proLékaře.cz | 16.1.2026

PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

Teorie a praxe lékopisné kontroly jakosti léčiv a pomocných látek
X. Počet paralelních stanovení, zpracování výsledků a jejich použití při hodnocení obsahu léčivých a pomocných látek v Evropském lékopisu (Ph. Eur.)*

Theory and practice of pharmacopoeial control of quality of drugs and excipients
X. Number of parallel determinations, processing of results and their use in the assessment of the content of active substances and excipients in the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)

Jan Šubert • Jozef Kolář

Došlo 12. července 2019 / Přijato 8. srpna 2019

Souhrn

Pro kontrolu obsahu léčivých a pomocných látek není v Ph. Eur. předepsán počet paralelních stanovení. Autoři navrhují doplnit požadavek na nejméně tři. Výsledky paralelních stanovení navrhují před použitím testovat na odlehlost testem založeným na poměru rozpětí výsledků (p = 0,95) a s tolerančními mezemi uvedenými v článku Ph. Eur. neporovnávat jednotlivé výsledky, ale až jejich aritmetický průměr. Dále navrhují rozšířit kapitolu 5.3 Ph. Eur. tak, aby byla použitelná nejen pro biologické zkoušky, ale i zkoušky chemické, fyzikálně chemické a fyzikální, stanovením obsahu léčivých a pomocných látek počínaje.
Klíčová slova: Ph. Eur. • rozšíření části 5.3. • stanovení obsahu • počet analýz • testování odlehlosti • použití výsledků

prof. RNDr. Jan Šubert, CSc.
Dušínova 1512/42, 664 34 Kuřim

doc. RNDr. Jozef Kolář, CSc. (✉)
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta
Ústav aplikované farmacie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: kolarj@vfu.cz

*Část IX: Čes. slov. Farm. 2019; 68, 91–94.
Věnováno vzpomínce jednoho z autorů na RNDr. PhMr. Jiřího Křepinského, CSc., někdejšího vedoucího pracovníka Státního ústavu pro kontrolu léčiv v Praze a odborníka v kontrole jakosti léčiv se širokým rozhledem.

Summary

In the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) there is no prescribed number of parallel determinations of the content of active substances and excipients. The authors suggest adding at least three determinations. The results of parallel determinations suggest to test for outliers before using test based on the ratio of the range of results (p = 0.95) and not to compare individual results with the tolerance limits given in Ph. Eur., but with their arithmetic mean. Furthermore, they propose to extend the Chapter 5.3. of the European Pharmacopoeia so as to be applicable not only to bioassays, but also to chemical, physicochemical and physical assays and tests, starting with the content of active substances and excipients.
Key words: Ph. Eur. • extension of the chapter 5.3. • determination of content • number of determinations • outliers testing • use of results

Počet provedených paralelních stanovení obsahu a další zpracování jejich výsledků může významně ovlivnit spolehlivost hodnocení léčivých látek a pomocných látek v rámci lékopisné kontroly jakosti léčiv. Zatímco postupy předepsané pro stanovení obsahu léčivých látek a pomocných látek jsou v Ph. Eur.[1)] popsány vesměs dostatečně, počet paralelních stanovení obsahu Ph. Eur. nepředepisuje. Není příliš

proLékaře.cz | 16.1.2026

pravděpodobné, že by se zkušený analytik spokojil s jen jedním stanovením obsahu, není-li ale textem lékopisu záležitost upravena, nelze to zcela vyloučit. Proto některé lékopisy a normativy např.[2, 3] tuto záležitost řešily již dříve a požadovaly provedení nejméně dvou stanovení obsahu. V bývalém Československu byla otázka počtu stanovení a dalšího zpracování výsledků analýz řešena při přípravě ČsL 4. Výsledkem bylo do textu lékopisu zařazené ustanovení, že výsledky chemických zkoušek se hodnotí nejméně ze dvou paralelních stanovení[4], celkové zpracování problematiky[5] však zůstalo ve fázi návrhu. V Ph. Eur. se autorům příspěvku požadavek na opakování stanovení obsahu léčivých a pomocných látek nepodařilo dohledat, publikace s návrhy k Ph. Eur. s opakováním analýz ve výpočtech přesto počítají[6–10]. Úvodem obvykle tři a případně až šest stanovení obsahu navrhují autoři[6], tři, resp. nejméně tři stanovení navrhuje[8], čtyři stanovení (případně méně či více)[9], dvě a případná další stanovení navrhují[5, 10] V praxi mimo lékopisnou kontrolu jakosti jsou považována za standard dvě[11], dvě až tři[12, 13], spíše ale tři (např.[14–16]) paralelní měření či stanovení. Neurčitost výsledků klesá a jejich informační obsažnost stoupá[11, 17] zejména přechodem ze dvou měření či stanovení na tři. Autoři příspěvku jsou proto názoru, že do Ph. Eur. by měl být doplněn požadavek na provedení nejméně tří stanovení obsahu léčivých a pomocných látek. Tři paralelní stanovení na rozdíl od dvou umožní také testování míry shody a případné odlehlosti některého z výsledků přímo ze zjištěných hodnot bez potřeby archivních dat z analýz téhož materiálu stejným postupem. Požadavek na provedení tří či nejméně tří paralelních měření, resp. stanovení je již uveden v některých textech Ph. Eur.[1], např. 2.2.9. Měření kapilárním viskozimetrem, 2.2.17. Teplota skápnutí, 2.8.4. Číslo bobtnavosti, 2.9.9. Měření konzistence penetrometricky.

Na provedení laboratorních analýz navazuje problematika zpracování jejich výsledků. V první řadě jde o hodnocení míry shody výsledků paralelních stanovení a pro případy, kdy jsou k dispozici výsledky nejméně tři stanovení, testování odlehlosti některého z nich. Odlehlé výsledky nejsou u chemických měření a stanovení vzácností[7, 18] (viz příklad mezilaboratorních studií stanovení obsahu cinarizinu a prednisolon-acetátu spektrofotometrií v ultrafialové oblasti za použití testu, který autoři studie pokládají za konzervativní[7]). Přestože jsou k testování odlehlosti výsledků tří a více paralelních stanovení či měření k dispozici statistické postupy, publikované studie naznačují, že v minulosti byly nezřídka uplatňovány odlišné a subjektivní postupy, jako v případě tří paralelních stanovení či měření vylučování nejodlehlejšího výsledku bez ohledu na jeho skutečnou hodnotu. Výsledky šetření provedených pro případ tří paralelních stanovení či měření (např.[12, 14, 16]) ukázaly, že tato praxe snižuje přesnost a tím i správnost odhadu střední hodnoty. Rozptyl příslušné statistiky je v tomto případě větší než u průměru ze všech tří měření (či stanovení), mediánu ze tří měření (či stanovení) a několika dalších v úvahu připadajících variant[13]. Ze statistických testů je pro malé počty stanovení či měření v analytické praxi nejpoužívanější Q-test založený na poměru rozpětí získaných výsledků[17, 19–22], který je jednoduchý a snadno proveditelný, jsou-li k dispozici nejméně tři výsledky. Kritické hodnoty pro tento test jsou tabelovány[17, 19–22]. Jinou možností pro hodnocení konzistence výsledků paralelních stanovení či měření je dovolená diference paralelních stanovení[11, 17, 22]. Tento test předpokládá předchozí výpočet kritické hodnoty z archivních výsledků získaných stejným analytickým postupem při analýze téhož materiálu, přičemž k výpočtu se použije buď průměrné rozpětí, nebo směrodatná odchylka vyčíslená z analýz většího počtu vzorků téhož materiálu. Je použitelný už od dvou paralelních stanovení či měření, v tomto případě však nelze identifikovat výsledek, který nadkritické rozpětí zapříčinil a je nutné v analýzách pokračovat. Postup byl navržen pro ČsL 4[5], zařazen byl v jeho textu ve variantě pro dvě paralelní stanovení[23]. V článcích však nebyl použit vzhledem k nedostatku archivních dat pro většinu z nich. Byl ale uplatněn v některých závazných kontrolních metodách SÚKL, např.[24]. Ze zmíněných testů se jeví pro lékopisnou kontrolu jakosti léčiv a pomocných látek jako schůdnější test založený na poměru rozpětí výsledků. Ten by bylo vhodné zařadit v návaznosti na požadavek provedení nejméně tří stanovení obsahu léčivých a pomocných látek do textu Ph. Eur. ($p = 0{,}95$). Sejít by se měly v kapitole věnované statistice. Ta však je dosud v Ph. Eur.[1] v části 5.3. Statistické analýzy výsledků biologických zkoušek určena a přizpůsobena výlučně zkoušení biologickému, přestože i výsledky zkoušení chemického, fyzikálně chemického či fyzikálního mají variabilitu podléhající zákonitostem matematické statistiky. Absenci statistiky pro výsledky chemického, fyzikálně chemického a fyzikálního zkoušení považují autoři příspěvku za závažný nedostatek platného vydání Ph. Eur. a k jeho řešení navrhují doplnit odpovídající partie do části 5.3. Ph. Eur. za změny názvu této části, která by měla být použitelná pro výsledky jakýchkoliv zkoušek používaných v lékopisné kontrole jakosti léčiv. Samostatná kapitola by vzhledem ke společným základům statistiky pro biologické i jakékoliv jiné zkoušení vedla nutně k duplicitě části obsahu. Jako společná kapitola byla řešena statistika např. v ČsL 4[23]. Samotné testování odlehlosti výsledků lze podle[7] obejít použitím mediánu jako robustnějšího odhadu střední hodnoty. Ten pro $n > 2$ není závislý na krajních hodnotách[17, 22], jeho použití v kontrole jakosti léčiv a pomocných látek však zatím není zavedeno a mimoto jde o odhad ve srovnání s aritmetickým průměrem méně vydatný[17, 22]. Požadavek na hodnocení míry shody paralelních stanovení, resp. měření, je již zařazen v některých textech Ph. Eur.[1], jako např. 2.2.9. Měření kapilárním viskozimetrem

proLékaře.cz | 16.1.2026

(dvě měření), 2.2.17. Teplota skápnutí (tři měření), 2.9.9. Měření konzistence penetrometricky (tři a někdy šest měření). Není však zřejmé, zda jde o kritéria odvozená empiricky či statisticky.

Dalším krokem po otestování výsledků stanovení obsahu léčivých a pomocných látek v rámci lékopisné kontroly jejich jakosti na odlehlost je jejich porovnání s tolerančními mezemi uvedenými v lékopisném článku. Porovnávat lze jak jednotlivé výsledky, tak z nich vyčíslenou střední hodnotu, kterou je při stanovení obsahu léčivých a pomocných látek obvykle aritmetický průměr n paralelních stanovení, jehož směrodatná odchylka je $1/\sqrt{n}$ krát menší[17, 22]. Proto je vhodnější neporovnávat s tolerančními mezemi jednotlivé výsledky podle[2, 3, 10] a jedné z variant uvedených v[8], nýbrž až z nich vyčíslený aritmetický průměr[5, 6, 9] a jiná z variant uvedených v[8]. Aritmetický průměr je lepším odhadem skutečné hodnoty sledovaného znaku jakosti, tedy obsahu léčivých nebo pomocných látek, než jednotlivé výsledky. Aritmetický průměr výsledků paralelních stanovení ležící mimo toleranční meze uvedené v lékopisném článku značí obvykle nevyhovující obsah léčivé či pomocné látky. V některých případech však může být i důsledkem příliš úzkých tolerančních mezí neodpovídajících přesnosti předepsané analytické metody, včetně její mezilaboratorní složky. Na některé případy, kdy by tato situace mohla nastat při stanovení obsahu léčivých a pomocných látek podle Ph. Eur., upozorňují autoři v[25].

Autoři[9, 10] upozorňují, že mimo aritmetický průměr je třeba brát v úvahu i šíři intervalu spolehlivosti tohoto průměru vyčísleného z výsledků provedených analýz. Jeden z postupů diskutovaných v[8] požaduje, aby v tolerančním intervalu uvedeném v příslušném článku ležel nejen aritmetický průměr, ale i celý interval spolehlivosti aritmetického průměru výsledků analýz. To by asi bylo v praxi u užších tolerancí při běžném počtu paralelních stanovení obtížné splnit, přestože šířka intervalu spolehlivosti průměru a tím i část tolerančního intervalu potřebná na neurčitost z analytiky s počtem provedených paralelních stanovení klesá. Pro Ph. Eur. proto navrhujeme porovnávat s tolerančním intervalem výsledky stanovení obsahu léčivých a pomocných látek otestované na odlehlost ve formě jejich aritmetického průměru.

Závěrem je třeba konstatovat, že řešení předmětné problematiky v současných lékopisech zemí mimo EU je pokročilejší než v Ph. Eur. např. v lékopisu Ruské federace (GF XIV) z roku 2018[26], ve kterém je rozsáhlá samostatná část označená 1.1.0013.15 Statistické zpracování výsledků chemického experimentu (28 stran). Podle ní analytik obyčejně provádí dvě až tři, řidčeji čtyři paralelní stanovení, jejich výsledky jsou statisticky testovány na odlehlost (Q-test i dovolená diference dvou paralelních stanovení) a jsou prováděny další potřebné kroky. V textu GF XIV je uvedena také řada řešených příkladů. Mimoto lze podobně, jako tomu je v Ph. Eur., v některých částech GF XIV, např. u teploty tání a teploty skápnutí nalézt individuální požadavky na počet stanovení a míru shody jejich výsledků. Odlišným příkladem je Japonský lékopis z roku 2016[27, 28]. Ten nemá část věnovanou statistickému zpracování výsledků chemických, fyzikálně chemických a fyzikálních zkoušek a individuální požadavky na počet měření a míru shody jejich výsledků v něm nacházíme jen ojediněle (např. v částech 2.42 Stanovení bodu tuhnutí a 2.60 Stanovení bodu tání), přestože potřeba statistiky pro zpracování a další použití výsledků lékopisných zkoušek kvantitativního charakteru je mimo jakoukoliv pochybnost. Je to zjištění dosti překvapivé.

Střet zájmů: žádný.

Literatura

1. European Pharmacopoeia Online 9.5. http://online6.edqm.eu/ep905/ (5. 2. 2019).
2. Arzneibuch der Deutschen Demokratischen Republik: AB-DDR 87. Berlin: Akademie-Verlag 1975–1987; s. 93. http://www.digibib.tu-bs.de/?docid=00000955 (24. 2. 2019).
3. Compendium Medicamentorum (Sammlung vereinheitlichter Forderungen und Prüfmethoden für Arzneimittel), I. Lieferung. Berlin: Akademie-Verlag 1970; I-11.0.01.
4. Československý lékopis, 4. vydání, svazek I. Praha: Avicenum 1987; 53.
5. **Šubert J., Melichar B.** Otázky standardního zpracování a interpretace výsledků chemických stanovení v lékopise. Českoslov. Farm. 1977; 26, 72–75.
6. **Daas A. G. J., Miller J. H. McB.** Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 1). Pharmeuropa 1997; 9, 148–156.
7. **Daas A. G. J., Miller J. H. McB.** Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 2). Pharmeuropa 1998; 10, 137–146.
8. **Ebel S.** Assay content limits in the pharmacopoeia. Pharmeuropa 1997; 9, 143–147.
9. **van Rompay J.** How to construct and use the specifications of chemical substances. Pharmeuropa 1997; 9, 135–139.
10. **van de Vaart F. J**. Content limits – setting and use. Pharmeuropa 1997; 9, 140–143.
11. **Doerffel K., Eckschlager K.** Optimální postup chemické analýzy. 2. vydání. Praha: SNTL 1988.
12. Anonym. The fallacy of the best two out of three. NBS Technical News Bulletin 1949; 33, 77–78.
13. **Tietjen G. L., Beckman R. J.** On duplicate measurements in the chemical laboratory. Technometrics 1975; 17, 53–56.
14. **Lieblein J.** Properties of certain statistics involving the closest pair in a sample of three observations. J. Res. Natl. Bur. Stand. 1952; 48, 255–268.
15. **Youden W. J.** Sets of three measurements. Sci. Mon. 1953; 77, 143–147.
16. **Blodgett R. J.** Averaging the closest two out of three observations. J. AOAC Int. 2000; 83, 661–664.
17. **Eckschlager K., Horsák I., Kodejš Z.** Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha: SNTL 1980.
18. **Thompson M.** Precision in chemical analysis: a critical survey of uses and abuses. Anal. Methods 2012; 4, 1598–1611. www.rsc.org/methods doi:10.1039/c2ay25083g (27. 5. 2019).

proLékaře.cz | 16.1.2026

19. **Dixon W. J.** Ratios involving extreme values. Ann. Math. Stat. 1951; 22, 68–78.
20. **Dean R. B., Dixon W. J.** Simplified statistics for small numbers of observations. Anal. Chem. 1951; 23, 636–638.
21. **Grubbs F. E.** Procedures for detecting outlying observations in samples. Technometrics 1969; 11, 1–21.
22. **Eckschlager K.** Errors, measurement and results in chemical analysis. London: Van Nostrand Reinhold Company 1969.
23. Československý lékopis, 4. vydání, svazek I. Praha: Avicenum 1987; 161–162.
24. Státní ústav pro kontrolu léčiv v Praze. Závazná kontrolní metoda ZKM 149 Natrium sulfurosum crystallisatum. Met. Ves. SÚKL 1981; 29, 31–34.
25. **Šubert J., Kolář J.** Teorie a praxe lékopisné kontroly jakosti léčiv a pomocných látek. IX. Problematika tolerančních mezí na obsah léčivých a pomocných látek v Evropském lékopisu (Ph. Eur.). Čes. slov. Farm. 2019; 68, 91–94.
26. Gosudarstvennaja Farmakopeja Rossijskoj Federacii, XIV izd., Tom I. Moskva: Ministerstvo zdravoochranenija Rossijskoj federacii 2018. http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (31. 7. 2019).
27. The Japanese Pharmacopoeia, Seventeenth Edition (JP17) the Electronic version. http://jpdb.nihs.go.jp/jp17e/ (2. 8. 2019).
28. Supplement I to the Japanese Pharmacopoeia Seventeenth Edition https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000352508.pdf (3. 8. 2019).