



JAN K. LUDWICKI, KATARZYNA GÓRALCZYK, KATARZYNA CZAJA,
PAWEŁ STRUCIŃSKI

BADANIA BIEGŁOŚCI LABORATORIÓW ANALITYCZNYCH – OGÓLNE ZASADY ORGANIZOWANIA I OCENY WYNIKÓW

PROFICIENCY TESTING FOR CHEMICAL ANALYTICAL LABORATORIES – GENERAL PRINCIPLES CONCERNING ORGANIZATION AND ASSESSMENT OF RESULTS

Z Zakładu Toksykologii Środowiskowej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. Jan K. Ludwicki

Przedstawiono zasady przeprowadzania badań biegłości oraz statystycznej oceny wyników. Omówiono także korzyści dla laboratorium wynikające z udziału w takich badaniach.

WSTĘP

Badanie biegłości (proficiency testing) jest to określenie zdolności laboratorium do wykonywania badań, na podstawie udziału w międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych [5, 8, 9].

Nadrzędnym celem badania biegłości jest uzyskanie pewności, że laboratorium jest w stanie uzyskiwać wiarygodne wyniki w zakresie danych analiz. Uczestnictwo laboratoriów w badaniach biegłości umożliwia zatem uzyskanie niezależnej oceny jakości wyników, stanowiąc istotny element akredytacji laboratorium [1, 3, 7, 9, 10, 11, 12].

Badania biegłości mogą być przeprowadzane dla różnych celów [4, 8, 14]. Jedne są „otwarte” dla każdego laboratorium, a udział w nich zwykle jest odpłatny, inne natomiast są „zamknięte”, co oznacza, że uczestniczą w nich wyłącznie laboratoria zaproszone do udziału. Badania biegłości mające na celu ocenę kompetencji laboratoriów powinny dotyczyć ściśle zdefiniowanego obszaru w zakresie analitu i matrycy uwzględniając różne ich kombinacje. Podejście takie stosuje się szczególnie w przypadkach gdy matrycę stanowi żywność, woda, pasze, lub gdy dotyczą one analiz z zakresu higieny pracy. Laboratoria wykonujące różne analizy w jednej matrycy powinny uczestniczyć w tylu programach badania biegłości aby pokryć cały zakres wykonywanych analiz.

Wiele instytucji w Europie organizuje badania biegłości. Jednak najbardziej znaną w zakresie analizy żywności jest Ministerstwo Rolnictwa, Rybołówstwa i Żywności (MAFF) w Anglii, które przeprowadza takie badania na szeroką skalę w ramach Food Analysis Performance Assessment Schemes (FAPAS) [4]. Do 1994 r. uczestniczyło w nich ponad 300 laboratoriów z ponad 30 krajów. Obejmują one m.in. badanie składników odżywczych, analizę pierwiastków śladowych, pestycydów, polichlorowanych bifenyli (PCB), pozostałości leków weterynaryjnych, aflatoksyn, procedury wysokosprawnej

chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii gazowej (GC), analizę pasz oraz migrację globalną i specyficzną z opakowań z tworzyw sztucznych [14].

Korzyści wynikające z udziału w badaniach biegłości są szeroko uznane, a znaczenie dokładności i wiarygodności wyników nie podlega dyskusji. Wiarygodność wyników jest istotna zarówno w badaniach monitoringowych zanieczyszczenia żywności, czy innych elementów środowiska, jak i w handlu międzynarodowym żywnością, a także w badaniach naukowych, co w każdym przypadku wiąże się z akceptacją (uznawaniem) wyników badań.

Z tego względu konieczny jest stały udział laboratorium w badaniach biegłości i dysponowanie wynikiem niezależnej zewnętrznej oceny, stanowiącej dla laboratorium dowód wiarygodności wyników uzyskiwanych w zakresie wykonywanych analiz.

OGÓLNE ZASADY ORGANIZACJI BADAŃ BIEGŁOŚCI

Badania biegłości polegają na regularnym rozsyłaniu próbek do analizy uczestnikom badań i ocenie wyników przez organizatora.

Poniżej przedstawiono podstawowe zasady organizacji takich badań.

(1) Udział w badaniach biegłości powinien się odbywać na zasadach dobrowoli;

(2) Badania powinny być prowadzone w sposób ciągły, tzn. powtarzane regularnie tak długo jak istnieje zapotrzebowanie na wykonywanie określonego rodzaju analiz;

(3) Uczestnik badań biegłości powinien zostać dokładnie poinformowany o rodzaju matrycy i analitu (o ile przedmiotem badań nie jest analiza jakościowa) i o sposobie postępowania z otrzymaną próbką;

(4) Organizator musi zapewnić uczestnikom badań anonimowość poprzez nadawanie laboratorium numerów kodowych;

(5) Każde laboratorium powinno być poinformowane o uzyskanych przez nie wynikach na tle wyników innych laboratoriów (odpowiednio zakodowanych) uczestniczących w badaniach;

(6) Organizator badań biegłości, na życzenie, powinien umożliwić konsultacje laboratorium uzyskującym „słabe” wyniki.

Schemat organizacji badań biegłości dla każdej rundy badań w serii obejmuje:

1. Przygotowanie materiału

Za przygotowanie materiału do badań odpowiedzialny jest organizator badań biegłości, który może przygotowywać go we własnym zakresie lub też może zlecać jego wykonanie. Nie poleca się stosowania certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) do badań biegłości.

Próbki materiału, przekazywane uczestnikom badań biegłości powinny być zbliżone pod względem składu jakościowego i ilościowego do matrycy próbek zwykle analizowanych w danym laboratorium, a zawartość analitu powinna odzwierciedlać przeciętne stężenia występujące w próbkach analizowanych rutynowo. Gdy w rutynowo analizowanych próbkach średnie stężenia występują na granicy wykrywalności

metody analitycznej wówczas można stosować fortyfikację rozsyłanego materiału. W przypadku niektórych materiałów (np. woda) fortyfikacja jest prosta, natomiast w przypadku innych (np. żywność, pasze) problem może stanowić uzyskanie materiału o odpowiedniej homogenności. Homogenność materiału ma istotne znaczenie, aby wszystkie laboratoria otrzymały próbki nie różniące się stężeniem analitu. Laboratorium organizujące badania biegłości powinno zatem dysponować wynikami badań i oceną sprawdzania homogenności materiału (test F) dla każdej serii rozsyłanych próbek [13].

Materiał powinien również wykazywać odpowiednią trwałość w typowych warunkach przechowywania i dystrybucji, aby uniknąć wpływu czasu i warunków środowiska na wynik analizy od momentu przygotowania próbki, poprzez transport, do czasu wykonania analizy w laboratorium. Trwałość materiału do badań powinna być wyznaczona eksperymentalnie, lub zagwarantowana wiarygodnymi danymi z naukowego piśmiennictwa fachowego.

2. Rozsyłanie próbek

Próbki materiału do badań biegłości powinny być rozsyłane uczestnikom regularnie, w sposób ciągły, jednak nie częściej niż co 2 tygodnie i nie rzadziej niż co 4 miesiące. Badania biegłości z założenia nie mogą zastępować wewnętrznej kontroli jakości w laboratorium.

Częstotliwość przeprowadzania kolejnych tur badań biegłości zależy od wielu czynników, m.in. od liczby analiz danego typu wykonywanych przez laboratorium. Oznacza to, że im więcej analiz wykonywanych jest w ciągu roku, tym częściej powinno się uczestniczyć w badaniach biegłości. Należy też przyjąć, że dla analiz o wysokim stopniu skomplikowania badania te powinny być przeprowadzane nie częściej niż 3–4 razy w roku, a w przypadku analiz prostych 4–6 razy w roku.

Z punktu widzenia organizatora częstotliwość badań biegłości zależy przede wszystkim od dostępności odpowiedniego materiału kontrolnego, tzn. możliwości przygotowania go we własnym zakresie lub zlecenia jego wykonania, z uwzględnieniem przeprowadzenia badań homogenności i trwałości, a także od czasu potrzebnego na opracowanie wyników i przygotowanie raportu z badań.

Liczba próbek rozsyłanych w jednej turze badań biegłości dla jednej substancji analizowanej powinna uwzględniać m.in. stopień skomplikowania analizy, jednak ze względów ekonomicznych i organizacyjnych nie powinna być większa niż 5.

3. Analizowanie materiału i przekazanie wyników

Laboratoria uczestniczące w badaniach biegłości powinny stosować metodę analityczną, którą zwykle posługują się przy wykonywaniu rutynowych analiz danego typu. Z tego względu celowe jest aby próbki do badania biegłości włączać do serii analiz wykonywanych rutynowo w laboratorium. Zaleca się, aby w laboratorium stosowane były metody zwalidowane, dla których zostały wyznaczone parametry statystyczne, takie jak wykrywalność, dokładność, powtarzalność itp., niezależnie od tego czy stosowana metoda jest oficjalnie zatwierdzona (np. w postaci normy), czy też została zaadaptowana z piśmiennictwa.

Wyniki uzyskane przez laboratorium dla materiału kontrolnego powinny być przekazane organizatorowi badań biegłości, w wyznaczonym terminie, zgodnie z instrukcją przekazaną wraz z próbką materiału do badań.

4. Analiza statystyczna wyników

Wyniki uzyskane z laboratoriów uczestniczących w badaniach poddawane są analizie statystycznej z zastosowaniem testów zgodnie z normą ISO [6] i Protokołem IUPAC/ISO/AOAC dotyczącym badań biegłości [13].

Laboratoria oceniane są w zakresie dokładności uzyskanych wyników na podstawie porównania z wartością „prawdziwą” dla badanego materiału, przyjętą przez organizatora badań biegłości jako rezultat statystycznej obróbki wyników. Ocena taka dokonywana jest dla każdego laboratorium oddzielnie. Każdy wynik jest podawany jako wartość „Z-score” (Z). Taki sposób podawania wyników z badań biegłości zalecany jest przez międzynarodowe organizacje normalizacyjne, takie jak IUPAC, ISO i AOAC Int., które opracowały ujednolicone wytyczne dla organizatorów badań biegłości [13].

Wyznaczanie wartości „prawdziwej”

Wartość „prawdziwa” (należna) stanowi istotny parametr w badaniach biegłości, dlatego też organizator badań powinien posiadać udokumentowany sposób jej ustalenia dla stężenia analitu w materiale przekazywanym uczestnikom badań.

Istnieje kilka sposobów wyznaczania wartości „prawdziwej” dla materiału stosowanego w badaniach biegłości [1, 13].

(a) Wartość otrzymana przez bezpośrednie porównanie z ilością deklarowaną przez producenta w certyfikowanym materiale odniesienia (CRM). Metoda ta polega na równoległym oznaczaniu próbki materiału kontrolnego z odpowiednim certyfikowanym materiałem odniesienia, o tej samej matrycy i tej samej lub zbliżonej ilości analitu, która występuje w materiale kontrolnym. Brak odpowiedniego CRM ogranicza jednak stosowanie tej metody.

(b) Wartość odpowiadająca dodanej do matrycy znanej ilości substancji analizowanej (analitu). Ilość substancji dodanej powinna być udokumentowana np. przez porównanie z materiałem certyfikowanym. Stosowanie tej metody wiąże się jednak z istnieniem ryzyka błędu wynikającego z tego, że:

– matryca, do której będzie dodawany analit może już go zawierać jako zanieczyszczenie;

– dodany do matrycy analit może być słabiej z nią związany lub występować w innej formie chemicznej, co będzie miało wpływ na przebieg procesu analitycznego i ostateczny wynik;

– nie zawsze istnieje możliwość uzyskania homogennego rozproszenia badanej substancji w danej matrycy.

Z wymienionych względów sposób ten nie jest polecany.

(c) Wartość średniego stężenia substancji analizowanej przyjęta na podstawie międzylaboratoryjnych wyników badań próbki pochodzących z laboratoriów uznanych za referencyjne dla danego typu analiz i biorących udział w badaniach biegłości.

(d) Wartość przyjęta na podstawie wyników uzyskanych ze wszystkich laboratoriów uczestniczących w danej turze badań biegłości, po wyeliminowaniu wyników odbiegających testami statystycznymi, zgodnie z normą ISO 5725-1986 (E) [6].

Wybór metody wyznaczania wartości „prawdziwej” zależy od okoliczności. Dla potrzeb badań biegłości przeprowadzanych w warunkach krajowych najczęściej stosuje się wariant (d).

Obliczanie wartości „Z-score”

Wartość „Z-score” (Z) oblicza się oddzielnie dla każdego wyniku, zgodnie z następującym wzorem [1, 4, 13]:

$$Z = \frac{x_i - X}{\sigma}$$

gdzie: Z – „Z-score”

x_i – pojedynczy wynik analizy próbki

X – ustalona wartość „prawdziwa” (należna)

σ – odchylenie standardowe

Wartość „Z-score” oblicza się dla każdego laboratorium uwzględniając uzyskany wynik w laboratorium, przyjętą wartość „prawdziwą” dla oznaczonego analitu w próbce materiału kontrolnego i odchylenie standardowe. Istotne znaczenie ma wartość odchylenia standardowego. Niekiedy odchylenie standardowe zakłada się z góry na podstawie akceptowanej wartości wariancji wyników dla danego typu analizy. Najczęściej jednak oblicza się je po wstępnym wyeliminowaniu, za pomocą testów statystycznych, wyników odbiegających („outliers”), nie mieszczących się w danej populacji wyników [6].

Do odrzucania wyników odbiegających, zbyt wysokich lub zbyt niskich, można wykorzystywać test *Dixona* lub *Grubbsa*, natomiast do oceny biegłości laboratorium na podstawie rozrzutu wyników wewnątrz laboratorium zaleca się stosowanie testu *Cochrana* [4, 6].

Wartość „Z-score” oblicza się dla wszystkich laboratoriów, również tych, których wyniki zostały odrzucone jako odbiegające przy obliczaniu odchylenia standardowego.

„Z-score” obliczone dla każdego laboratorium podaje się w postaci liczbowej oraz przedstawia w sposób graficzny w postaci histogramu. Graficzne przedstawienie wartości „Z-score” (ryc. 1) ma na celu pokazanie rozkładu wyników ze wszystkich laboratoriów, aby każde z nich mogło ocenić własny wynik na tle innych laboratoriów uczestniczących w badaniach.

Interpretacja wartości „Z-score”

Wartość kwalifikująca „Z-score” (Z) interpretowana jest w następujący sposób. Wynik otrzymany przez laboratorium (x_i) może być mniejszy, większy lub równy wartości „prawdziwej” (należnej), dlatego też „Z-score” może przybierać wartości od ujemnych do dodatnich. Ujemna wartość „Z-score” świadczy, że laboratorium wykryło mniej substancji niż wynosi „wartość prawdziwa”, natomiast wartość dodatnia wskazuje, że laboratorium wykryło badaną substancję w większym stężeniu niż „wartość prawdziwa”. O wielkości różnicy pomiędzy wynikiem laboratorium a wartością „prawdziwą”, świadczy bezwzględna wartość „Z-score”, a kierunek dodatni lub ujemny odzwierciedla znak (+/-).

Kryteria oceny

Przyjmuje się następujące kryteria oceny laboratoriów na podstawie badań biegłości [4]:

$$\begin{aligned} |Z| \leq 2 & \text{ „zadowolająca”} \\ 2 < |Z| < 3 & \text{ „wątpliwa”} \\ |Z| \geq 3 & \text{ „niezadowolająca”} \end{aligned}$$

Bezwzględne wartości „Z-score” ($|Z|$) mogą przybierać wartości od 0 dla wyników identycznych z wartością „prawdziwą”, do wartości bardzo wysokich lub niskich, w przypadku błędów grubych. Gdy wartość „Z-score” występuje w zakresie od -2 do $+2$, wówczas wyniki laboratorium ocenia się jako zadowolające. Natomiast gdy wartość „Z-score” jest niższa od -3 lub wyższa od $+3$, wówczas wynik analizy oceniany jest jako niezadowolający („słaby”), co wskazuje na konieczność podjęcia działań naprawczych w laboratorium.

Powyższy system oceny, niezależnie od trójstopniowej klasyfikacji laboratoriów pozwala również na dokonywanie rankingu laboratoriów uczestniczących w jednej turze badań biegłości, polegającym na uszeregowaniu od najniższych do najwyższych bezwzględnych wartości „Z-score”. Przedstawienie wyników z rankingu w postaci histogramu może zachęcać laboratoria biorące udział w badaniach do uzyskiwania lepszych wyników i laboratoria „słabe” do poprawy.

Ocena łączna

Gdy przedmiotem badań biegłości jest kilka analitów w jednej matrycy (np. różne pestycydy lub metale) wówczas można zastosować ocenę łączną, uwzględniającą poszczególne wartości „Z-score”, uzyskane dla każdego z analitów. Łącznej oceny można dokonać stosując następujące równanie [4]:

$$Z = \frac{\sum x_n - \sum X_n}{\sqrt{\sum \sigma_n^2}}$$

gdzie: $\sum x_n$ = suma wyników np. dla DDT, DDE, HCH, ...PCB

np. $\sum(x_{\text{DDT}} + x_{\text{DDE}} + x_{\text{HCH}} \dots + x_{\text{PCB}})$

$\sum X_n$ = suma wartości „prawdziwych” (należnych) dla DDT, DDE, HCH, ...PCB. np. $\sum(X_{\text{DDT}} + X_{\text{HCH}} \dots + X_{\text{PCB}})$

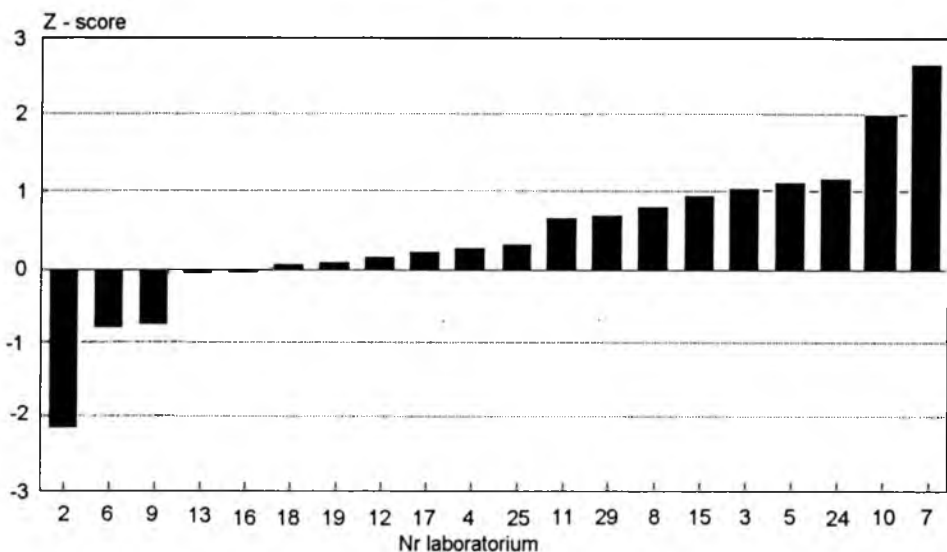
$\sum \sigma_n$ = suma kwadratów indywidualnych odchyłeń standardowych dla DDT, DDE, HCH, ...PCB np. $\sum(\sigma_{\text{DDT}} + \sigma_{\text{DDE}} + \sigma_{\text{HCH}} \dots + \sigma_{\text{PCB}})$

Łączna ocena dostarcza informacji uczestnikom badań, którzy chcą posiadać jeden wynik oceny uwzględniający wszystkie analizy wykonywane przez laboratorium w jednej turze badań.

5. Sprawozdanie dla uczestników badań

Organizator badań biegłości powinien zapewnić uczestnikom badań pełną informację zwrotną o uzyskanych wynikach, z uwzględnieniem analizy statystycznej.

Sprawozdanie z badań powinno być wysłane przez organizatora do każdego laboratorium uczestniczącego w badaniach, tak szybko jak jest to możliwe, jednak nie później niż przed rozpoczęciem następnej tury badań. Sprawozdanie powinno zawierać informacje dotyczące materiału przekazanego do badań, podawać wartość „prawdziwą” oraz obejmować wyniki wszystkich uczestniczących laboratoriów (odpowiednio zakodowanych) wraz z odpowiadającymi im wartościami „Z-score”. Ocena powinna być przedstawiona zarówno w postaci wartości liczbowych „Z-score”, jak i w postaci



Ryc. 1. Wartości „Z-score” dla p,p'-DDE w oleju
 „Z-score” values for p,p'-DDE in edible oil

histogramów. Wynik uzyskany przez dane laboratorium powinien być umiejscowiony na tle wyników pozostałych laboratoriów przy zachowaniu wszelkich zasad poufności, co oznacza, że laboratoria mogą być identyfikowane jedynie na podstawie numerów kodowych, przy czym każde laboratorium zna jedynie swój kod liczbowy.

Przykładowy histogram wartości „Z-score” dla p,p'-DDE z badań biegłości zorganizowanych przez Zakład Toksykologii Środowiskowej Państwowego Zakładu Higieny przedstawiono na rycinie 1.

KORZYŚCI Z UDZIAŁU W BADANIACH BIEGŁOŚCI

Zarówno w kraju, jak i na świecie uczestnictwo w badaniach biegłości jest coraz powszechniej stosowanym sposobem dokumentowania właściwej jakości pracy laboratorium. Korzyści dla laboratorium z udziału w takich badaniach są ogólnie uznane.

Uczestnictwo w nich umożliwia:

- 1) regularną, niezależną zewnętrzną ocenę dokładności i wiarygodności wyników, pozwalającą na samoocenę postępowania analitycznego w analizach rutynowych;
- 2) uzyskanie obiektywnych informacji o jakości pracy w laboratorium i wiarygodności uzyskiwanych wyników;
- 3) dokonanie analizy własnych systemów kontroli jakości laboratorium uzyskującym „słabe” wyniki i wyjaśnienie ewentualnych przyczyn;
- 4) ocenę kompetencji laboratorium w przypadku ubiegania się o akredytację.

Ponadto, niezależna ocena, zwłaszcza na tle innych laboratoriów, stanowi czynnik motywujący dla poprawy jakości wykonywanych analiz, a zdobyte w badaniach biegłości doświadczenia dają możliwość wyeliminowania wielu podstawowych źródeł błędów popełnianych w laboratorium, związanych np. z przepisywaniem wyników, stosowaniem

nieodpowiedniej metody analitycznej lub standardów czy też wykonywaniem analiz przez niedoświadczonych analityków.

Badania biegłości przeprowadzane są od wielu lat przez Zakład Toksykologii Środowiskowej Państwowego Zakładu Higieny dla laboratoriów Stacji Sanitarno-Epidemiologicznych w zakresie analizy pozostałości pestycydów chloroorganicznych i polichlorowanych bifenyli (PCBs) w żywności. Od kilku ostatnich lat przeprowadzane są one zgodnie z opisanymi powyżej zasadami organizacji i statystycznej oceny wyników.

J. K. Ludwicki, K. Góralczyk, K. Czaja, P. Struciński

PROFICIENCY TESTING FOR CHEMICAL ANALYTICAL LABORATORIES
– GENERAL PRINCIPLES CONCERNING ORGANIZATION
AND ASSESSMENT OF RESULTS

Summary

In order to promote in Poland the effective response to the international food regulations and to enhance the ability of laboratories in proving their analytical quality assurance, some general guidelines for proficiency testing have been presented according to the internationally recognised protocol (IUPAC/ISO/AOAC The International Harmonized Protocol for Proficiency Testing). The objectives of proficiency testing and its importance for accreditation for analytical laboratories were also reviewed with the special emphasis given to those dealing with food analysis. The organization of interlaboratory trials and methods for statistical treatment of results were also described, as well as reporting of results and their statistical evaluation. The proficiency testing according to the above described rules are routinely performed by the Department of Environmental Toxicology of the National Institute of Hygiene for organochlorine pesticides and PCBs in food.

PIŚMIENNICTWO

1. Analytical Methods Committee. Proficiency testing of analytical laboratories: Organisation and statistical assessment. *Analyst* 1992, 177, 97. – 2. *Ćwiek-Ludwicka K., Karłowski K.*: Zapewnienie jakości analiz w laboratorium analitycznym. *Roczn. PZH*, 1993, 44, 123. – 3. *Ćwiek-Ludwicka K., Postupolski J., Struciński P.*: Jakość, akredytacja i certyfikacja w gospodarce rynkowej. Cz. I Jakość i systemy zapewnienia jakości wg norm międzynarodowych. *Roczn. PZH*, 1992, 43, 3. – 4. Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS). Organisation and analysis data. 4th edition, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Norwich. U.K. November 1994. – 5. Instrukcja akredytacji jednostek badawczych (laboratoriów). załącznik do zarządzenia nr 45 Prezesa Polskiego Komitetu Normalizacji, Miar i Jakości z dnia 11 lipca 1990. – 6. ISO 5725:1986. Precision of test methods. Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by interlaboratory test. – 7. ISO/IEC Guide 25:1990 General requirements for the competence of calibration and testing laboratories. – 8. ISO/IEC Guide 43:1984 Development and operation of laboratory proficiency testing. – 9. PN-EN 45001:1993 Ogólne kryteria działania laboratoriów badawczych. – 10. PN-EN 45002:1993 Ogólne kryteria oceny laboratoriów badawczych.

11. PN-EN 45003:1993 Ogólne kryteria dotyczące jednostek akredytujących laboratoria. – 12. *Postupolski J., Struciński P., Ćwiek-Ludwicka K.*: Jakość, akredytacja i certyfikacja w gospodarce rynkowej. Cz. II. Akredytacja i certyfikacja w świetle norm europejskich. *Roczn. PZH* 1992, 43, 11. – 13. *Thompson M., Wood R.*: The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing (Chemical) Analytical Laboratories. *Pure Appl. Chem.* 1993, 65 (9), 2123. – 14. The Valid Analytical Measurement (VAM) Bulletin. LGC Publication, 11, 1994.

Dn. 1995.01.19.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24