

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

**Государственное Предприятие «Украинский научный фармакопейный
центр качества лекарственных средств», Украина, г. Харьков**

Д.А. Леонтьев

Зам. директора по научной работе

Начальник отдела Валидации и СО, канд. фарм. наук

Тел.: р. +38(057)-719-06-01;

м. +38(067)954-91-74; +38(050)402-17-51

Leontiev@phukr.kharkov.ua; leontievd@yahoo.com

**Доклад на научно-методический семинаре по результатам 9-го
раунда Программы профессионального тестирования
лабораторий по контролю качества лекарственных средств**

г. Киев, 25 октября 2012 г

На настоящий момент в Украине в сфере фармации сложилась **взаимосогласованная метрологическая система**. Она основывается на следующих принципах:

1. Использование концепции **неопределенности/прослеживаемости** для оценки качества результатов анализа
2. Наличие **модели принятия решения** о качестве лекарственного средства
3. Использование **принципа незначимости** для обоснования требований к частной составляющей погрешности по отношению к общей составляющей
4. Наличие **критериев** оценки для всех основных **фармацевтических испытаний**
5. С использованием принципа незначимости **увязка требований** ко всем составляющим процесса получения результата анализа (аттестация стандартных образцов, валидация методик, квалификация оборудования, внешнее тестирование лабораторий и пр.) с требованиями к неопределенности результата анализа

Данная система работает только при наличии в лаборатории ряда «практик» и процедур

Доклад посвящен анализу преимуществ данной системы, и анализу реализации данной системы на настоящий момент в Украине и в странах СНГ.

Концепция неопределенности и прослеживаемости

Пользователя интересует качество конечного результата: насколько найденное значение отличается от истинного. Именно это характеризует **неопределенность** результата анализа – это интервал, в пределах которого находится истинное значение («степень доверия» к результату).

Неопределенность неразрывно связана с **прослеживаемостью**: Анализы, выполненные в различное время, в различных местах и различными независимыми объективными методами анализа должны быть сопоставимы.

Данная концепция обеспечивает достоверность, сопоставимость (однозначность интерпретации) и взаимное признание результатов, полученных в разных лабораториях и в разное время.

Статус данной концепции в Украине:

- наличие в лаборатории процедуры контроля неопределенности - важный момент при аккредитации лаборатории на соответствие GMP.
- **ГФУ – первая фармакопея, в которую введена концепция неопределенности и прослеживаемости.**

Фармакопейная модель принятия решения о соответствии спецификациям

ГФУ/ЕФ/ВОЗ – пределы содержания (вводная часть):

Пределы содержания указаны с учетом погрешности, характерной для обычной аналитической практики. Пределы установлены с учетом:

- погрешности методики анализа,
- допустимого варьирования при производстве
- допустимого загрязнения (в течении срока годности).

При принятии решения о соответствии качества анализируемого ЛС требованиям монографии не должны использоваться какие-либо дополнительные доверительные интервалы.



Проблема: если результаты соответствуют спецификации, **достаточно** уровня доверительной вероятности **95%** (принятый в аналитической химии).

Если результаты не соответствуют спецификации,

этого недостаточно. Необходимы дополнительные действия, подтверждающие корректность решения. (т.е. лаборатория фактически должна использовать **более высокую вероятность** для принятия решения в данном случае).

Как это метрологически корректно реализовать?

Принцип незначимости

Базовый принцип, позволяющий сформулировать систему взаимосогласованных критериев:
фармацевтические испытания (методики) → стандартные образцы → квалификация
аналитического оборудования → валидация методики → контроль рутинного анализа →
внешняя оценка лаборатории (ППТ)

Основан на линейной модели сложения неопределенностей (ГФУ, 5.3.N)

Неопределенность методики анализа (или ее составляющая) не должна значимо влиять на принятие решений о качестве лекарственного средства.

Примем допуски содержания для ГЛС ($\pm B$) как Δ_1 , и максимально допустимую неопределенность результатов анализа как Δ_2 .

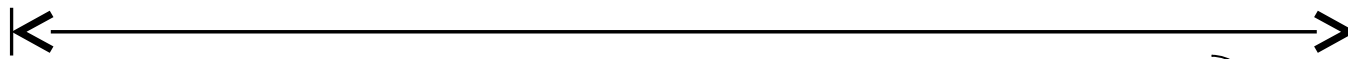
Тогда неопределенность результатов анализа (Δ_2) не будет значимо влиять на принятие решения о качестве (т.е. находится ли истинное значение в пределах допусков Δ_1 , или не находится) для вероятности $p\%$, если суммарный доверительный интервал Δ_{pooled} не превышает Δ_1 более, чем на $p\%$.

Т.о. должно выполняться неравенство: $\Delta_p = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \leq (1 + \frac{p}{100}) \cdot \Delta_1$.

В аналитической практике обычно принят уровень значимости $p = 5\%$ (т.е. уровень незначимости 95%). В этом случае:

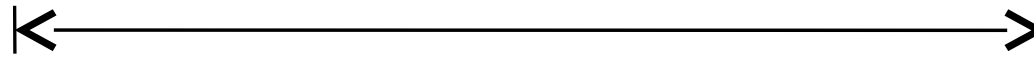
$$\Delta_{2(95\%)} \leq 0.32 \cdot \Delta_1; \text{ соответственно: } \Delta_{2(90\%)} \leq 0.46 \cdot \Delta_1; \Delta_{2(99\%)} \leq 0.14 \cdot \Delta_1$$

Допуски содержания в процессе хранения

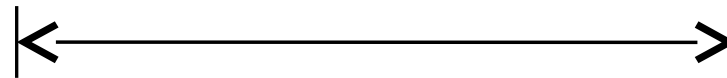


$$\pm B \leq \sqrt{\Delta_{Techn}^2 + \Delta_{As}^2}$$

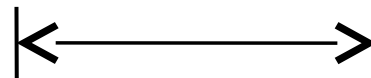
Допуски содержания при выпуске ($\pm B$)



Варьирование технологического процесса + изменения в процессе хранения (Δ_{Tech})



Неопределенность результатов анализа (Δ_{As})



Неопределенность аттестованного значения СО (Δ_{RS})

Неопределенность вносимая ан.оборудованием (Δ_{EQ})

Неопределенность вносимая вторичным СО (Δ_{WRS})

Производство

Измерения

Принцип незначимости

$$\Delta_{As} \leq 0.32 \times \pm B$$

Принцип незначимости

$$\Delta_{RS} \leq 0.32 \times \Delta_{As}$$

$$\Delta_{WRS} \leq 0.32 \times \Delta_{As}$$

$$\Delta_{EQ} \leq 0.32 \times \Delta_{As}$$



Проблемы, связанные с отсутствием данной схемы

Что требовать от результатов анализа? Что такое «плохая» методика и «хорошая» методика?

ОМСЛ: при выполнении анализа лекарственного средства на рынке страны запрашивает данные производителя о валидации методики анализа. Результаты по метрологическим характеристикам должны быть не хуже.

Что такое «не хуже»?

Где территориальному органу контроля взять данные по валидации производителя?

Проблема использования вторичных СО предприятия

Фармакопея США: «Использование вторичных СО предприятия, аттестованных по официальным (фармакопейным) СО вносит дополнительную неопределенность в результаты анализа, что должен учитывать пользователь вторичных СО».

Проблема - КАК учитывать?

Европейская фармакопея: поскольку пользователю не предоставляется (со стороны Ph.Eur.) информация о неопределенности EP CRS (принципиальная позиция Ph.Eur.), то их **нельзя использовать для аттестации вторичных СО, предназначенных для количественного определения (!!!!!!!)**

При использовании метрологической схемы: неопределенность вносимая ФСО и РСО должна быть **незначимой, ее не учитывают при оценке неопределенности.**

НО: аттестовать «третичные» СО по «вторичным» СО **категорически недопустимо.**

Исходя из предназначения фармацевтического испытания и с использованием принципа незначимости сформулированы требования к неопределенности основных фармацевтических испытаний (ГФУ, 2.2.N.2):

Испытания	Требования к неопределенности результата анализа
Количественное определение: <i>Субстанции</i>	$\Delta_{As} \leq B_H - 100 \%$
<i>Готовые лекарственные средства</i>	$\Delta_{As} \leq \frac{B_H - B_L}{2} \cdot 0.32$
Однородность содержания, Растворение	$\Delta_{As} \leq 3\%$
Сопутствующие примеси: <i>Граничные испытания</i> <i>Количественные испытания</i>	$\Delta_{imp} \leq 16\%$ $\Delta_{imp} \leq 5\%$
Остаточные органические растворители	$\Delta_{imp} \leq 25\%$

Примечания:

B_H – верхняя граница содержания по спецификации в %;

B_L – нижняя граница содержания по спецификации в %.

Проблема: требования к неопределенности должны быть установлены для всех фармацевтических испытаний.

Пример: погрешность определение воды в субстанции может привести к забраковке по количественному определению. **Какие критерии и как оценивать** неопределенность (например, для полумикрометода определения воды)?

Корректное использование стандартных образцов

В фармацевтическом секторе в странах, соответствующих современным стандартам, принята двухуровневая система СО:

- **официальный (фармакопейный) СО (ФСО)** – утвержденный и введенный в действие фармакопейным органом (имеющий статус отраслевого СО). ФСО используется для проведения арбитражных анализов, при получении результатов, не соответствующих спецификации и для калибровки РСО.

- **рабочий СО** - СО предприятия, используется для проведения поточных анализов при условии, что РСО откалиброваны по ФСО (вместо любого ФСО).

В фармакопее СССР использовалась принципиально иная система фармакопейных СО. Для анализов использовались:

- ГСО, вместо которого было нельзя использовать вещество любого другого статуса.

- под РСО понималась субстанция, которую аттестовала сама лаборатория как первичный СО. Причем обычно субстанцию обычно титровали, и по результатам титрования присваивали аттестованное значение. Затем данный «РСО» использовали для количественного определения ГЛС с использованием других методов (СФ, хроматография).

Такая «аттестация» СО вообще не корректна.

Использование официальных (фармакопейных) СО является обязательным условием получения корректных результатов. Использование СО должно соответствовать его назначению при аттестации.

Корректное использование стандартных образцов (2)

Из материалов Международного симпозиума по фармацевтическим СО (3-4.09.12, Страсбург). Главные вопросы инспектора GMP:

1. «Покажите мне официальные стандартные образцы». Т.е. фармакопейные СО должны быть во всех случаях, когда они вводятся в нормативную документацию!
2. «Докажите мне, что РСО предприятия корректно аттестованы». Т.е. какие критерии/как контролируется неопределенность аттестованного значения, как устанавливается срок годности.

Проблемы в Украине:

Только предприятия, сертифицирующиеся на GMP, используют СО корректно. Проблемы использования СО – небольшие предприятия и уполномоченные лаборатории.

1. Официальный СО стоит «на полочке» для отчетности, в рутинных анализах используются субстанции без аттестации по ФСО.
2. Недопустимо использовать без сравнения с официальными СО реактивы (примеси) и нефармакопейные СО (LGC, Sigma-Aldrich)
3. Недопустимо использовать РСО другого предприятия.
4. Официальные СО должны использоваться уже при официальной валидации методик и для получения данных о фармразработке, которые включаются в регистрационное досье.

Квалификация аналитического оборудования

Уровни осознания проблемы:

1. Квалификация должна быть для каждой единицы оборудования

Реакция лаборатории: «Есть квалификация от производителя оборудования! Ура! Проблема решена **производителем при инсталляции раз и навсегда!**»

2. Лаборатория должна держать под контролем состояние оборудования, и проводить квалификацию планово, в связи с определенной причиной (ремонт, получение результатов не соответствующих спецификации и пр.) и в процессе анализа. (требования GMP)

Реакция лаборатории: «Хм... Оказывается, это делать должны **мы и постоянно? А КАК?**»

3. Квалификация должна проводиться адекватно решаемым задачам: изучаемые **метрологические характеристики и критерии пригодности** должны гарантировать, что оборудование пригодно для решаемых задач.

Реакция лаборатории: «**Какие характеристики и Какие критерии?** Критериев и процедур **от производителя недостаточно?!! SOS!!!**»

Пример 1. Наиболее вероятная причина заниженных результатов при определении в тестовом образце глицерина примесей с большим временем удерживания – неадекватная данной задаче (фармакопейной!) квалификация оборудования: слишком низкое соотношение сигнал/шум и слишком высокое значение дрейфа базовой линии. Результат – отрицательное заключение по результатам 9-го раунда ППТ.

Пример 2. При разработке и валидации методики получен отрицательный результат. Это плохая методика или недостаточные метрологические характеристики прибора? Что делать: улучшать методику или делать профилактику для прибора?

Базовые операции пробоподготовки

Верификация мерной посуды

Мерная посуда используется практически во всех анализах, где необходимо определять концентрацию в растворе. Контроль за мерной посудой обеспечивает прослеживаемость к основной единицы измерений системы СИ – объему. При этом при корректном использовании мерная посуда может обеспечивать очень низкое значение неопределенности, т.е. является весьма тонким инструментом, требующим внимательного отношения.

Мерная посуда, используемая в лаборатории, может быть изначально бракованной (встречается брак всей серии мерной посуды данного объема, поставленной в лабораторию!), или выходить из строя в процессе использования.

Контроль за мерной посудой критичен для обеспечения требуемого уровня неопределенности результатов анализа.

Проблемы: как проводить верификацию? – нет критериев приемлемости результатов. Связанная с этим проблема: сколько делать повторов? Какие поправки необходимо учитывать для какой посуды? (на плотность воды, на объем вытесненного воздуха, на плотность воздуха при различном атм. давлении, на температурное расширение стекла?)

Возможный способ решения – использование принципа незначимости.

Базовые операции пробоподготовки (2)

Обучение и тестирование персонала

Никакое самое современное оборудование не даст корректных результатов, если на нем работает неквалифицированный персонал.

Погрешность, вносимая работой персонала, называют «субъективный фактор», поскольку даже для одного и того же сотрудника в разное время его работы фактическое значение погрешности будет разным.

Как показали результаты программ Профессионального тестирования лабораторий, фактическое значение неопределенности, вносимой аналитиком, может **в несколько раз превышать** принятое для «обычной лабораторной практики» значение. Обучение и тестирование персонала является важнейшим вопросом обеспечения должного уровня неопределенности результатов анализа в лаборатории.

Разработаны:

- двухдневный семинар с практической работой по базовым операциям пробоподготовки (проводится на базе лаборатории Заказчика)
- тестовый образец для спектрофотометрии, титрования и ТСХ

Проблема: необходимо расширение спектра обучающих семинаров + практических заданий с использованием тестовых образцов для различных тестов/методов анализа.

Валидация аналитических методик

Из документа ICH (Analytical Validation Q2): «Данные, полученные при изучении линейности, могут быть сами по себе полезны для получения математической оценки степени линейности»

???

Вывод: при отсутствии критериев валидация превращается в формальное выполнения объема эксперимента (при этом качество полученных результаты не важно)

Фармакопея США: методику можно валидировать путем сравнения с фармакопейной методикой. При этом метрологические характеристики должны быть не хуже или несущественно хуже, чем у фармакопейной методики.

Что такое «не хуже»? «Несущественно хуже»?

Подход ГФУ: Для всех валидационных характеристик дается количественная оценка. Эта оценка увязана с требованиями к максимально допустимой **неопределенностью** результатов анализа, т.е. с предназначением фармацевтического испытания.

Данный подход нашел очень широкое применение в Украине, а в последнее время – и в странах СНГ. (В России утвержден аналогичный документ – доступен в Интернете: «Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. (методические рекомендации)»)

В процессе валидации нет необходимости сравнивать методики, поскольку ясно определены критерии приемлемости методики!

Проблемы валидации:

- *Стандартизованная процедура и критерии*, основывающиеся на предназначении испытания и требованиях к неопределенности, описаны для основных фармацевтических испытаний и **методов** анализа.

Для многих фармакопейных методов критерии и процедура проведения валидации еще не разработаны.

Связанные с валидацией процессы:

Верификация должна подтвердить **на основании экспериментальных данных**, что лаборатория в состоянии корректно воспроизвести фармакопейную методику (т.е., для конкретного аналитического оборудования, для данных используемых реактивов, в данных условиях окружающей среды, при выполнении анализа аналитиками данной лаборатории и т.п.).

Перенесение методики. Если методику валидировали в другой лаборатории (исследовательская лаборатория фармпредприятия или внешняя контрактная лаборатория), необходимо экспериментально доказать, что данная методика будет обеспечивать приемлемое значение неопределенности при рутинном анализе (т.е. в лаборатории ОТК).

Проблема: Отсутствуют научно обоснованные критерии и схема проведения верификации/перенесения методики, увязанные с предназначением испытания и требованиями к неопределенности результатов.

Проверка пригодности аналитической системы

Это демонстрация соответствия аналитической системы требованиям к пригодности на протяжении всего анализа. Совпадает с элементом Квалификации оборудования - Квалификация эксплуатационных характеристик или эксплуатационных качеств (Performance Qualification, PQ) - тестирование во время использования.

Проблема: проводится формально. Тесты и критерии не увязаны с предназначением испытания и требованиям к неопределенности.

Хроматографические методы: для верификации методики достаточно выполнения требований к Пригодности системы – это говорит об огромной важности корректной разработки данного теста.

Пример: Заниженное число теоретических тарелок. Поскольку имеется рекомендация в документе FDA («Рекомендации для рецензента хроматографических методик»), что эффективность должна быть не менее 2000 т.т., то такое требование и вносится в документацию. Практический случай: при использовании колонок с фактической эффективностью около 2000 производитель не видел завышения содержания примесей, а при использовании колонки с эффективностью около 10000 т.т. препарат браковался.

Другая проблема – выбор критической пары пиков, стандартизация по которой обеспечивает воспроизводимость методики на другой колонке.

Другие методы –раздел Пригодность аналитической системы вообще отсутствует.

Программы профессионального тестирования лабораторий (ППТ)

Предназначение программ тестирования лабораторий – выявить проблемы, которые не могут быть «распознаны» лабораторией.

Формальное требование: Участие в ППТ **желательно** для аккредитации лаборатории для независимого подтверждения ее компетентности

Проблема при отсутствии критериев: статистические приемы (Z-индекс) позволяют классифицировать результаты участников на «лучшие» и «худшие».

НО: непонятно, насколько плохи «худшие» результаты. Лаборатория может работать в полном соответствии со всеми стандартами, но при этом попасть в градацию «худших». Поэтому на основании только статистической классификации нельзя даже рекомендовать «худшим» лабораториям проводить корректирующие действия!

Использование концепции неопределенности: Если результаты участника отклоняется от аттестованного значения более, чем на максимально допустимую неопределенность результата анализа, то результат **неудовлетворительный**. В данном случае **однозначно необходимо проведение в лаборатории корректирующих действий**.

Данный подход в Украине используется начиная с 3-го раунда ППТ (уже 8 лет).

Внутрилабораторные процедуры контроля качества результатов анализа

Предназначение: для подтверждения того, что источники неопределенности, которые контролируются другими процедурами (квалификация оборудования, верификация посуды, обучение аналитика и т.д.), соответствуют установленным критериям.

Контроль сходимости: контролируется **практически всегда**. Когда все другие источники неопределенности известны и контролируются (другими элементами метрологического контроля!), то сходимость непосредственно характеризует неопределенность результата анализа.

Контроль правильности: где есть необходимость – включается непосредственно в методику (испытуемый раствор с добавкой, модельный раствор или раствор СО).

Контроль других метрологических характеристик – включается обоснованно.

Проблема: такие процедуры в лабораториях не проводятся.

Следствие: при аккредитации типичное замечание к лаборатории – неопределенность при рутинном не контролируется! Требование контролера – выполнять анализ с использованием двух параллельных растворов (т.е. объем анализа увеличивается вдвое, анализ выполняется с отступлением от нормативной документации)!

Документы USP и FDA – выполнение одного анализа допустимо, **если в лаборатории выполняются процедуры контроля качества результатов анализа**

Предлагаемое дополнение в общую статью ГФУ «Валидация аналитических методик и испытаний»:

«Качество результата анализа (приемлемое значение неопределенности) обеспечивает наличие в лаборатории совокупность следующих процедур (но не исчерпывается ими):

- квалификация аналитического оборудования на соответствие для решаемых задач анализа;
- валидация аналитических методик;
- корректное использование стандартных образцов в соответствии с принципами надлежащей производственной практики (GMP);
- обучение и тестирование персонала;
- проверка пригодности аналитической системы (выполняется при каждом анализе);
- **внутрилабораторный контроль качества результатов анализа (считается достаточным проводить 1 раз на 20 анализов, или с заданной периодичностью – например, 1 раз в 2 месяца);**
- внешний контроль качества результатов анализа (участие лаборатории в Программах профессионального тестирования).

Предназначение внутрилабораторного контроля качества - подтвердить, что при выполнении рутинного (серийного) анализа источники неопределенности, которые контролируются другими процедурами, соответствуют установленным критериям. Внутрилабораторный контроль качества результатов анализа проводится для каждого вида серийного анализа и может включать в себя:

- Выполнение холостых опытов/образцов плацебо;
- Анализ образцов добавок к матрице;
- Анализ образцов - дубликатов или образцов - дубликатов добавок к матрице;
- Анализ образцов контроля качества / стандартных образцов с установленными характеристиками. Проверяется отличие найденного значения от установленного значения характеристики.

Критерии приемлемости результатов внутрилабораторного контроля и используемые процедуры **должны быть обоснованы.**

Необходимость усреднения результатов анализа (параллельных измерений или результатов полного анализа) определяется требованиями к максимально допустимой неопределенности результата анализа и его вариабельностью при рутинном выполнении анализа. При реализации в лаборатории всех процедур, контролирующих неопределенность результата анализа, и при выполнении анализ (начиная с отбора представительной пробы) в соответствии с валидированным и хорошо документированным процессом, **единичный анализ является приемлемым.»**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

В Украине в сфере фармации создана метрологическая система, позволяющая увязать в единое целое требования:

- К критериям приемлемости результатов анализа
- К методикам анализа при их рутинном выполнении
- К процедуре разработки методик (валидации)
- К стандартным образцам, используемым для анализа лекарственных средств/обеспечения качества лекарственных средств
- К аналитическому оборудованию, используемому для анализа лекарственных средств
- К внешней оценке качества работы лаборатории (программы профессионального тестирования лабораторий)

Это позволило:

- Создать современную систему фармацевтических стандартных образцов (впервые в СНГ)
- Создать систему профессионального тестирования лабораторий (впервые в СНГ)
- Обеспечить современный уровень контроля качества лекарственных средств в Украине

**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!**