



Istituto Superiore di Sanità

Validazione dei metodi chimici

Aspetti procedurali

A. Menditto

Convegno

**L'ACCREDITAMENTO DEI LABORATORI
PER LA SICUREZZA ALIMENTARE**

1a edizione 2005 -25-26 ottobre 2005, Aula Magna ISS

Viale Regina Elena, 299, 00161 Roma

organizzato da

SINAL

ISS ORL

SIT

Validazione dei metodi di prova

Il laboratorio deve registrare:

- **procedure utilizzate per la validazione**
- **risultati ottenuti**
- **una dichiarazione circa l'idoneità del metodo per l'utilizzo previsto.**

Validazione dei metodi di prova

La validazione può (e deve) comprendere le procedure per:

- la manipolazione e il trasporto se influenzano i risultati delle prove**
- il campionamento se viene effettuato dal laboratorio stesso.**

VALIDAZIONE DEI METODI DI PROVA

Chi deve validare i metodi?

Il laboratorio che utilizza un metodo è responsabile nell'assicurare che il metodo in uso sia stato adeguatamente validato

Come?

Per mezzo di studi collaborativi

- metodi di larga applicazione**

“In proprio” (in house)

- metodi industriali (competizione)**
- quando non sia possibile organizzare uno studio collaborativo**

Determinazione “in house” della prestazione di un metodo

Quali tecniche utilizzare?

- taratura, con campioni o materiali di riferimento
- confronto dei risultati ottenuti con altri metodi
- confronti interlaboratorio/ prove valutative
- valutazione sistematica dei fattori che influenzano il risultato;
- stima dell'incertezza dei risultati sulla base di una conoscenza scientifica dei principi teorici del metodo e di un'esperienza pratica.

Tali tecniche possono essere utilizzate da sole o in combinazione

Variazioni nei metodi non normalizzati validati

Cosa deve fare il laboratorio quando sono effettuati dei cambiamenti nei metodi non normalizzati validati?

Deve documentare l'influenza di tali cambiamenti.

Se necessario dovrebbe eseguire una nuova validazione.

Validazione

E' possibile fare delle variazioni rispetto ai requisiti, una volta iniziata la procedura di validazione?

Si

Ma qualsiasi variazione dei requisiti che richieda modifiche al piano di sviluppo dovrebbe essere approvata e autorizzata.

Validazione

E' necessario valutare nel tempo il permanere della validità del metodo?

Il laboratorio dovrebbe eseguire riesami (valutazioni) regolari per verificare che le esigenze del cliente continuino ad essere soddisfatte.

Qualsiasi variazione dei requisiti che richieda modifiche al piano di sviluppo dovrebbe essere approvata e autorizzata.

Parametri da valutare nell'ambito della validazione

- selettività del metodo
- campo dei valori ottenibili
- limite di rilevazione
- linearità
- sensibilità
- ripetibilità, precisione intermedia (riproducibilità)
- esattezza
- robustezza
- incertezza di misura

Da valutare tenendo conto dell'utilizzo previsto e/o delle esigenze del cliente.

Quali parametri devono essere valutati?

SCOPO DELLA PROVA	IDENTITÀ	PRESENZA / ASSENZA	QUANTIFICAZIONE	
Parametro				<i>analisi di tracce</i>
Identità	+	+	+	+
Selettività/Specificità	+	+	+	+
Limite di rivelabilità	-	+	-	+
Limite di quantificazione	-	-	-	+
Linearità/intervallo	-	-	+	+
Sensibilità	-	-	+	+
Precisione:				
Ripetibilità	-	-	+	+
Precisione intermedia	-	-	+	+
Esattezza	-	-	+	+
Robustezza	-	-	+	+
Incetezza di misura	-	-	+	+

Validazione

La complessità della procedura di validazione è la risultante di un bilancio fra:

- costi**
- rischi**
- possibilità tecniche**

Vi sono molti casi in cui uno o più parametri di validazione possono essere non applicabili o possono essere forniti solo in modo semplificato a causa di mancanza di informazioni.

Validazione

Quali attività sono comprese nella validazione?

- la specifica dei requisiti**
- la determinazione delle caratteristiche dei metodi**
- un controllo che i requisiti possano essere soddisfatti utilizzando il metodo**
- una dichiarazione relativa alla validità**

1.0	SCOPO
2.0	CAMPO DI APPLICAZIONE
3.0	DEFINIZIONI
4.0	ABBREVIAZIONI
5.0	RIFERIMENTI
6.0	RESPONSABILITA' ED AUTORITA'
7.0	CONTENUTO
7.1	Definizione dei requisiti da soddisfare
7.2	Programma operativo
7.3	Parametri da valutare ai fini della validazione
7.4	Registrazioni
7.5	Elaborazione dei dati
7.6	Stima dell'incertezza di misura
7.7	Rapporto di validazione
7.8	Dichiarazione di idoneità del metodo
8.0	ARCHIVIAZIONE
9.0	DOCUMENTI/MODULI
10.0	COLLOCAZIONE DELLA PROCEDURA

**Indice di una
procedura di
validazione
(esempio)**

VALIDAZIONE DEI METODI DI PROVA

Il processo di validazione di un metodo analitico richiede:

- ▶ pianificazione e attribuzione delle risorse da impiegare
- ▶ chiara definizione dei requisiti da soddisfare
- ▶ chiara descrizione del metodo da validare
- ▶ programma di validazione che indichi:
 - le informazioni deducibili da fonti esistenti
 - gli esperimenti che si intende eseguire
- ▶ registrazione dei risultati
- ▶ valutazione finale
- ▶ dichiarazione di validità (o meno) del metodo all'interno del campo di applicazione stabilito

codice	Piano di validazione di metodi analitici	REV. 0
ENTE	Sezione	Pag. 1 di 1

PIANO DI VALIDAZIONE N. _____
 Codice: _____
 Titolo: _____

Requisiti	Richiesti	Determinati
Specificità analitica		
Limite di rivelabilità		
Limite di quantificazione		
Linearità (intervallo)		
Ripetibilità		
Precisione intermedia		
Esattezza		
Incertezza di misura		
Dichiarazione di idoneità		

	Funzione	Data	Firma	Data	Firma
Redazione					
Convalida					
Autorizzazione					

Allegati:

- Descrizione del metodo analitico (Allegato 1)
- Programma operativo (Allegato 2)
- Rapporto di validazione (Allegato 3)

codice	Piano di validazione di metodi analitici	REV. 0
ENTE	SEZIONE	Pag. 1 di 1

PIANO DI VALIDAZIONE N. _____
 Validazione del metodo per: _____
 PARAMETRO: _____

	Segnale	Concentrazione/Percento
u.m.		
Data		
Operatore		
Valore 1		
Valore 2		
Valore 3		
Valore 4		
Valore 5		
Valore 6		
Valore 7		
Valore 8		
Valore 9		
Valore 10		
Media		
Scarto tipo (ST)		
ST relativo %		
LR		
LQ		

codice	Piano di validazione di metodi analitici		REV. 0
ENTE	SEZIONE	Pag. 1 di 1	
PIANO DI VALIDAZIONE N. _____			
Validazione del metodo per: _____			
PARAMETRO: _____			
	Livello 1	Livello 2	Livello 3
Data			
Operatore			
Codice campione			
u.m.			
Valore 1			
Valore 2			
Valore 3			
Valore 4			
Valore 5			
Valore 6			
Valore 7			
Valore 8			
Valore 9			
Valore 10			
Media			
Scarto tipo (ST)			
ST relativo %			

5c

codice	Piano di validazione di metodi analitici		REV. 0	
ENTE	SEZIONE	Pag. 1 di 1		
PIANO DI VALIDAZIONE N. _____				
Validazione del metodo _____				
PARAMETRO: _____				
		Livello 1	Livello 2	Livello 3
Data	Opera- tore	Codice campione		
		Valore 1		
		Valore 2		
		Valore 3		
		Valore 4		
		Valore 5		
		Valore 6		
		Valore 7		
		Valore 8		
		Valore 9		
		Valore 10		
		Valore 11		
		Valore 12		
		Valore 13		
		Valore 14		
		Valore 15		
		Valore 16		
		Valore 17		
		Valore 18		
		Valore 19		
		Valore 20		
		Media		
		Scarto tipo (ST)		
		ST relativo %		

5d1

codice	Piano di validazione di metodi analitici		REV. 0			
ENTE	SEZIONE		Pag. 1 di 1			
PIANO DI VALIDAZIONE N. _____						
Validazione del metodo _____						
PARAMETRO: <u>Esecuzione istantanea sui campioni reali</u>						
Codice campione	Data	Opera-tore	Repli-cato 1	Data	Opera-tore	Repli-cato 2
#1 -						
#2 -						
#3 -						
#4 -						
#5 -						
#6 -						
#7 -						
#8 -						
#9 -						
#10 -						
#11 -						
#12 -						
#13 -						
#14 -						
#15 -						
#16 -						
#17 -						
#18 -						
#19 -						
#20 -						
Media totale						
ST pooled (ST _p)						
ST _p relativo %						

5d2

codice	Piano di validazione di metodi analitici		REV. 0			
ENTE	SEZIONE		Pag. 1 di 1			
PIANO DI VALIDAZIONE N. _____						
Validazione del metodo _____						
PARAMETRO: <u>Esecuzione analitica di materiali di riferimento</u>						
MR/MRC						
Codice campione						
Valore atteso* (u.m.)						
Data						
Operatore						
	Risul-tato	Rap-porto	Risul-tato	Rap-porto	Risul-tato	Rap-porto
Valore 1						
Valore 2						
Valore 3						
Valore 4						
Valore 5						
Valore 6						
Valore 7						
Valore 8						
Valore 9						
Valore 10						
Valore 11						
Valore 12						
Media						
Scarto tipo (ST)						
ST relativo %						
Q-score%						

* indicare anche l'intervallo di tolleranza e, se disponibile, il livello di fiducia.

5e1

codice	Piano di validazione di metodi analitici	REV. 0
ENTE	SEZIONE	Pag. 1 di 1

PIANO DI VALIDAZIONE N. _____
 Validazione del metodo _____
 PARAMETRO: _____

Aggiunta ^a u.m.	Base			Aggiunta 1			Aggiunta 2			
	Risultato	Risultato	Recupero	Rapporto	Risultato	Recupero	Rapporto	Risultato	Recupero	Rapporto
Data										
Operatore										
Valore 1										
Valore 2										
Valore 3										
Valore 4										
Valore 5										
Valore 6										
Valore 7										
Valore 8										
Valore 9										
Valore 10										
Media										
ST										
STR%										
Q-score%										

^a indicare anche l'incertezza del valore dell'aggiunta

5e2

codice	Piano di validazione di metodi analitici	REV. 0
ENTE	Sezione	Pag. 1 di 1

PIANO DI VALIDAZIONE N. _____
 Codice: _____
 Titolo: _____

Requisiti	Richiesti		Determinati	
Specificità analitica				
Limite di rivelabilità				
Limite di quantificazione				
Linearità (intervallo)				
Ripetibilità				
Precisione intermedia				
Esattezza				
Incertezza di misura				
Dichiarazione di idoneità				

	Funzione	Data	Firma	Data	Firma
Redazione					
Convalida					
Autorizzazione					

Allegati:

_____	_____
_____	_____
_____	_____

3

2

7

4

10

8

9

10

1

6

VALIDAZIONE DEI METODI DI PROVA
Alcuni documenti di riferimento/linee guida

- **EURACHEM. The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics. First edition, 1998**
(www.eurachem.ul.pt)
- **UNICHIM. Linee guida per la validazione di metodi analitici nei laboratori chimici. Criteri generali. Manuale N. 179/0, Milano, 1999.**
- **Thompson M., Ellison S.L.R., Wood R. Harmonised guidelines for the single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). Pure Appl. Chem. 74(5): 835-855, 2002. www.iupac.org**