 | 0 | 1 |
| 黑龙江 | 1 | 0 | 1 |
| 上海 | 1 | 0 | 1 |
| 江苏 | 1 | 0 | 1 |
| 浙江 | 1 | 0 | 1 |
| 安徽 | 1 | 0 | 1 |
| 福建 | 1 | 0 | 1 |
| 江西 | 1 | 0 | 1 |
| 山东 | 1 | 1 | 2 |
| 河南 | 1 | 1 | 2 |
| 湖北 | 1 | 1 | 2 |
| 湖南 | 1 | 0 | 1 |
| 广东 | 1 | 1 | 2 |
| 广西 | 1 | 0 | 1 |
| 海南 | 1 | 0 | 1 |
| 重庆 | 1 | 1 | 2 |
| 四川 | 1 | 0 | 1 |
| 贵州 | 1 | 0 | 1 |
| 云南 | 1 | 0 | 1 |
| 陕西 | 1 | 0 | 1 |
| 青海 | 1 | 0 | 1 |
| 宁夏 | 1 | 0 | 1 |
| 新疆 | 1 | 0 | 1 |
| 合计 | 29 | 7 | 36 |

2.2 样品均匀性考察结果 样品的均匀性测定及检验结果见表 2~表 3。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。参加实验室数据回收后, 同时对样品均匀性采用 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则进行评价: 样品间均方 $MS_1 = 0.1348$, 样品内均方 $MS_2 = 0.0826$, 测量次数 $n = 2$,

能力对比标准差 $\sigma = 0.6203$, $0.3\sigma = 0.1861$, 统计量 $S_s = 0.1616$, $S_s < 0.3\sigma$, 结果同样表明样品在本能力对比计划中是均匀的。

表 2 能力比对样品磺胺间甲氧嘧啶钠注射液
含量均匀性考察结果

Tab 2 results of content uniformity of Sulfamethoxine
Sodium Injection incapacity comparison samples

| 样品号 | 测定次数 1 含量/% | 测定次数 2 含量/% |
|-----|-------------|-------------|
| 1 | 97.67 | 97.05 |
| 2 | 97.32 | 97.30 |
| 3 | 97.08 | 97.39 |
| 4 | 97.19 | 97.60 |
| 5 | 97.71 | 97.35 |
| 6 | 97.80 | 98.01 |
| 7 | 97.72 | 97.67 |
| 8 | 97.67 | 97.93 |
| 9 | 98.30 | 97.81 |
| 10 | 97.92 | 97.78 |

表 3 能力比对样品均匀性检验结果

Tab 3 test results of homogeneity of capacity
comparison samples

| 总平 均值 | 测定 总次数 | 样品间 均方 MS_1 | 样品内 均方 MS_2 | f_1 | f_2 | F | $F_{0.05(9,10)}$ | 结果 判定 |
|----------|-----------|------------------|------------------|-------|-------|------|------------------|----------|
| 97.6% | 20 | 0.1348 | 0.0826 | 9 | 10 | 1.63 | 3.02 | 样品 均匀 |

2.3 样品影响因素稳定性考察结果 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 4), 查表得在显著性水平 $\alpha = 0.05$, 自由度为 $26(n_1 + n_2 - 2)$ 时 $t_{0.05,26}$ 的临界值为 2.056, 统计量 t 值小于 2.056, 表明样品在 40℃ 和相对湿度 80% 条件下放置 10 d 与第 0 天含量测定结果无显著性差异, 样品是稳定的。此外, 还采用 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则验证极端条件下的稳定性, 其中 \bar{x} 为均匀性检验的总体平均值; \bar{y} 为稳定性检验时, 对随机抽出样品的测量平均值; σ 为能力对比标准差, 0.3σ 为 0.1861, 样品含

量测定的 $|\bar{x} - \bar{y}|$ 均小于 0.3σ , 表明样品含量稳定。

$$|\bar{x} - \bar{y}|_{5d} = |97.6135 - 97.6312| = 0.0177$$

$$|\bar{x} - \bar{y}|_{10d} = |97.6135 - 97.7225| = 0.1090$$

表 4 相对湿度 80%、40 °C 条件下放置稳定性考察结果

Tab 4 results of storage stability at 40 °C and relative humidity of 80%

| 样本 | 放置 5 d | | | 放置 10 d | | |
|-------|------------------------|--------|-------|---------|--------|-------|
| | 测定 1/% | 测定 2/% | 平均值/% | 测定 1/% | 测定 2/% | 平均值/% |
| 1 | 97.39 | 97.72 | 97.56 | 97.94 | 97.96 | 97.95 |
| 2 | 97.59 | 97.59 | 97.59 | 97.85 | 97.73 | 97.79 |
| 3 | 97.39 | 97.59 | 97.49 | 97.47 | 97.67 | 97.57 |
| 4 | 97.78 | 98.00 | 97.89 | 97.48 | 97.68 | 97.58 |
| 平均值 | 97.6 | 97.7 | t 值 | 0.89 | 0.39 | |
| t 临界值 | $t_{(20+8-2)} = 2.056$ | | | | | |
| 结果判断 | t 值 < t 临界值, 稳定 | | | | | |

2.4 样品长期稳定性考察结果 采用单一样本 t 检验的方法对保存条件下放置 21、42、126 d 测定结果的平均值分别与第 0 天均匀性检验样品测定结果进行比较(表 5), 结果表明, 样品在保存条件下放置 126 d 稳定, 样品含量不改变。采用 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则验证极端条件下的稳定性, 其中 \bar{x} 为均匀性检验的总体平均值; \bar{y} 为稳定性检验时, 对随机抽出样品的测量平均值; σ 为能力比对标准差, 0.3σ 为 0.1861, 样品含量测定的 $|\bar{x} - \bar{y}|$ 均小于 0.3σ 。结果同样表明该样品在规定储存条件下是稳定的。

$$|\bar{x} - \bar{y}|_{21d} = |97.6135 - 97.6150| = 0.0015$$

$$|\bar{x} - \bar{y}|_{42d} = |97.6135 - 97.6812| = 0.0677$$

$$|\bar{x} - \bar{y}|_{126d} = |97.6135 - 97.4875| = 0.1260$$

2.5 能力比对结果 报名参加本计划的单位均在规定时间内报送了检测结果(表 6, 图 1、图 2)。经过统计分析, 有 33 家单位的测定结果为满意, 1 家单位测定结果可疑, 2 家单位的测定结果有问题, 满意率为 91.7%。

表 5 长期稳定性考察结果/%

Tab 5 results of long-term stability

| 样本 | 放置 21 d | | | 放置 42 d | | | 放置 126 d | | |
|-------|-----------------------|-------|------|---------|-------|------|----------|-------|------|
| | 测定 1 | 测定 2 | 平均值 | 测定 1 | 测定 2 | 平均值 | 测定 1 | 测定 2 | 平均值 |
| 1 | 97.65 | 97.58 | 97.6 | 97.54 | 97.73 | 97.6 | 97.69 | 97.65 | 97.8 |
| 2 | 97.64 | 97.60 | 97.6 | 97.74 | 97.79 | 97.8 | 97.67 | 97.79 | 97.7 |
| 3 | 97.67 | 97.52 | 97.6 | 97.58 | 97.72 | 97.6 | 97.39 | 97.32 | 97.4 |
| 4 | 97.55 | 97.71 | 97.6 | 97.78 | 97.57 | 97.7 | 97.14 | 97.25 | 97.2 |
| 平均值 | | 97.6 | | | 97.7 | | | 97.5 | |
| t 值 | | 0.99 | | | 0.57 | | | 0.34 | |
| t 临界值 | $t_{(20+8-2)} = 2.06$ | | | | | | | | |
| 结果判断 | t 值 < t 临界值, 稳定 | | | | | | | | |

表 6 检测结果统计量汇总

Tab 6 Summary of test result statistics

| 测定项目 | 参加实验室数 | 结果统计数 | 中位值/% | 标准化四分位距/% | 最大值/% | 最小值/% | 极差/% |
|------|--------|-------|-------|-----------|-------|-------|------|
| 含量测定 | 36 | 36 | 97.4 | 0.43 | 99.1 | 95.4 | 3.7 |

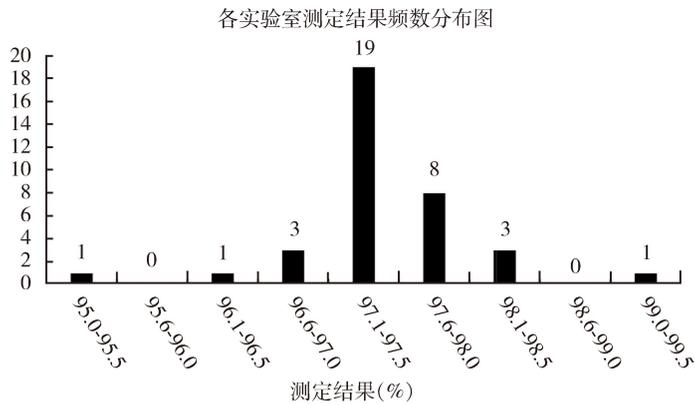


图 1 参加实验室检测结果频数分布图

Fig 1 frequency distribution of participating laboratories' results

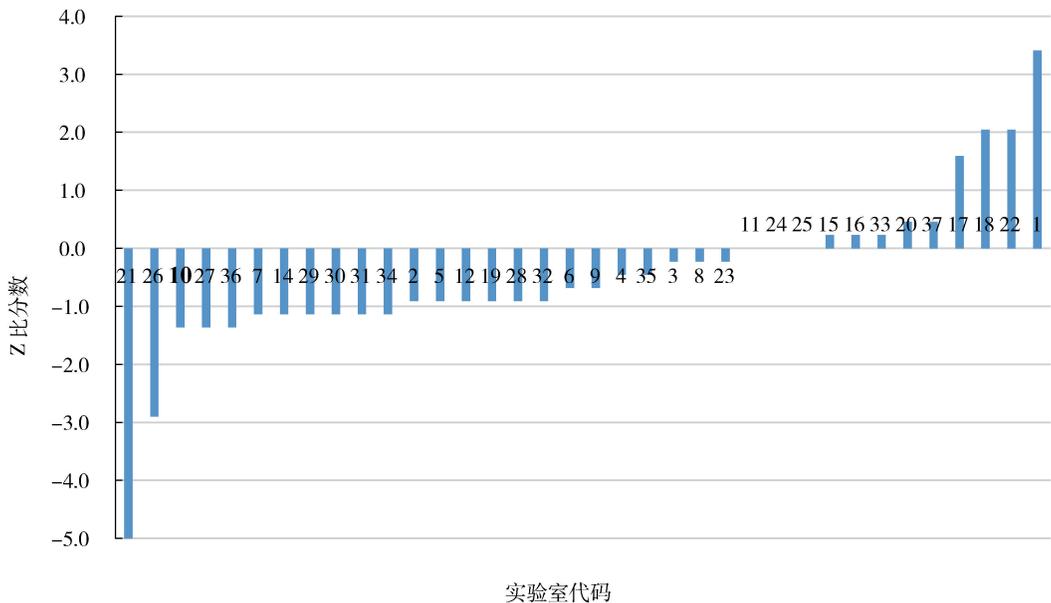


图 2 参加实验室检测结果 Z 比分数图

Fig 2 Z-score of participating laboratories' test results

3 讨论

本次能力比对采用的永停滴定法为经典方法,多版兽药典均有收载,除磺胺间甲氧嘧啶钠注射液外,市场占有率相对较高的兽药品种如^[5]:磺胺嘧啶钠注射液、复方磺胺嘧啶钠注射液、磺胺喹噁啉钠可溶性粉、磺胺喹噁啉、二甲氧苄啶预混剂、磺胺氯吡嗪钠可溶性粉、磺胺间甲氧嘧啶片、磺胺对甲氧嘧啶片、复方磺胺对甲氧嘧啶片及复方磺胺对甲氧嘧啶钠注射液等都用了该方法进行含量测定,因此各兽药检测机构均应该掌握永停滴定法的操

作要点。

然而,该方法对仪器设备的性能状况和实验环境要求较高,如滴定速度、室温控制、仪器稳定性、电极选择及维护等,一旦设备维护不当,参数设置不合理、仪器性能不稳定,都将造成检测结果差异较大。根据本次能力验证计划所有参加者提供的原始记录,并结合永停滴定法的特点,对本次计划测试结果的影响因素分析如下。

3.1 样品情况 磺胺间甲氧嘧啶钠注射液需遮光,密闭保存。在前期均匀性考察时发现,样品开

封后放置一段时间,会有白色固体析出,再测定时含量结果均偏高,因此样品应开封后立即测定,并且在移取样品时注意样品的溶解性。

3.2 滴定液的标定 F 值的准确度直接影响最终含量测定结果。代码 01 和 09 两家实验室使用的是市售滴定液,市售产品虽给出 F 值,但未注明标定方法。若滴定液的标定方法与含量测定方法不一致,会导致 F 值产生偏差,影响测定结果。因此,建议检测机构对市售滴定液的 F 值重新标定后使用。

3.3 滴定液的有效期 滴定液经标定所得的 F 值,除另有规定外,可在 3 个月内使用,过期应重新标定。从参加实验室的原始记录来看,有 34 家实验室使用的是自制滴定液,其有效期均在 3 个月以内,符合要求。另外滴定液应密闭储存于棕色玻璃瓶,使用前必须摇匀,防止因室温变化、水蒸气凝聚等引起 F 值的微小变化。

3.4 仪器参数 永停滴定法可选择的仪器品牌和型号较多,但测定原理一致,只在具体参数设置上有所不同,例如电极电压、加液体积、滴定速度及搅拌速度等。因此,无论选择哪种仪器,在正式进行样品测定前都要对上述影响因素进行考察,并且滴定液标定参数应与样品测定参数保持一致。代码 21 实验室,在进行滴定液标定和样品测定时使用不同的电极电压,使得两次试验指示终点的电流不一致,最终导致结果出现偏差。

3.5 电极状态 双铂电极的铂片较软,易在使用过程中产生变形,使用时应注意观察两个铂片是否平行,若偏差较大应进行更换。此外,电极的清洁状态是滴定成功的关键,污染的电极在滴定时指示迟钝,终点时电流变化小,如有必要应重新清洗电极,例如可采用在 1 mol/L 的亚硫酸钠溶液中浸泡 1 h 以上的活化方法。

4 小结

本研究首次对我国 36 家兽药检测机构磺胺间甲氧嘧啶钠注射液含量测定能力进行了测试,通过计算各参加实验室的 Z 值,测试结果的满意率为 91.7%,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永停滴定法检验检测能力。在今后工作中,各检测机构还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] 中国兽药典委员会. 兽药使用指南(化学药品卷)[M]. 二〇一〇年版. 北京:中国农业出版社, 2011;81.
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Veterinary Drugs Usage Guide (Chemical Medicine Volume, 2010 Edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011;81.
- [2] 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].
- [3] 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[Z]. 2018.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS - GL003: Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing[Z]. 2018.
- [4] 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评价指南[Z]. 2018.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS - GL002: Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation[Z]. 2018.
- [5] 苏雨钢,王翠霞,贾丽虹,等. 充分利用永停滴定法加大兽药监督力度[J]. 中国动物保健, 2007, (05): 93.
Su Y G, Wang C X, Jia L H, et al. Making full use of the dead-stop titration to strengthen the supervision of veterinary drugs [J]. China Animal Health, 2007, (05): 93.

(编辑:侯向辉)