

## TOP-DOWN 法和 GUM 法评定盐酸氨溴索注射液 含量测定的不确定度

李永菲<sup>1)</sup>, 张贇华<sup>1)</sup>, 高文分<sup>1)</sup>, 刘继华<sup>1)</sup>, 刘安彬<sup>2)</sup>, 杨玥娜<sup>3)</sup>

(1) 云南省食品药品监督检验研究院 工业和信息化部产业技术基础公共服务平台,  
云南 昆明 650106; 2) 昭通卫生职业学院药学院, 云南 昭通 657000;  
3) 昆明医科大学校工会, 云南 昆明 650500)

**[摘要]** 目的 通过评定盐酸氨溴索注射液含量测定结果的不确定度, 提高含量测定结果的可靠性, 保证高风险制剂药物的安全性和有效性。方法 分别采用 TOP-DOWN 法和 GUM 法对 HPLC 外标法含量测定结果进行不确定度评定。TOP-DOWN 法为合成偏倚不确定度分量和期间精密度不确定度分量 2 个分量后进行评价; GUM 法根据实验过程分析出 6 个不确定来源, 合成不确定度后进行评价。结果 当置信概率为 95%, TOP-DOWN 法和 GUM 法评定的扩展不确定度分别为 1.84% 和 2.36% ( $K=2$ )。结论 2 种评定结果均表明盐酸氨溴索注射液含量测定结果可靠, 能保证药物的安全性和有效性。

**[关键词]** TOP-DOWN 法; GUM 法; 盐酸氨溴索注射液; 含量测定; 不确定度评定

**[中图分类号]** R741.05 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)12-0035-07

## Uncertainty Evaluation of the Determination of the Content of Ambroxol Hydrochloride Injection by Using TOP-DOWN Method and GUM Method

LI Yongfei<sup>1)</sup>, ZHANG Yunhua<sup>1)</sup>, GAO Wenfen<sup>1)</sup>, LIU Jihua<sup>1)</sup>, LIU Anbin<sup>2)</sup>, YANG Yuena<sup>3)</sup>

(1) *Industrial Technology Basic Public Service Platform of the Ministry of Industry and Information Technology, Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming Yunnan 650106;*  
2) *School of Pharmacy, Zhaotong Vocational College of Health, Zhaotong Yunnan 657000;*  
3) *Faculty Union, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)*

**[Abstract]** **Objective** By assessing the uncertainty of the determination results for the concentration of ambroxol hydrochloride injection, the reliability of the concentration measurement results is improved, ensuring the safety and efficacy of high-risk dosage form medications. **Methods** The uncertainty assessment of the content determination results by HPLC external standard method was conducted using both the TOP-DOWN method and the GUM method in the past. The TOP-DOWN method evaluated after synthesizing two components: the combined bias uncertainty component and the intermediate precision uncertainty component. The GUM method analyzed six sources of uncertainty based on the experimental process and evaluated after synthesizing the uncertainty. **Results** When the confidence level was 95%, the expanded uncertainty assessed by the TOP-DOWN method and the GUM method was 1.84% and 2.36% respectively ( $K=2$ ). **Conclusion** The results from both assessments indicated that the determination of ambroxol hydrochloride injection content was reliable, ensuring the safety and efficacy of the drug.

**[收稿日期]** 2024-05-07

**[基金项目]** 云南省教育厅科学研究基金资助项目(2021J0222); 昭通卫生职业学院 2023 年度科研课题基金资助项目(202311)

**[作者简介]** 李永菲(1990~), 女, 云南楚雄人, 药学硕士, 主管药师, 主要从事药物分析、药品质量标准研究工作。

**[通信作者]** 杨玥娜, E-mail: 451097080@qq.com

[Key words] TOP-DOWN method; GUM method; Ambroxol hydrochloride injection; Content determination; Uncertainty assessment

盐酸氨溴索注射液是常见的呼吸系统疾病临床用药<sup>[1]</sup>,能有效祛痰、减少咳嗽,临床疗效好,无明显毒副作用。该品种应用人群广,是儿科甚至新生儿常用药物<sup>[2]</sup>,因临床使用时直接进入血液系统,药物临床使用安全风险较高,被视为高风险注射剂。盐酸氨溴索注射液的含量测定结果是其有效性和安全性的重要指标,代表药品质量的好坏,因此客观评价结果的可靠性显得尤为重要<sup>[3]</sup>。通常可对测量结果的质量用不确定度给出定量说明,而目前未见盐酸氨溴索注射液含量测定不确定度评定的报道,为此,有必要对其进行研究。

在药物分析领域,目前国内暂未发布评定指南。2018—2020年期间国家药典委先后发布了征求意见稿《不确定度评定在药品检验中的应用》,可见不确定度评定在药品检验领域具有重要性和必要性<sup>[4]</sup>。当前的文献报道中,药品测量不确定度的评定主要是采用 GUM 法<sup>[5-7]</sup>,未见 TOP-DOWN 法用于药品外标法含量测定的不确定度评定。GUM 法评定是按照实际检验,分析各相关分量建立数学模型再评定,过程繁琐、复杂,要求细致,各分量不能重复也不能遗漏,评定质量取决于评定者对有贡献的影响量认识的程度。TOP-DOWN 法是由美国人 Horwitz 提出的是自上而下或自顶向下的评定方法<sup>[8]</sup>,评定原理是:在确保测量过程的偏倚和精密度受控的前提下,将影响检验结果的各因素利用实验室间再现性数据和实验室内重复性数据归纳为偏倚不确定度和期间精密度 2 个分量,再合成不确定度,该法较于 GUM 法,能全面反映实验室的质控状态和实验室间的偏倚<sup>[9]</sup>。

为确保药物的安全性和有效性,本文采用 TOP-DOWN 和 GUM 2 种方法对盐酸氨溴索注射液的含量测定进行不确定评定,GUM 法为传统经典的不确定度评定方法,通过识别各个影响因素合成不确定度,除此之外,本实验还利用实验室长期积累的数据作为“期间精密度”分量和 17 家实验室间的实验数据作为“偏倚精密度”分量,建立 TOP-DOWN 法测量模型,该方法既包含了在 GUM 法中体现的各影响因素如称量、测量等,还包含了 GUM 法所不具备的环境变动、方法本身的误差等不容易识别的不确定度分量,更全面系统。本文首次在药品检验领域采用 TOP-

DOWN 法评定药品含量测定的不确定度,为探索非 GUM 法评定药品的测量不确定度,提供了 1 种有价值的参考方法<sup>[10]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验仪器

日本岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪;梅特勒-托利多 BP221S 型电子分析天平;移液管和容量瓶均为天玻牌 A 级玻璃仪器。

### 1.2 实验材料

甲醇为色谱纯(美国赛默飞科技有限公司);盐酸氨溴索对照品(来源于中国食品药品检定研究院,批号:100599-202106);样品为盐酸氨溴索注射液(A 企业,批号:2AA21203);实验其他所用试剂均为分析纯;实验用水为超纯水。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 盐酸氨溴索注射液含量测定** 盐酸氨溴索注射液含量测定标准收载于《中国药典》2020 年版二部<sup>[11]</sup>,按照其规定的方法进行测定。

色谱柱:月旭 C18 5  $\mu\text{m}$ , 250  $\times$  4.6 mm;流动相 A 和 B 分别为 0.01 mol/L 磷酸氢二铵溶液和乙腈,体积比为 50 : 50,检测波长:248 nm。对照品和供试品分别用流动相制成约 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的试液。

**1.3.2 TOP-DOWN 法不确定度评定程序及数学模型** 评定程序:参照《化学检测领域测量不确定度评定》RB/T 141 - 2018<sup>[12]</sup>指南,确定测量不确定度的评定程序:(1)按照 1.3.1 中盐酸氨溴索注射液的含量测定方法,获取不同实验室间再现性数据(提交两组平行数据  $\chi_1$  和  $\chi_2$ )和一段时间内本实验室的重复性数据;(2)使用  $h/k$  检验确认再现性数据的偏倚是否受控;使用 AD 检验判断重复性数据的精密度是否处于期望范围内;(3)若偏倚和精密度均处于控制范围内,量化再现性估计值和精密度的不确定度,计算偏倚和精密度分量,合成不确定度。

数学模型为:

$$U_{rel} = 2u_{c,rel} = 2\sqrt{u_{b,rel}^2 + u_{R',rel}^2}$$

式中: $u_{b,rel}$ :偏倚不确定度分量; $u_{R',rel}$ :期间精密度不确定度分量

**1.3.3 GUM 法评定的数学模型** (1)不确定度识别及分析 根据对此次实验过程的分析,盐酸氨溴

表 1 实验室间再现性数据  
Tab. 1 Inter-laboratory reproducibility data

序号	$x_1(\%)$	$x_2(\%)$	$\bar{x}_i(\%)$	$b_i$	$s_i$	$h$	$k$	样品统计
1	100.82	100.20	100.51	0.51	0.44	0.10	1.88	
2	100.23	100.33	100.28	0.28	0.07	-0.11	0.30	
3	100.80	100.85	100.83	0.82	0.04	0.39	0.15	
4	101.70	101.95	101.83	1.83	0.18	1.32	0.76	
5	99.48	99.61	99.55	-0.45	0.09	-0.79	0.39	
6	100.30	100.80	100.55	0.55	0.35	0.14	1.52	
7	98.40	98.20	98.30	-1.70	0.14	-1.94*	0.61	
8	100.30	99.70	100.00	0.00	0.42	-0.37	1.82	ARV = 100.4%
9	101.48	101.23	101.36	1.36	0.18	0.88	0.76	X = 100.445%
10	99.01	99.15	99.08	-0.92	0.10	-1.22	0.42	$s_{\bar{x}} = 1.08$
11	101.32	101.33	101.33	1.32	0.00	0.85	0.03	$s_r = 0.207$
12	100.28	100.06	100.17	0.17	0.16	-0.21	0.67	
13	98.58	98.59	98.59	-1.41	0.01	-1.68	0.03	
14	100.71	100.55	100.63	0.63	0.11	0.21	0.49	
15	101.42	102.15	101.79	1.79	0.52	1.28	2.22*	
16	100.99	100.92	100.96	0.95	0.05	0.51	0.21	
17	101.77	101.92	101.85	1.85	0.11	1.33	0.46	

注: 标\*为异常值。

索注射液不确定度的主要的来源有以下几条: 对照品的纯度、对照品称量引入的不确定度、对照品溶液和样品溶液配置定容所用的容量瓶、量取对照品溶液和样品溶液所用的移液管、由仪器性能引入的不确定度、在相同条件下被测量重复观测值的变化。以上各分量相互独立, 其中第 6 项为 A 类不确定度, 其余均为 B 类不确定度。(2) 数学模型 盐酸氨溴索注射液含量以双对照高效液相色谱外标法按峰面积计算, 根据上述不确定度来源分析确定数学模型为:

$$X = \frac{A_X \times V_{X2} \times 2}{V_{X1} \times \text{规格} \times \left( \frac{A_{R1} \times V_{R1}}{W_{R1} \times P_R} + \frac{A_{R1} \times V_{R1-2}}{W_{R1} \times V_{R1-1}} \right)} \times 100\%$$

式中:  $X$  为按外标法计算得的盐酸氨溴索的标示百分含量;  $A_X$  为样品峰面积,  $V_{X1}$  为样品取样量 (1 mL);  $A_{R1}$  为对照品溶液①连续进样 5 针的平均峰面积,  $V_{R1}$  为对照品溶液①的稀释体积,  $W_{R1}$  为对照品①的取样量;  $P_R$  为对照品纯度;  $A_{R2}$  为对照品②连续进样 3 针的平均峰面积,  $V_{R2}$  为对照品溶液②的稀释体积,  $W_{R2}$  为对照品②的取样量; 样品规格: 7.5 mg/mL (2 mL: 15 mg)。

#### 1.4 TOP-DOWN 法不确定度评定

1.4.1 偏倚不确定度分量 (1) 实验室间再现性数据。向 17 家实验室同步发放 1.2 中同批次对照

品和盐酸氨溴索注射液样品, 按照 1.3.1 中实验方法, 得到各个实验室的含量测定数据, 每个实验室提交 2 次测量数据  $x_1$  和  $x_2(\%)$ , 各个实验室数据统计, 见表 1。(2) 判断偏倚受控。参照 RB/T141-2018, 接受测量系统一致性的假设可判断偏倚是否受控, 即  $h/k$  检验。

$h/k$  检验计算公式:

$$\textcircled{1} h = \frac{b_i}{s_{\bar{x}}}$$

式中:  $h$  为实验室间一致性统计量;  $b_i$  为第  $i$  个实验室的单元偏倚 ( $b_i = \bar{x}_i - \text{ARV}$ ,  $\bar{x}_i$  为各实验室的平均值, ARV 的期望值为 100.4%);  $s_{\bar{x}}$  为样品水平下各实验室  $\bar{x}_i$  的标准差。

$$\textcircled{2} k = \frac{s_i}{s_r}$$

式中:  $k$  为实验室内一致性统计量;  $s_i$  为第  $i$  个实验室的单元标准差;  $s_r$  为重复性标准差 ( $s_r = \sqrt{\frac{\sum s_i^2}{p_i}}$ ,  $p_i$  为实验室总个数)。

查询 95% 和 99% 概率下的  $h/k$  临界表,  $h = 1.86$ ,  $k = 1.93$  (95%);  $h = 2.32$ ,  $k = 2.41$  (99%), 实验室间的数据变异基本符合精密度要求。(3) 计算偏倚不确定度分量。偏倚不确定度计算公式:

$$u_{b, \text{rel}}^2 = \sqrt{b^2 + u_{c, \text{ref}}^2} = \sqrt{0.045^2 + 0.267^2} = 0.27$$

式中:  $u_{c, \text{ref}}^2 = \frac{S_R}{\sqrt{L}} = 0.267$ , ( $S_R$  为复现性标准差,  $L$  为实验室数量)

表 2 实验室内重复性数据  
Tab. 2 Repeatability data within the laboratory

$n$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$x_i$	99.9	100.2	100.6	100.7	101.1	100.3	101.9	100.5	102.7	101.4
$n$	11	12	13	14	15	16	17	18	$\bar{x}$	$S_R$
$x_i$	99.4	99.5	101.5	101.6	101.8	100.3	101.1	100.4	100.9	0.88%

**1.4.2 期间精密度不确定度分量** (1)获取实验室内重复性数据。室间变异并未涵盖室内所有误差源的贡献,因此,本实验室在半年内按时间顺序进行了一段时间稳定过程的期间精密度测量,以 18 个检验的含量测定数据  $x_i(\%)$  作为期间精密度重复性数据,最小值为 99.4%,最大值为 102.7%,均值为 100.9%,相对标准偏差为 0.88%。实验室内重复性数据,见表 2。(2)判断期间精密度受控。参照 RB/T141-2018 标准中 AD 检验计算公式,对数据进行 AD 检验,分别检验  $A_S^{2*}$  (正态性检验)和  $A_{MR}^{2*}$  (独立性检验)。 $A_S^{2*}$  检验结果为 0.196,  $A_{MR}^{2*}$  检验结果为 0.272, AD 检验结果均小于 1.0<sup>[13]</sup>,按照标准指南,表明该组数据在 99% 概率下接受测量系统的正态性和独立性假设,说明实验室数据处于统计受控状态。(3)期间精密度不确定度分量。实验室数据处于统计受控状态,期间精密度不确定度估计值为数据的相对标准偏差,即将  $S_R$  视为期间精密度不确定度  $u_{R'}$ ,则  $u^2_{R',rel} = S_R = 0.88\%$ 。

## 1.5 GUM 法不确定度评定

**1.5.1 对照品纯度引入的相对不确定度  $u_{rel}(p)$**  盐酸氨溴索对照品说明书标示的纯度为  $p = 100.0\%$ ,标准品区间宽度  $a$  为  $\pm 0.05\%$ ,按矩形分布计算,包含因子  $k = \sqrt{3}$ : 则  $u_{rel}(p) = \frac{a}{k} = \frac{0.05\%}{\sqrt{3}} = 2.9 \times 10^{-4}$ 。

**1.5.2 对照品称重引入的相对不确定度  $u_{rel}(m)$**  对照品称量所用的天平精度为十万分之一,不确定度来源分别为天平的示值误差和偏载误差。首先由天平校准证书提供的天平示值误差为  $\pm 0.05$  mg,区间半宽度为  $a = 0.05$ ,按矩形分布计算( $k = \sqrt{3}$ ),计算示值误差的标准不确定度  $u(m_1) = a/k = 0.05/\sqrt{3} = 0.02887$  mg; 由天平偏载误差为  $\pm 0.15$  mg,区间半宽度为  $a = 0.15$ ,按矩形分布计算( $k = \sqrt{3}$ ),得出示值误差的标准不确定度  $u(m_2) = a/k = 0.15/\sqrt{3} = 0.0866$  mg,再合成天平的相对标准不确定度:  $u(m) = \sqrt{u^2(m_1) + u^2(m_2)} = 0.0932$  mg。最后按照本次实验中实际称取的 2 份对照品称样量(15.37 mg、15.50 mg),计算由于天平称重引起的相对不确定

$$度: u_{rel}(m) = \sqrt{\left(\frac{0.0932}{15.37}\right)^2 + \left(\frac{0.0932}{15.50}\right)^2} = 8.5 \times 10^{-3}。$$

**1.5.3 容量瓶引入的不确定度分量  $u_{rel}(v_a)$**  在实际工作中,对照品及供试品的溶解过程均需要用到容量瓶玻璃仪器定容,容量瓶定容的不确定度来源主要有:容量允差和温度效应。(1)容量允差  $MPE_{u_{rel}(v_{a1})}$  实验中涉及到的定容配置过程分别用到 50、10、250 mL 的 3 种规格容量瓶,均为 A 级。由容量允差(10 mL,  $\pm 0.020$  mL; 50 mL,  $\pm 0.05$  mL; 250 mL,  $\pm 0.15$  mL),以 B 类不确定度中的三角分布( $k = \sqrt{6}$ ),计算各容量允差的标准不确定度: 10 mL:  $u(v_1) = a/k = 0.02/\sqrt{6} = 0.00816$  mL; 50 mL:  $u(v_2) = 0.0204$  mL; 250 mL:  $u(v_3) = 0.0612$  mL; 带入实验中三次使用不同的容量瓶计算其相对标准不确定度:  $u_{rel}(v_{a1}) = \sqrt{\left(\frac{0.00816}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.0204}{50}\right)^2 + \left(\frac{0.0612}{250}\right)^2} = 9.4 \times 10^{-4}$ 。(2)温度效应  $u_{rel}(v_{a2})$  实际工作中,玻璃仪器的校正温度为 20 °C,水的体积膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ,玻璃的体积膨胀系数为  $1.5 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ,实验室实际温度为  $20 \pm 5$  °C,依照 B 类不确定度评定规则,按均匀分布( $k = \sqrt{3}$ )计算,由各容量瓶引入的温度效应标准不确定度分别为 10 mL:  $u(v_{1-1}) = \Delta V/k = (2.1 \times 10^{-4} - 1.5 \times 10^{-5}) \times 10 \times (25 - 20)/\sqrt{3} = 0.0056$  mL; 50 mL  $u(v_{2-1}) = 0.0281$  mL; 250 mL:  $u(v_{3-1}) = 0.1407$  mL; 合并计算温度效应的相对标准不确定度  $u_{rel}(v_{a2})$ :

$$u_{rel}(v_{a2}) = \sqrt{\left(\frac{0.0056}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.0281}{50}\right)^2 + \left(\frac{0.1407}{250}\right)^2} = 9.7 \times 10^{-4}。$$

(3)由容量允差和温度效应合成得容量瓶引入的相对不确定度:

$$u_{rel}(v_a) = \sqrt{u_{rel}^2(v_{a1}) + u_{rel}^2(v_{a2})} = 1.4 \times 10^{-3}。$$

**1.5.4 移液管引入的不确定度分量  $u_{rel}(v_b)$**  实验中,对照品和样品的稀释过程中各用到 1 次 1 ml 的移液管,均为 A 级。移液管作为玻璃仪器,其不确定度分量也包括容量允差  $u_{rel}(v_{b1})$  和温度效应  $u_{rel}(v_{b2})$ 。按照 1.5.3 计算方法,根据 1ml 移液管的

容量允差 ( $\pm 0.007$ ) 和温度效应, 合成移液管引入的相对不确定度:  $u_{rel}(v_a) = \sqrt{u_{rel}^2(v_{b1}) + u_{rel}^2(v_{b2})} = 0.004$ 。

**1.5.5 仪器性能引入的不确定度分量  $u_{rel}(r)$**  查询仪器的检定证书得知, 高效液相色谱仪的整机性能中定量重复性误差为 1.12%, 则其相对扩展不确定度为 1.12%, 按分布均匀计算, 包含因子  $k = \sqrt{3}$ , 则仪器的相对不确定度为:  $u_{rel}(r) = 1.12\% / \sqrt{3} = 6.5 \times 10^{-3}$ 。

**1.5.6 样品重复性引入的不确定度分量  $u_{rel}(x)$**

A 类不确定度, 平行取样品 12 份, 按照标准处理后, 注入液相色谱仪, 结果含量  $\chi_i$  分别为: 100.8%, 100.2%, 100.1%, 102.3%, 99.1%, 101.6%,

$$u_{rd}(X) = \sqrt{u_{rd}^2(p) + u_{rd}^2(m) + u_{rd}^2(v_a) + u_{rd}^2(v_b) + u_{rd}^2(r) + u_{rel}^2(x)} = 1.18\%$$

## 2 结果

### 2.1 TOP-DOWN 法扩展不确定度及不确定度报告

按照评定的数学模型, 由 1.4 中得到的 2 个分量值合为相对合成标准不确定度  $u_{c, rel}$ , 在置信度 95%, 包含因子 ( $k$  取 2) 概率下求得扩展不确定度  $U_{rel}$ 。  $U_{rel} = 2u_{c, rel} = 2\sqrt{u_{b, rel}^2 + u_{r, rel}^2} = 1.84\%$  (95%,  $k = 2$ ); 由 TOP-DOWN 法评定的盐酸氨溴索含量表示为:  $(100.5 \pm 1.84)\%$ , 100.5% 数值为本次实验笔者实验室内测定的样品含量数据。

### 2.2 GUM 法扩展不确定度及不确定度报告

在 95% 的置信概率情况下, 取包含因子  $k = 2$ , 计算 GUM 法扩展不确定度  $U$ :  $U_{rel}(X) = k \cdot u_{rel}(X) = 2.36\%$ 。GUM 法不确定度报告为: 由 GUM 法评定的盐酸氨溴索含量为:  $(100.5 \pm 2.36)\%$ ,  $k = 2$ 。

### 2.3 评定结果

TOP-DOWN 法和 GUM 法两种方法评定盐酸

101.6%, 100.8%, 100.5%, 99.4%, 101.0%, 101.2%, 相对标准偏差为 0.00926%, 平均值为 100.7%, 则重复性引入的标准不确定度:  $u(\chi) = 0.00926 / \sqrt{n} = 0.00267$ , 相对标准不确定度:  $u_{rel}(\chi) = \frac{u(\chi)}{100.7\%} = 2.65 \times 10^{-3}$ 。

**1.5.7 GUM 法合成相对不确定度** 根据 1.3.3 中数学模型和对实验过程的分析, 明确盐酸氨溴索注射液不确定度的主要来源, 按照实验室实际操作中涉及仪器的检定证书, 按 1.5.1 ~ 1.5.6 计算各分量相对不确定度并汇总结果, 见表 3。当各个分量之间相互独立时, 可以将计算出的每一个相对不确定度分量进行综合, 共同合成相对标准不确定度:

氨溴索注射液含量, 结果表示为  $(100.5 \pm 1.84)\%$  和  $(100.5 \pm 2.36)\%$ , 即用扩展不确定度 1.84% 和 2.36% 分别来表征实验室含量测量数据 100.5% 的分散性, 被不确定度表征后的数值在药品标示含量值以内 (90.0% ~ 110.0%), 表明盐酸氨溴索注射液含量测定可靠, 实验室质控较好, 可持续保持, 含量测定结果的可靠信进一步确保了药物的安全性和有效性。实验结果表明, TOP-DOWN 法可有效评定药品外标法含量测定, 在实际测量中, 始终存在的客观事实是无论如何控制环境条件及控制各类对测量结果可能产生影响的因素, 最终的测量结果总会存在一定的分散性, 这些随机效应所造成的不确定度, 包括尚未认识到的系统效应在评定中不可能被完全考虑到, 导致了测量结果的误差。而该法的优势恰好在于能充分利用实验室内长期积累的数据和实验室间再现性数据, 归纳为精密度和偏倚 2 个分量, 更加系统、全面的评定不确定度。而 GUM 法是实验室根据实验过程分析, 在各操作部分中可能引入的对结果产生影响的各种因素, 识别其来源, 建立数学模型,

表 3 GUM 法各分量相对不确定度结果汇总表

Tab. 3 Summary of Relative Uncertainty Components Using the GUM Method

分量	来源	影响因素	分布	分类	相对不确定度
$u_{rel}(p)$	对照品纯度	纯度	矩形	B	$2.9 \times 10^{-4}$
$u_{rel}(m)$	对照品称重	示值、偏载误差	矩形	B	$8.5 \times 10^{-3}$
$u_{rel}(v_a)$	容量瓶定容	容量允差 MPE、温度效应	三角和矩形	B	$1.4 \times 10^{-3}$
$u_{rel}(v_b)$	移液管量取	容量允差 MPE、温度效应	三角和矩形	B	$4.0 \times 10^{-3}$
$u_{rel}(r)$	仪器性能	整机性能定量重复性	矩形	B	$6.5 \times 10^{-3}$
$u_{rel}(x)$	样品重复性测量	12 份样品	正态	A	$2.7 \times 10^{-3}$

再量化各分量,最后根据不确定度传播规律合成、扩展得到扩展不确定度,使用 GUM 法评定必须熟悉整个检验流程,评定过程繁琐、复杂,要求细致,因素不能重复也不能遗漏。本次实验共识别出 6 种影响因素,对照品的纯度、对照品称量、溶液配置定容所用的容量瓶、量取溶液的移液管、由仪器性能引入的不确定度、在相同条件下被测量重复观测值的变化。以容量瓶、相同条件下被测量重复观测值的变化和移液管引入的分量贡献最大,因实验过程中使用到的容量瓶有 3 种,而重复观测值由实验室不同人员检验得到的不同结果,涉及的仪器、检验人员越多,GUM 法评定时引入的不确定度分量越多,导致评定值越高,这是使用 GUM 法评定无法避免的情况。

### 3 讨论

#### 3.1 实验数据 ARV 值的来源依据

TOP-DOWN 法应用时,数据受控是最重要的前提条件, $h/k$  检验希望参加的实验室数量  $L$  越大越好<sup>[14-15]</sup>,但  $h/k$  临界值参考表中  $L$  上限为 15。由于  $h/k$  值随着  $L$  增大其可接受的  $h/k$  值范围越大,以表中  $L$  为 15 对应的  $h/k$  值判断本次实验数据(共 17 家实验室)是否受控。 $h$  或  $k$  超出 95% 的临界值为异常值,但仍在 99% 临界值范围内。通过调查发现,实验室操作没有任何程序问题,属于随机原因的正常变异,综合判断整体数据基本受控<sup>[12, 14-16]</sup>,并未剔除数据异常值(表 1 中带\*号数据)。此外,ARV 为接受参照值(即用作比较的经协商同意的标准值),本文使用的 ARV 值使用数据来源为本实验室自 2020 年至 2023 年检验的 22 批盐酸氨溴索注射液的含量平均值(100.4%)。

#### 3.2 TOP-DOWN 法可有效评定药品含量的不确定度

TOP-DOWN 法已应用于食品等其他行业的不确定度评定中<sup>[17-19]</sup>,本文利用 TOP-DOWN 法对药品含量测定结果进行不确定度评定,评定结果期间精密度的分量大于偏倚精密度的分量,说明期间精密度是影响不确定度数值的主要分量,则可通过加长期间精密度的时间和样本量来进一步验证期间精密度的贡献量。偏倚分量贡献较小,影响的变化不显著,而偏倚由实验室间的再现性数据提供,提示可以通过增加实验室及样本数量来验证偏倚分量的贡献大小。该法的优势在于能充分利用实验室内长期积累的实验数据,评定过

程较传统的 GUM 法更全面,是一种客观、可靠的评定方法,为药品检验领域不确定度评定提供了新的方法。

#### 3.3 TOP-DOWN 法与 GUM 法在评定结果方面的对比分析

TOP-DOWN 法和 GUM 法为两种不同的评定方法,评定结果 TOP-DOWN 法评定结果(1.84%)小于 GUM 法(2.36%),可能的原因为:在 TOP-DOWN 法再现性评估中,偏倚分量贡献较小,影响的变化不显著,而偏倚由实验室间的再现性数据提供,因此,可以通过增加实验室及样本数量来验证偏倚分量的贡献大小。同时,通过结果比较,说明 GUM 的测量模型较为完整,但给出的各已知分量的估计值可能比 TOP-DOWN 法中直接观察到的方差大,导致该模型下的不确定度结果更为宽泛,可能过多的输入了不确定度影响因素,提示在用 GUM 法计算不确定度时应保守估计影响因素,否则容易造成结果偏大。既然不确定度有助于解释测量结果,则应注意弥补每种评估方法的不足,实际应用时,可以综合运用这两种方法,将两种方法融合<sup>[14-15]</sup>,如本次盐酸氨溴索注射液含量测定值为 100.5%,不确定度的 2 种评定方法结果不完全一致,分别为 1.84% 和 2.36%,将 2 种方法融合后取平均值 2.1%,产品测定结果均在药品标示含量值以内(90.0%~110.0%),2 种方法分别评判或融合后均表明测定盐酸氨溴索注射液含量测定结果可靠。

#### 3.4 对盐酸氨溴索注射液进行不确定度评定

盐酸氨溴索注射液作为高风险制剂,目前未见其含量测定不确定度评定的报道,本文对其不确定度进行研究,研究结果表明该药物含量测定数据可靠,能确保药物的安全性和有效性。

#### [参考文献]

- [1] 范玲,于栋伟.氨溴索的药理作用及临床应用研究进展[J].北方药学,2015,12(9):116-117.
- [2] 张瑞红,陈迪.盐酸氨溴索注射液在儿科呼吸系统疾病治疗中的应用价值[J].中国医药指南,2018,16(2):47-48.
- [3] 王玉,王思寰,李文莉.不确定度评定与药品检验[M].北京:中国医药科技出版社,2021:11-15.
- [4] 肖亭,王晨,许明哲,等.测量结果不确定度评定在我国药物分析领域中的应用[J].药物分析杂志,2021,

- 41(11): 1851-1859.
- [5] 侯梦妮, 谢珍, 刘柱, 等. 不确定度评定在药品检验中的研究进展 [J]. 海峡药学, 2018, 30(6): 54-57.
- [6] 杨娟, 王立云, 杨龙华, 等. 测量不确定度在化学药物质量控制中的应用及研究进展 [J]. 中国药师, 2020, 23(3): 530-534.
- [7] 吴婷, 龙焰君, 张慧文, 等. HPLC 法测定注射用头孢他啶含量的不确定度评定 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(4): 20-24.
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. 材料理化检测测量不确定度评定指南及实例 CNAS GL009: 2018[S]. 北京: 中国计量出版社, 2018: 5-12.
- [9] 王斗文, 邓云, 王冰, 等. 检验检测实验室质量控制技术 top-down 不确定度评定 [M]. 北京: 中国质检出版社, 2017: 5-15.
- [10] 李菁, 康帅, 王冰, 等. MCM 法和 GUM 法在药品内标法含量测定不确定度评定中的比较研究 [J]. 中国药学杂志, 2022, 57(6): 472-477.
- [11] 国家药典委员会. 《中华人民共和国药典》(2020 年版二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1270-1271.
- [12] 国家认证认可监督管理委员会. RB/T 141 - 2018 化学检测领域测量不确定度评定 利用质量控制和方法确认数据评定不确定度 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 3-21.
- [13] 孙煜, 何虹, 黄慧, 等. 高效液相色谱法测定灵芝二维甲硫氨酸胶囊溶出度及测量不确定度评定 [J]. 化学分析计量, 2021, 30(4): 79-84.
- [14] 国家标准化管理委员会. GB/T 27411-2012 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 7-16.
- [15] 国家标准化管理委员会. GB/Z 22553-2010/ISO/TS 21748: 2004 利用重复性、再现性和正确度的估计值评估测量不确定度的指南 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 13-15.
- [16] 刘翔, 王湘波, 彭凡, 等. 湖南省药检系统进行氨甲环酸含量测定实验室比对的结果分析 [J]. 中国药事, 2015, 29(11): 1156-1162.
- [17] 丁建东, 宁攀良. Top-down 控制图法评定石墨炉原子吸收光谱法测定血中铅含量的不确定度 [J]. 化学分析计量, 2024, 33(2): 117-122.
- [18] 张鑫, 王硕, 段卫宇, 等. Top-down 法评定 X 射线荧光光谱法测定车用柴油中总硫含量的测量不确定度 [J]. 当代化工, 2022, 51(12): 3017-3020.
- [19] 蔡凌霄, 贾苒, 白正伟, 等. 利用 TOP-DOWN 法评定电感耦合等离子体原子发射光谱法测定土壤样品中铅元素含量的不确定度 [J]. 化学分析计量, 2023, 32(7): 104-108.