

Walidacja metod badawczych – wymagania, zalecenia i praktyka

JADWIGA PISKORSKA-PLISZCZYŃSKA

Zakład Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Piskorska-Pliszczyńska J.

Methodology validation – requirements, recommendations and practice

Summary

The ability to provide timely, accurate, and reliable data is central to the role of analytical laboratories and the method of validation is an important requirement in the practice of each laboratory. However, the awareness of its importance seems to be poor.

The purpose of this paper is to discuss the issues related to method validation both from the qualitative point of view and as the analytical procedure generating basic parameters of the tested method. This paper also aims to present the current approach to conducting validation studies as they apply to chemical and microbiological laboratories of veterinary diagnostics.

The use of validated methods is one of the basic criteria for testing in compliance with the quality assurance system. One can interpret the ISO definition of method validation as being the process of defining analytical requirements and confirming that the method under consideration has performance capabilities consistent with what the application requires. The judgement of method suitability is crucial: in the past method validation has tended to concentrate on the process of evaluating the performance parameters. In spite of the general agreement about what type of studies should be done, there is a great diversity in how they are performed.

Keywords: method validation, quality assurance, requirements

Bodźcem do nowego spojrzenia na problem walidacji metod badawczych stała się nowa norma PN-EN ISO/IEC 17025 : 2001, określająca ogólne wymagania dla laboratoriów ubiegających się o akredytację, która będzie obowiązywała od 1 stycznia 2003 r. (18). Norma ta, jak i przepisy uchwalonej ostatnio przez Sejm „ustawy weterynaryjnej”, stawiają przed laboratoriami weterynaryjnymi zwiększone wymagania. Wymóg uzyskania certyfikatu akredytacji przez uprawnione rozporządzeniem ministra rolnictwa laboratoria inspekcji weterynaryjnej wchodzi w życie z dniem 1 stycznia 2004 r. (przepis art. 2 pkt. 45).

W rozumieniu normy PN-EN ISO/IEC 17025 : 2001, stosowane przez laboratorium metody powinny być m.in. sprawdzane w zakresie charakteryzujących je parametrów statystycznych oraz pod względem przydatności do zamierzonego zastosowania – czyli powinny zostać poddane procesowi walidacji. W procesie walidacji laboratorium musi wykazać się umiejętnością rozpoznawania i zdefiniowania problemu klienta, a jednocześnie musi ocenić swoje możliwości badawcze. I chociaż poprzez walidację nie można zredukować wszystkich potencjalnych problemów, proces ten jest jednym z najistotniejszych działań podejmowanych przez laboratorium dla potwierdzenia własnych kompetencji.

W codziennej pracy spotkać się można z różnymi znaczeniami terminu „walidacja”; waliduje się oprogramowanie, przyrządy, przydatność systemu, a nawet personel. W chemii analitycznej termin ten odnosi się często do procedury kalibracji przyrządów pomiarowych, a w przypadku skomputeryzowanych przyrządów – do walidacji komputerów. Oznacza ustalenie sprawności przyrządu do działania, zgodnie z jego zaprojektowaną specyfikacją. Proces ten można przeprowadzić za pomocą kalibracji, zaś sam proces kalibracji można również poddać walidacji. W laboratorium chromatograficznym przez walidację rozumie się co najmniej cztery różne etapy: walidację oprogramowania, metod, oprzyrządowania oraz przydatności całego systemu (system suitability) (5, 21). Dla instytucji akredytującej walidacja stosowanych w laboratorium metod to zasadniczy element oceny kompetencji, zaś w żargonie laboratoryjnym oznacza głównie proces określania możliwości metody, czyli określania wartości jej cech charakteryzujących.

Problem walidacji metod jest przedmiotem szerokiego zainteresowania, treścią wielu publikacji zawierających ważne choć często rozproszone informacje, a także zaleceń w różnych dziedzinach badawczych. Celem tego opracowania jest przedstawienie zagadnienia walidacji metody badawczej z punktu widzenia

wymagań norm jakościowych oraz jako procesu analitycznego, określającego podstawowe parametry sprawności metody. Ma na celu również przedstawienie obecnego podejścia do problemu walidacji metod w weterynaryjnych laboratoriach chemicznych i mikrobiologicznych, na podstawie zaleceń uznanych organizacji międzynarodowych.

Walidacja w systemie zapewnienia jakości

Definicja walidacji wg normy terminologicznej PN-ISO 8402 brzmi: „potwierdzenie przez zbadanie i przedstawienie obiektywnego dowodu, że zostały spełnione wymagania dotyczące konkretnie zamierzonego zastosowania” (19). Powyższa definicja znajduje się również w znowelizowanej normie ISO 9000 : 2000 i posługuje się nią przewodnik Eurachemu (7). Dla metod badawczych oznacza to konieczność ustalenia możliwości metody, określenie wpływu czynników zewnętrznych i wykazanie, że metoda jest właściwa dla konkretnego zastosowania. Przewodnik Eurachem podaje jeszcze dwie inne definicje walidacji metody, z których pierwsza ma zastosowanie podczas opracowywania nowej metody, a druga gdy metodę dostosowuje się do ściśle określonego zastosowania.

Jak już wspomniano norma międzynarodowa PN-EN ISO/IEC 17025, termin walidacji odnosi się do stosowanych w laboratoriach metod badań. W jej rozumieniu walidacja metody jest procesem zapewnienia, że metoda dostosowana jest do zamierzonego celu, przy czym jej charakterystykę należy przeprowadzić przed zastosowaniem po raz pierwszy. Zatem celem walidacji jest użycie metody zgodnie z wymaganiami problemu analitycznego i wymaganiami klienta. Walidacja w rozumieniu tej normy jest badaniem przydatności metody do wykonania konkretnego zadania. Aby wykonać to zadanie, należy scharakteryzować problem oraz ustalić charakterystyczne cechy metody przewidzianej do danego zastosowania. Dopiero te dwa elementy pozwolą ocenić czy proponowana metoda nadaje się do rozwiązania problemu powstałego u zleceniodawcy (klienta). I chociaż wybór stosowanych metod należy do laboratorium (p. 5.4.2 PN-EN ISO/IEC 17025), to powinny one być właściwe do rodzaju zadania i spełniać wymagania klienta.

Preferuje się stosowanie metod znormalizowanych, ale mogą to być również zwalidowane metody własne (p. 5.4.4). Konieczność poddania procesowi walidacji dotyczy metod nieznormalizowanych, wykorzystywanych poza zakresem zastosowania, zmodyfikowanych i rozszerzonych, ale również i metod znormalizowanych. Walidacja tych ostatnich posiada mniejszy zakres, bowiem „powinna być na tyle obszerna, na ile jest to konieczne przy danym zastosowaniu” (18).

Norma ISO/IEC 17025 nie określa sposobów walidacji, wskazuje jedynie mogące jej służyć techniki i narzędzia. Z pięciu technik charakterystyki metody badawczej, trzy opierają się na porównaniu wyników badań z wartościami mniej lub bardziej znanymi,

czwarta na systematycznym badaniu czynników wpływających na wynik, a piąta na szacowaniu niepewności całkowitej metody badawczej w oparciu o doświadczenie i wiedzę badacza. Cały proces walidacji obejmuje cztery kolejne etapy: specyfikację wymagań – tj. określenie niezbędnych cech metody oraz stawianych jej wymagań; walidację czyli określenie charakterystycznych cech metody, tj. ustalenie wymiernych parametrów i nadanie im wartości liczbowych oraz sprawdzenie, czy wymagania mogą zostać spełnione przez testowaną metodę. Weryfikacja – porównanie tych cech z ustalonymi cechami niezbędnymi do rozwiązania zadania stanowi kolejny krok, po którym kwalifikacja – tj. formalne potwierdzenie przydatności konkretnej metody badawczej do rozwiązania istniejącego zadania kończy proces.

Walidacja jako proces analityczny

Zgodnie z wymaganiami normy jakościowej walidacja metody badawczej jest procesem zapewnienia, że jest ona dostosowana do zamierzonego celu. W procesie tym ustala się charakterystykę działania i przydatność metody. Możliwości metody zostają opisane wielkościami liczbowymi parametrów, ustalonymi eksperymentalnie, zaś „przydatność do określonego celu” oznacza się poprzez stwierdzenie, jak metoda działa w wykonaniu przez wyznaczonego analityka na dostępnym wyposażeniu (7). Całkowity zakres i etapy walidacji zależą od specyfiki problemu analitycznego, ponieważ do niego dobiera się rodzaj aparatury, sposób wykonania oznaczeń analitycznych, czy matematyczne metody opracowania wyników. Laboratorium bazując na wiedzy i doświadczeniu swoich badaczy, wymaganiach norm, zaleceniach legislacyjnych krajowych i międzynarodowych (o ile istnieją), samo określa optymalny zakres prowadzonej walidacji. Jej zakres powinien odpowiadać zamierzonemu celowi użycia i być na tyle obszerny na ile jest to konieczne (PN-EN ISO/IEC 17025, p. 5.4.5.2).

Norma wymaga aby metody znormalizowane podlegały również procesowi oceny w warunkach konkretnego laboratorium. Taki wymóg wynika z punktu 5.4.2, który mówi „laboratorium powinno potwierdzić, że jest w stanie prawidłowo realizować metody znormalizowane, zanim wprowadzi je do badań lub wzorcowań” (18). Z walidacją związane są normy z serii ISO 5725 (12).

Zgodnie z zaleceniami przewodnika Eurachem, parametrami podstawowymi charakteryzującymi metodę są: potwierdzenie identyczności, selektywności i specyficzności, granica wykrywalności, granica oznaczenia ilościowego, zakres roboczy i zakres liniowy, dokładność (poprawność i precyzja), powtarzalność i odtwarzalność, niepewność pomiaru, czułość, odporność metody na zmiany warunków, odzysk, a także możliwość zastosowania, dostosowanie do problemu (fitness for purpose) oraz w zależności od rodzaju metody i techniki badawczej inne cechy specyficzne.

Walidacja, oprócz wymienionych parametrów podstawowych, może obejmować cechy związane z działaniem elementów systemu i aparatury. Na przykład podczas walidacji metod spektrofotometrycznych UV/VIS sprawdzenie dokładności zaprogramowanego natężenia wiązki promieniowania, w chromatografii cieczowej lub gazowej – precyzja wstrzykiwania próbek, parametry pracy kolumny i inne. Optymalny zakres walidacji, dla oznaczenia jakościowego, w klasycznej analizie chemicznej i instrumentalnej to wykrywalność, specyficzność, zakres roboczy, zaś dla analizy ilościowej jest znacznie szerszy i obejmuje również granicę oznaczenia ilościowego, zakres roboczy i liniowy, specyficzność i selektywność, poprawność, powtarzalność i czułość (10).

Jak już wspomniano całkowity zakres i etapy walidacji zależą od specyfiki problemu analitycznego. Określony problem analityczny determinuje wymagania analityczne, które z kolei określają wymagania sprawnego działania metody tak, aby była ona odpowiednia do rozwiązania problemu analitycznego. Dla spełnienia tych wymagań laboratorium ocenia czy posiada odpowiednią metodę albo czy konieczne jest opracowanie nowej. Cykliczny proces opracowywania i oceny powtarza się aż do momentu stwierdzenia przez laboratorium, że metoda spełnia wymagania.

Norma PN-EN ISO/IEC 17025 wymaga, aby laboratorium stosowało właściwe metody i procedury dla wszystkich badań objętych zakresem jego działalności. Interpretacja słowa „właściwe” jest źródłem wielu wątpliwości, a zależy od specyfiki działania danego laboratorium. Pomoc stanowią publikacje, zalecenia, przewodniki uznanych organizacji międzynarodowych związanych bezpośrednio lub pośrednio z pracą laboratoriów analitycznych takich jak AOAC International, IUPAC, EURACHEM i inne (1, 6, 9, 11, 15-17). Temat ma bogate piśmiennictwo ponieważ zajmuje się nim, oprócz już wspomnianych, wiele organizacji międzynarodowych między innymi ISO, FAO, IUPAC, Codex Alimentarius Commission i inne. Bez wątpienia najwięcej informacji przygotowano dla laboratoriów pracujących w zakresie analizy żywności lecz materiały te mogą być pomocne także w innych laboratoriach (2-4, 13, 20).

Zalecenia walidacyjne a praktyka

Skoro metody analityczne są dostosowane do ściśle określonych problemów analitycznych, to procedury ich walidacji nie dają się ujednoczyć. I dlatego każde laboratorium musi opracować swoją własną procedurę postępowania walidacyjnego. Oprócz wymagań jakościowych, zalecenia i wymagania branżowe mają zasadnicze znaczenie dla określenia zakresu walidacji stosowanej metody badawczej. Na przykład walidacja metod badania żywności powinna być zgodna ze strategią walidacji stosowaną przez AOAC International czy dyrektywami Unii Europejskiej, badania farmaceutyków należy prowadzić w oparciu o zalece-

nia Europejskiej lub Amerykańskiej Farmakopei, analizę pozostałości substancji chemicznych i leków weterynaryjnych bazując na zaleceniach Kodeksu Żywnościowego, itp. Daje to pewność, że specyficzna terminologia walidacji oraz stosowana statystyka będą interpretowane w sposób przyjęty w danej dziedzinie.

W piśmiennictwie dotyczącym technicznych działań dla przeprowadzenia procesu walidacji metod analitycznych można spotkać określenia: pełna i niepełna walidacja. Przez termin „niepełna walidacja” zwykle rozumie się konieczność sprawdzenia umiejętności i możliwości analitycznych laboratorium oraz ocenę osiągniętych przez laboratorium parametrów sprawności metod. Pełna walidacja oznacza, że ponadto metoda przeszła ocenę w porównawczych badaniach międzylaboratoryjnych (15, 16).

Pomimo, że norma PN-EN ISO/IEC 17025 dopuszcza stosowanie metod zwalidowanych tylko we własnym laboratorium, należy pamiętać, że w niektórych sektorach badań, głównie w analizie żywności, przepisy prawne wymagają stosowania metod w pełni zwalidowanych. Stosowanie metod zwalidowanych jest konieczne dla zapewnienia zgodności z przepisami i/lub wymaganiami legislacyjnymi (krajowymi i międzynarodowymi), jak np. problem pozostałości pestycydów czy leków weterynaryjnych w żywności. Takimi metodami są np. oficjalne metody AOAC International, niezależnego stowarzyszenia promującego walidację metod i zapewnienie jakości w naukach analitycznych (www.aoac.org). Od ponad stu lat AOAC International dostarcza metod potrzebnych do pomiaru analityków będących przedmiotem zainteresowania agencji rządowych, które regulują kontrolę produktów związanych ze zdrowiem publicznym, rolnictwem i środowiskiem. Metody te są adaptowane przez różne krajowe i międzynarodowe organizacje normalizacyjne takie jak ISO, Codex Alimentarius Commission, European Standardization Committee i inne (2, 22, 23).

Podana na wstępie definicja walidacji ISO również dla metod analitycznych stosowanych w weterynaryjnych laboratoriach chemicznych i mikrobiologicznych oznacza ustalenie możliwości metody, określenie wpływu czynników zewnętrznych i wykazanie, że metoda jest właściwa do konkretnego zastosowania. Wymaganie to jest jednak mało precyzyjne i stąd problem z jego interpretacją jak i z ustaleniem zakresu walidacji. Pomocne są zalecenia, publikacje, przewodniki uznanych międzynarodowych organizacji (1, 3, 4, 16, 17, 20). Poniżej kilka przykładów.

Dla badania farmaceutyków ramy dla przeprowadzenia walidacji dostarczają m.in. United States Pharmacopoea (USP), International Conference of Harmonisation (ICH), zalecenia amerykańskiego Food and Drug Administration, Europejska Farmakopea (5, 21). Według zaleceń USP ośmiostopniowa walidacja dotyczy ustalenia następujących cech charakteryzujących metodę: precyzji, dokładności, limitu wykrywalności, limitu oznaczania, specyficzności, zakresu, liniowości,

odporności na warunki zewnętrzne. Zaś walidacja zgodnie ze zharmonizowanym protokołem ICH obejmuje precyzję, dokładność, limit detekcji i oznaczania ilościowego, specyficzność, liniowość, zakres, odporność metody i poprawność całego systemu. Częścią walidacji metod chromatograficznych (i innych instrumentalnych), jest zbadanie całego systemu i ustalenie czy jest on właściwy dla zamierzonej analizy. Test ten bazuje na założeniu, że wyposażenie, elektronika, operacje analityczne i próbka stanowią integralną całość i wobec tego można ją poddać ocenie jako całość. Powtarzalność, rozdział, liczba półek teoretycznych to tylko niektóre z określanych dodatkowo parametrów (www.waters.com) Zarówno USP jak i ICH uznają, że nie zawsze trzeba oznaczać wszystkie parametry charakteryzujące metodę. Zakres prowadzonej walidacji jest zależny od rodzaju metody oraz zamierzonego jej zastosowania. USP pod względem przeznaczenia dzieli metody analityczne na trzy kategorie, z których pierwsza dotyczy identyfikacji i oznaczania ilościowego głównych komponentów, druga – oznaczania zanieczyszczeń i produktów degradacji, a trzecia określenia sprawności metody. Dla badań pierwszej kategorii oznaczenie granicy wykrywalności i oznaczenia ilościowego nie jest konieczne ponieważ główne składniki czy substancja czynna występują w wysokich stężeniach. Dla kategorii drugiej, którą podzielono na dwie podgrupy (analiza ilościowa i śladowa), jeśli celem metody jest informacja dotycząca ilości nie trzeba oznaczać limitu wykrywalności, ale wszystkie pozostałe parametry. Sytuacja staje się odwrotna w drugiej podgrupie. Skoro nie wymaga oznaczenia ilościowego wystarczy oznaczyć granicę wykrywalności i wykazać specyficzność oraz odporność na czynniki zewnętrzne (ruggedness).

Zharmonizowany przewodnik trzech organizacji ISO/IUPAC/AOAC International podaje minimalne kryteria walidacji. Przewodnik ten (in house method validation) za niezbędne elementy walidacji uważa: precyzję, bias, liniowość, limit detekcji, selektywność, specyficzność oraz odporność na czynniki zewnętrzne (4). Takich przepisów walidacji metod stosowanych w analizie śladowej, chemii analitycznej, w mikrobiologii opracowano wiele (1-4, 6-9, 11, 13-19, 22).

Podczas prac walidacyjnych w laboratorium analitycznym bardzo pomocny jest przewodnik Eurachem „Przydatność metod analitycznych do określonych celów” (17). Przewodnik ten wypełnia lukę między zaleceniami normy jakościowej pod względem różnych elementów procesu walidacyjnego i jest przeznaczony dla pracujących niezależnie laboratoriów. Określa, kiedy metoda powinna być walidowana, kto przeprowadza walidację, w jaki sposób należy tego dokonać, jak stosować próby ślepe, standardy i powtórzenia, jak zaplanować kontrolę jakości na podstawie danych walidacyjnych. Dotyczy również stosowania metod zwalidowanych, dokumentacji metody oraz wpływu danych walidacyjnych na raport z badań.

Sposób przeprowadzenia jak i wymagania stawiane międzylaboratoryjnym badaniom porównawczym podaje „Program metod oficjalnych AOAC” (www.aoac.org). Ostatnio stowarzyszenie wprowadziło również program przeznaczony do walidacji metod przez laboratoria współpracujące tylko z jednym lub dwoma innymi laboratoriami (Peer verified method program). Sposób postępowania walidacyjnego metod badawczych zarówno dla laboratoriów chemicznych jak i mikrobiologicznych podaje kompendium Official Method of Analysis of AOAC International (15, 16).

Podobnie jak w analizie żywności pojawia się coraz więcej materiałów pomocniczych przeznaczonych np. dla weterynaryjnych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (1, 3, 15, 17, 20). Na przykład przewodnik Federation of European Laboratory Animal Science Association (FELASA), podaje szereg rad i zaleceń dla tych laboratoriów. W opinii autorów laboratorium może stosować metody branżowe, oficjalne, międzynarodowe, normy i metody własne. Nie musi stosować norm, jeśli posiada metody własne, które są równoważne albo nawet lepsze, oparte na nowocześniejszej technologii, a stopień ich walidacji jest adekwatny do założonego celu. O wyborze metody powinny decydować: niepewność pomiaru, granica powtarzalności/odtworzalności, granica wykrywalności, ograniczony wpływ matrycy i łatwość zastosowania. Wszystkie stosowane metody powinny być w pełni udokumentowane (2, 18).

Pełna walidacja nie jest wymagana dla metod oficjalnych, norm lub metod uznawanych przez krajowe lub międzynarodowe organizacje, ale przed zastosowaniem ich po raz pierwszy laboratorium powinno je sprawdzić w uproszczony sposób, a wykonane czynności udokumentować. Testy handlowe (kits) mogą nie wymagać późniejszej walidacji jeśli dane dotyczące walidacji pochodzą z właściwego źródła i bazują na badaniach międzylaboratoryjnych. Dlatego od producenta zestawów handlowych laboratorium powinno oczekiwać danych walidacyjnych i dowodów pracy w uznanym systemie zapewnienia jakości (2).

Wszystkie inne metody muszą zostać poddane walidacji w celu uzyskania wiarygodności wyników i jeśli to możliwe, określenia rozmiaru rozrzutu wyników. Wszystkie dane walidacyjne muszą zostać zapisane i przechowywane przynajmniej tak długo jak długo metoda jest stosowana przez laboratorium i tak długo jak jest to konieczne dla zapewnienia identyfikowalności wyników badań oraz danych surowych.

Jakościowe testy mikrobiologiczne (których wyniki wyraża się w terminach obecny/nieobecny), powinny być walidowane poprzez określenie następujących cech: specyficzność, poprawność, odchylenie pozytywne i negatywne, granica wykrywalności, wpływ matrycy, powtarzalność i odtwarzalność (2). Dla ilościowych metod mikrobiologicznych należy określić: selektywność, precyzję, dokładność, odchylenie dodatnie i ujemne, powtarzalność, odtwarzalność, granicę wykrywal-

ności. Należy uwzględnić również wpływ matrycy. Wyniki tych prac należy poddać ocenie stosując odpowiednie testy statystyczne. Walidację metod mikrobiologicznych należy wykonać w tych samych warunkach, w jakich przeprowadza się badania. Można zastosować próbki zanieczyszczone naturalnie oraz wzmocnione.

Walidacja jakościowych testów mikrobiologicznych wg AOAC International obejmuje: dokładność, odzysk, krzywą kalibracyjną, liniowość, limit wykrywalności i oznaczenia ilościowego, precyzję, odchylenie pozytywne i negatywne, powtarzalność i odtwarzalność, wpływ matrycy, odporność na czynniki zewnętrzne. Parametry charakterystyki ilościowych metod mikrobiologicznych, sposoby ich określenia oraz wartości graniczne tych parametrów podaje kompendium Official Method od AOAC International (15). Zwalidowane metody badawcze, proponowane np. przez AOAC International, nie tylko spełniają wymagania norm jakościowych ale również pozwalają na zapewnienie zgodności z krajowymi i międzynarodowymi przepisami legislacyjnymi.

Należy jednak pamiętać, że tam gdzie pełne dane walidacyjne są nieosiągalne laboratorium odpowiada za kompleksowość walidacji metody przed jej rutynowym użyciem. Również nie należy zapominać, że różnorodność stosowanych metod badawczych i ich zastosowań powoduje, że cechy istotne w jednym zastosowaniu stają się drugorzędne w innym (23). Dlatego ostatecznie laboratorium samo musi zdecydować o wyborze właściwych parametrów walidacji metody, uwzględniając zarówno wymagania norm jakościowych, jak i wymagania branżowe.

W praktyce laboratoryjnej walidacja metody badawczej posiada bardzo istotne znaczenie. Stanowi niezbędny element systemu zapewnienia jakości, a w rezultacie wyników badań dostarczanych przez laboratoria. Jest stałym i rozwijającym się procesem, rozpoczynającym się przed zakupieniem i wprowadzeniem aparatury badawczej i trwa poprzez okres opracowania metody i przekazania jej do stosowania. Pracując w systemie zapewnienia jakości laboratorium musi przeprowadzić walidację w rozumieniu norm jakościowych, tzn. musi określić i scharakteryzować cechy metody oraz ocenić jej przydatność do zamierzonego zastosowania. Dla konkretnego zastosowania należy określić istotność różnych cech charakteryzujących (23). Metoda badawcza podlega walidacji zawsze wtedy, gdy porównuje się jej możliwości z problemem klienta. Podlega określeniu wartości cech, gdy wdraża się ją do praktyki i gdy jest modyfikowana. W każdym przypadku określenie wartości cech charakteryzujących metodę jest jednym z podstawowych etapów. W zależności od rodzaju metody, zadania analitycznego i wymagań klienta należy również określić parametry specyficzne. Wszystkie stosowane metody i przeprowadzone działania muszą posiadać pełną dokumentację i zawierać formalne stwierdzenie przydatności metody (lub nie) do zamierzonego zastosowania.

Przeprowadzenie przez laboratorium walidacji metody w sposób uporządkowany pozwala na bardziej efektywne wykorzystanie własnych zasobów, co w efekcie daje pożądane obniżenie kosztów badań. Sam zaś proces walidacji metody badawczej przeplata się z innymi elementami zapewnienia jakości. Wymagana przez normę PN-EN ISO/IEC 17025 spójność pomiarowa (trace ability) jest wynikiem powiązania walidacji z niepewnością pomiaru, wewnętrzną kontrolą jakości (QC), zewnętrzną kontrolą jakości (udział w badaniach biegłości, proficyency testing) (14, 16).

Piśmiennictwo

1. Anon.: Accreditation for laboratories performing microbiological testing. EAL-G18. Eurachem 1996 – EA-4/10.
2. Anon.: FELASA guidance paper for the Accreditation of laboratory Animal diagnostic laboratories. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Accreditation of Diagnostic Laboratories. Lab. Anim. 1999, 33 Suppl. 1, 19-38.
3. Anon.: Harmonised guidelines for the in-house validation of methods of analysis (technical report.) 1999, www.iupac.org/divisions/V/501/draftoct.19.pdf.
4. Anon.: ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of analytical procedures: Methodology. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1997, www.nihs.go.jp/drug/validation/
5. Anon.: International Conference on Harmonisation, Draft Guideline on validation of analytical procedures: definitions and terminology. Federal Register 1995, 60, 11260.
6. Anon.: Method Validation and Regulatory Information., 2001, www.pheur.org.
7. Anon.: Przydatność metod analitycznych do określonych celów. Przewodnik walidacji metod w laboratorium i zagadnienia związane. Eurachem. Biul. Inform. POLLAB, 2000, 2, s.1-51.
8. Anon.: Wyrażanie niepewności pomiaru. Przewodnik. Główny Urząd Miar. Warszawa 1999.
9. Alder R., Hill A., Holland P. T., Lantos J., Lee S. M., MacNeil J. D., O'Rangers J., van Zoonen P.: Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentration of organic chemicals. W: Principles and practices of method validation. Przewodnik AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, Wyd. A. Fajgelj, Ambrous A., Cambridge, UK 2000, s.179-187.
10. Dobecki M.: Zapewnienia jakości analiz chemicznych. Poradnik dla laboratoriów inspekcji sanitarnej. Instytut Medycyny Pracy, Łódź 1997.
11. Hanel R., Siebers J., Howard K.: EU guidance document on residue analytical methods. W: Principles and practices of method validation, Wyd. A. Fajgelj, Ambrous A., Cambridge, UK 2000, s.176-178.
12. ISO-5725: 1994. Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych i wyników pomiarów. Arkusze 1-6.
13. MacNeil J. D., Patterson J., Martz V.: Validation of analytical methods-proving your methods is „fit for purpose”. W: Principles and practices of method validation. Wyd. A. Fajgelj, Ambrous A., Cambridge, UK 2000, s.100-107.
14. Morkowski J.: Walidowanie i charakteryzowanie metod badawczych. VII Sympozjum POLLAB, Zakopane 2001, s.5-21.
15. Official Methods of AOAC Inter., Appendix D.: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. USA, 2000, s.1-11.
16. Official Methods of AOAC Inter., Appendix E.: Laboratory quality assurance. USA, 2000, s.1-6.
17. PN-EN 1174-3: 1999. Sterylizacja wyrobów medycznych. Oznaczanie populacji drobnoustrojów na produkcie. Przewodnik po sposobach walidacji metod mikrobiologicznych.
18. PN-EN ISO/IEC 17025: 2001. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
19. PN-ISO 7218: 1998. Mikrobiologia żywności i pasz. Ogólne zasady badań mikrobiologicznych.
20. PN-ISO 8402: 1996. Zarządzanie jakością i zapewnienie jakości. Terminologia.
21. The United States Pharmacopeia, USP 24, United States Pharmacopeial Convention Inc. 2000, s. 2149-2159.
22. Thompson M., Wood R.: Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. J. Pure Applied. Chem. 1995, 4, 49-56.
23. Vičzens P., Peters J.: Titration food analysis. GIT Laboratory J. 1998, 4: 232-235.