

УДК 389:543.08

Л.П. Почекайлова

ДП «Український НД і НЦ проблем стандартизації, сертифікації та якості», Київ

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДІВ ВИПРОБУВАНЬ

Розглянуто методи валідації випробувань, які розвинуто у міжнародних та європейських нормативних документах та застосовують в акредитованих випробувальних лабораторіях. Подано загальну характеристику різних видів валідації, встановлено метрологічні характеристики методів випробувань, які досліджують під час проведення валідації. Застосування методів валідації в лабораторії та документування її результатів дозволяє гарантувати точність результатів вимірювань, які подає лабораторія, та значно підвищує технічну компетентність лабораторії. Зроблено висновок щодо необхідності гармонізувати в Україні міжнародні та європейські документи щодо валідації методів випробувань або розробити власні національні стандарти

Ключові слова: валідація, невизначеність, правильність, прецизійність, повторюваність, відтворюваність, градувальні характеристики, робастність, межа виявлення, межа кількісного визначення.

Вступ

Аналітичні лабораторії, які здійснюють офіційний контроль якості продукції, як наприклад, лабо-

раторії, що аналізують якість харчових продуктів та кормів для тварин [1], повинні відповідати вимогам стандарту ISO/IEC 17025 [2]. Загалом, вимоги цього стандарту розповсюджуються на всі випробувальні

лабораторії, які оцінюють якість продукції в промисловості, сільському господарстві, водопостачанні тощо. Акредитація випробувальної лабораторії на відповідність вимогам стандарту ISO/IEC 17025 означає, що лабораторія має можливості та обладнання для того, щоб виконувати певні дослідження, а робота виконується компетентним штатом та контрольованим способом за встановленими методами випробувань (методиками виконання вимірювань). Однак акредитація лабораторії не дає 100% гарантії у надійності отриманих в лабораторії окремих результатів [8]. Гарна практика в лабораторіях повинна обов'язково охоплювати процедуру, яка є однією з вимог стандарту [2, п. 5.4.5], а саме, вимоги щодо валідації (validation) методів випробувань. У національному стандарті [3] термін «validation» подано як «оцінювання придатності», однак у нормативних документах, затверджених пізніше, цей англійський термін стандартизовано як «валідація» [4]. Термін «валідація» застосовують також в нормативно-правових документах України [5 – 7]. Нажаль, в Україні відсутня розвинута нормативна база щодо процедур проведення валідації методів випробувань. Автору відомий тільки один національний стандарт [4], у якому висвітлено загальні засади щодо валідації методів дослідження параметрів води. Недостатня кількість документації щодо валідації та процедур, які необхідно здійснювати під час валідації, обмежує впровадження методів валідації в аналітичних лабораторіях.

Мета роботи – дати загальну характеристику методів валідації, встановити основні види валідації, метрологічні характеристики методів, які необхідно досліджувати під час проведення валідації, відповідно до міжнародних та національних нормативних документів.

Загальна характеристика методів валідації

Визначення терміну «валідація» вперше подано в міжнародному стандарті ISO 8402:1994 [9]: «валідація – підтвердження експертизою та надання об'єктивних доказів того, що виконано особливі вимоги до конкретного передбачуваного використання». Це міжнародне визначення використовується зараз в міжнародних [2], європейських [10 – 12] та національних стандартах [3, 4] документах. Також використовують термін «метод валідації» [10] як встановлення процесу визначення аналітичних вимог та підтвердження, що розглядуваний метод має такі характеристики, які потрібні для його застосування.

Відповідно до [4] розрізняють три види (методи) валідації. Валідація першого виду – первинна валідація – частина розроблення нового аналітичного методу. Її виконують під час розроблення методів випробувань (методик виконання вимірювань) в одній лабораторії або під час стандартизації методу.

Валідація нового методу в одній лабораторії дозволяє задокументувати як саму процедуру проведення випробувань (вимірювань), так і встановити метрологічні характеристики методу перед тим, як використовувати його у поточній діяльності. Якщо лабораторія працює у сфері державного метрологічного контролю і нагляду, то відповідно до [15], вона повинна атестувати розроблену методику. Атестація методики відбувається відповідно до національного стандарту ГОСТ 8.010 – 99 [16].

У випадку стандартизації методу (розробленні стандарту) в процесі валідації повинно бути задіяно L лабораторій, вибраних випадковим способом, кількість яких встановлюють на підставі статистичних методів [13]. На практиці, кількість лабораторій визначають на підставі компромісу між наявністю економічних ресурсів та бажанням зменшити невизначеність отриманих оцінок [14, п.п. 4.5 та 6.3.4]. Якщо кількість лабораторій менша за п'ять, оцінки стандартних відхилень і в умовах повторюваності, і в умовах відтворюваності можуть значно відрізнитися від своїх дійсних значень. Збільшення кількості лабораторій за $L > 20$ не змінює суттєво оцінки стандартних відхилень. Найчастіше, кількість лабораторій L вибирають від 8 до 15.

Оцінюють характеристики методу під час первинної валідації за нормативними документами [6, 17 – 21].

Валідацію другого виду виконують в кожній лабораторії для кожного методу з метою підтвердження того, що лабораторія може коректно виконувати цей метод та отримувати лабораторні характеристики не більші за встановлені у методі випробувань. Під час валідації другого виду застосовують статистичний експеримент в умовах, встановлених у методі випробувань чи стандарті, та отримують ті ж лабораторні показники якості, які встановлено у оригінальному методі. Метод вважається валідованим, якщо лабораторні показники якості методу не перевищують показники якості, встановлені у документі.

Оцінюють лабораторні показники якості методу, який валідують, за тим же нормативним документом, що і під час валідації першого типу [22].

Валідацію третього типу застосовують тоді, коли метод впроваджують для постійного використання [4]. У національній практиці цей вид валідації називають внутрішнім контролем якості результатів вимірювань. Під час цієї валідації постійно (щоденно, якщо випробування проводять щодня, або перед проведенням випробувань, якщо їх проводять для партії продукції) контролюють основні характеристики методу, встановлені у використовуваному документі. Розрізняють два види внутрішнього контролю якості: оперативний контроль та контроль стабільності результатів вимірювань. Оперативний контроль здійснює виконавець аналізу з метою перевірки готовності лабораторії до проведення аналізів робочих проб або з метою оцінити

якість результатів аналізів кожної серії робочих проб. Контроль стабільності результатів проводять з метою підтвердження лабораторією компетентності у забезпечення якості результатів вимірювань та оцінювання діяльності лабораторії в цілому. Лабораторія повинна мати положення про внутрішній контроль якості результатів вимірювань, в якому встановлено програму контролю, характеристики методу, які контролюють, алгоритми контролю, зразки для контролю.

Оперативний контроль здійснюють відповідно до нормативного документа [22], а контроль стабільності – із застосуванням контрольних карт Шухарт – відповідно до [21 – 23].

Метрологічні характеристики методів, які досліджують під час валідації

Під час первинної валідації, тобто в процесі розроблення методу (методики виконання вимірювань), розглядають такі важливі питання, що стосуються аналітичного методу:

- сферу застосування та діапазон вимірювань;
- градування;
- межу виявлення та межу кількісного визначення;
- заважальні чинники;
- оцінку точності (правильність та прецизійність);
- невизначеність вимірювань;
- робастність методу;
- придатність методу для конкретної мети.

У сфері застосування методу зазначають не тільки речовину, яку досліджують, але і її форму та склад проб, що важливо для точного визначення кінцевого значення результату вимірювань.

Існує декілька типів градування для аналітичних методів: основне градування або градування засобів вимірювань, градування з використанням матричного матеріалу, градування за повною процедурою [4]. Основне градування можна здійснювати відповідно до стандартів [24, 25]. Необхідно звернути увагу на те, що діапазон методу, якщо у ньому застосовують градувальні характеристики, визначається найменшою та найбільшою концентрацією проби, яка використовувалася для градування. Найкращий результат з точки зору точності вимірювань буде знаходитись у центрі встановленого діапазону (для лінійної градувальної характеристики). Усі види градування необхідно перевірити на їх внесок у невизначеність вимірювань. Для цього встановлюють складову стандартної невизначеності від градування. Більш детальну інформацію щодо особливостей градування можна отримати в міжнародних стандартах [28, 29]

Межа виявлення – це найменша кількість або концентрація визначуваної речовини в аналізованій пробі, яку можна достовірно відрізнити від нуля чи

холостої проби [4, 26]. Є кілька способів, щоб оцінити межу виявлення. Якщо межу виявлення знаходять за допомогою холодних проб, її оцінку здійснюють за формулою

$$x_{LD} = 3s_0 + x_{B1},$$

де x_{LD} – межа виявлення, s_0 – стандартне відхилення для холодної проби, x_{B1} – середнє значення концентрації в матричній холодній пробі.

Для методів, які використовують градувальні характеристики, оцінку межі виявлення здійснюють за формулою

$$x_{LD} = 4s_{x0},$$

де s_{x0} – стандартне відхилення методу від градування. Під час валідації межу кількісного визначення – концентрацію визначуваної речовини, яку обґрунтовано можна встановити з прийнятним рівнем довіри – оцінюють за таким виразом:

$$x_{LQ} = 3x_{LD}.$$

Заважальні чинники або взаємні впливи, які можуть бути присутніми у досліджуваних пробах, мають істотний вплив на невизначеність вимірювань, оскільки можуть спотворювати кінцевий результат випробувань. Тому важливо встановити повноту визначення досліджуваного параметра у пробі, яка характеризується відсотком визначення, та його стандартним відхиленням. Приклад оцінки відсотка визначення можна знайти у [4].

Точність вимірювань під час випробувань встановлюють через кількісні значення правильності та прецизійності. Правильність розглядають як міру систематичних похибок, а прецизійність – випадкових. Правильність пов'язують із простежуваністю вимірювань [27], яка є вимогою ISO/IEC 17025:2005 [2]. Прецизійність розглядають за різних умов. Якщо умови проведення випробувань однакові, встановлене стандартне відхилення буде характеризувати повторюваність результатів вимірювань S_r , якщо всі умови проведення вимірювань різні (у тому числі, різні лабораторії) – отримане стандартне відхилення S_R характеризує відтворюваність. Процедури знаходження правильності та прецизійності детально описано в посиланнях [13, 17 – 21].

Формальний підхід до невизначеності вимірювань передбачає наявність рівняння чи математичної моделі. Під час валідації першого виду необхідно упевнитися, що рівняння, яке використовують для оцінювання невизначеності – це правильний вираз, який охоплює всі встановлені та значні впливи на результат. Допомогу у оцінюванні невизначеності вимірювань можна знайти у посиланнях [12, 30]. Іноді надають перевагу скороченим процедурам оцінювання невизначеності, так звані моделі «зверху вниз». Перша модель – підхід NORDTEST. Під час валідації встановлюють компоненти невизначеності від стандартних відхилень, що характеризують випадкові складові,

наприклад, за рахунок нестабільності проби, та компоненти невизначеності, які характеризують значення зміщень результатів та їх невизначеностей за рахунок систематичних складових похибки. Сумарну стандартну невизначеність u_c розраховують як корінь квадратний із суми квадратів невизначеностей, які характеризують випадкову та систематичну складову. Другу модель застосовують у випадку, коли отримано стандартне відхилення відтворюваності S_R міжлабораторних випробувань. Щоб оцінити розширену невизначеність, S_R множать на коефіцієнт 2. Така оцінка невизначеності є достатньо грубою, її використовують у випадку, коли інші дані недоступні [4].

Робастність методу означає таку процедуру випробувань (методику виконання вимірювань), щоб на точність аналітичних результатів суттєво не впливали незначні відхилення від процедури експерименту, яку встановлено даним методом. Використання робастних процедур дозволяє отримати надійні результати та зменшити невизначеність вимірювань. Більш докладну інформацію щодо встановлення робастності методу під час валідації можна знайти в посиланні [10].

Придатність методу для цільового використання – це ступінь, до якого метрологічні характеристики методу відповідають критеріям, узгодженим між випробувальною лабораторією та користувачем даних [4]. Критерій придатності аналітичного методу для конкретної мети може бути подано у вигляді прийнятної сумарної невизначеності вимірювань, або окремими прийнятними характеристиками методу: правильністю та прецизійністю. Під час вторинної валідації акцент роблять на:

- градуюванні;
- заважальних чинниках;
- лабораторній межі кількісного визначення;
- невизначеності вимірювань;
- характеристиках точності – правильності та прецизійності.

Лабораторія перед застосуванням нового методу повинна встановити градувальну характеристику, якщо таку вимагає процедура аналізування. Отримане значення стандартного відхилення від градуювання не повинно бути більше за значення, встановлене у методі. Необхідно звернути увагу та те, що у разі, коли досліджувана при поточному аналізі характеристика (концентрація речовини) виходить за межі встановленого у методі діапазону, необхідно здійснити модифікацію методу, можливо, перейти до нелінійної градувальної характеристики.

Заважальні чинники під час вторинної валідації можуть бути пов'язані, наприклад, з відмінною від первинної валідації матрицею розчинів, які застосовує лабораторія. Тому перевіряння відсотка визначення є обов'язковою процедурою.

Лабораторія під час вторинної валідації повинна встановити такі ж метрологічні характеристики

методу, які встановлені в оригінальному методі випробувань. Для встановлення характеристик правильності та прецизійності найбільш доцільно використовувати стандартні зразки або атестовані суміші. У разі їх відсутності застосовують розчини з додаванням визначуваної речовини.

Під час валідації третього типу постійно (з кожною партією чи щодня) контролюють ті характеристики, які встановлено у методі випробувань. Найчастіше, це характеристики правильності та прецизійності. Відхилення отриманого поточного середнього значення визначуваної характеристик від паспортного значення стандартного зразку буде свідчити про наявність систематичної складової та її поведінку у часі. Щоденне оцінювання стандартних відхилень у такому експерименті дає можливість оцінити прецизійність результатів вимірювань. Крім того, кількісними значеннями стандартних відхилень, отриманих різними виконавцями, можна характеризувати якість їхньої роботи. Застосування карт Шухарта та критеріїв на наявність небажаних трендів дозволяє своєчасно встановлювати відхилення якості результатів вимірювань від статистично керованого процесу та своєчасно виправляти ситуацію.

Висновки

У роботі подано загальну характеристику методів валідації, встановлено основні види валідації та метрологічні характеристики, які повинні контролюватися під час проведення валідації.

Подано, відповідно до методів валідації, сучасну міжнародну, європейську та національну нормативну базу, яка регулює ці методи.

Для забезпечення випробувальних (вимірювальних) лабораторій необхідною документацією необхідно гармонізувати міжнародні та європейські документи або розробити національні стандарти щодо процедур валідації та встановлення метрологічних характеристик методів випробувань.

Необхідно зазначити, що застосування методів валідації в лабораторії та документування її результатів дозволить гарантувати точність результатів вимірювань, які подає лабораторія, та значно підвищити технічну компетентність лабораторії.

Список літератури

1. Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules.
2. ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ДСТУ ISO/IEC 17025:2006 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT).
4. ДСТУ-П ISO/TS 13530:2011 Настанови з аналітичного контролю якості результатів хімічного та фізико-хімічного аналізу води (ISO/TS 13530:2009, IDT).
5. Наказ Міністерства Охорони Здоров'я України «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення)

лікарських засобів в умовах аптеки» (Правила, п.1.3) від 15.12.2004, № 626.

6. Наказ Державного Комітету Ядерного Регулювання України «Про затвердження Загальних положень безпеки атомних станцій» (Загальні положення, розд.2) від 19.11.2007, № 162.

7. Наказ Державного Комітету Ядерного Регулювання України «Про затвердження Вимог до системи управління якістю проведення діагностичних та терапевтичних процедур з використанням джерел іонізуючого випромінювання (Вимоги, п.1.2) від 03.10.2008, № 166.

8. IAC/Eurachem Guide to Quality in Analytical Chemistry/ An Aid to Accreditation, Edition 2002.

9. ISO 8402:1994 Quality – Vocabulary (скасвано).

10. EURACHEM Guide – The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, First English Edition 1.0 – 1998.

11. CEN GUIDE 13 Validation of environmental test methods, version dated 2008-10-29, Edition 1.

12. EURACHEM/CITAC Guide CG 4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third Edition, QUAM:2012.P1.

13. ДСТУ-Н РМГ 61:2006. Метрологія. Показники точності, правильності, прецизійності методик кількісного хімічного аналізу. Методи оцінювання.

14. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-1:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. Частина 1. Основні положення та визначення.

15. Закон України «Про метрологію та метрологічну діяльність» №113ВР-98, Відомості Верховної Ради України (ВВР), 1998, N 30-31, ст.194, остання редакція – Закон України «Про внесення змін до деяких законодавчих актів України», N 4731-VI від 17.05.2012.

16. ГОСТ 8.010-99 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения.

17. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-2:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. Частина 2. Основний метод визначення повторюваності та відтворюваності стандартного методу вимірювань.

18. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-3:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. ЧЗ. Проміжні показники прецизійності стандартного методу.

19. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-4:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. Частина 4. Основні методи визначення правильності стандартного методу вимірювань.

20. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-5:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. Частина 5. Альтернативні методи визначення прецизійності стандартного методу вимірювань.

21. ДСТУ ГОСТ ІСО 5725-6:2005 Точність (правильність та прецизійність) методів та результатів вимірювань. Частина 6. Застосування значень точності на практиці.

22. ДСТУ-Н РМГ 76:2008 Метрологія. Внутрішній контроль якості результатів кількісного хімічного аналізу (РМГ 76-2004, IDT).

23. ДСТУ ISO 8258-2001 Статистичний контроль. Контрольні карти Шухарта (ISO 8258:1991 Shewhart control charts, IDT).

24. ДСТУ ISO 8466-1-2001. Якість води. Визначення градууювальної характеристики методик кількісного хімічного аналізу. Частина 1. Статистичне оцінювання лінійної градууювальної характеристики.

25. ДСТУ ISO 8466-2-2001. Якість води. Визначення градууювальної характеристики методик кількісного хімічного аналізу. Частина 2. Статистичне оцінювання нелінійної градууювальної характеристики.

26. IUPAC: Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis, Pure and Applied Chemistry, 2002, - Vol. 74, p. 835 – 855.

27. EURACHEM/CITAC Guide Traceability in Chemical Measurement. – 2003.

28. ISO 11843-1:1997 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions/ ДСТУ ISO 11843-1:2005 Статистичний контроль. Здатність до виявлення. Частина 1. Терміни та визначення (ISO 11843-1:1997, IDT).

29. ISO 11843-2:2000 Capability of detection – Part 2: Methodology in the linear calibration case.

30. Eurolab Technical Report No1/2006 – Guide to the Evaluation of Measurement Uncertainty for Quantitative Test Results.

Надійшла до редколегії 26.02.2013

Рецензент: д-р техн. наук, проф. І.П. Захаров, Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДОВ ИСПЫТАНИЙ

Л.П. Почекайлова

Рассмотрены методы валидации испытаний, разработанные в международных и европейских документах, применяемые в аккредитованных испытательных лабораториях. Представлено общую характеристику различных видов валидации и метрологические характеристики методов испытаний, которые исследуются во время проведения валидации. Применение методов валидации в лаборатории и документирование её результатов позволяет гарантировать точность представляемых результатов измерений, и значительно повысит техническую компетентность лаборатории. Сделан вывод о необходимости гармонизации в Украине международных и европейских документов по валидации методов испытаний или разработать собственные национальные стандарты.

Ключевые слова: валидация, неопределенность, правильность, прецизионность, повторяемость, воспроизводимость, градуировочные характеристики, робастность, граница выявления, граница количественного определения.

TEST METHOD VALIDATION

L.P. Pochekaïlova

The methods of validation developed in international and European documents and used in accredited test laboratories are discussed. General description of the different types of validation and metrological characteristics of the test methods that are investigated during the validation is presented. The use of validation methods in the laboratory and documentation of the results helps to ensure accuracy of the measurement results and significantly improve the technical competence of the laboratories. The conclusion was made on the need for harmonization of the international and European documents for validation of test methods in Ukraine or the need for development of Ukraine's own national standards.

Keywords: validation, uncertainty, accuracy, precision, repeatability, reproducibility, calibration characteristics, robustness, limit of detection, limit of quantification/.