



Klub Polskich  
Laboratoriów  
Badawczych  
**POLLAB**

# XIX Sympozjum

Zarządzanie  
wynikami pomiarów  
w laboratorium  
badawczym  
i wzorcującym

Kołobrzeg / Kudowa Zdrój, 2013 r.





Klub Polskich  
Laboratoriów  
Badawczych  
**POLLAB**

# **XIX Sympozjum**

**Zarządzanie  
wynikami pomiarów  
w laboratorium badawczym  
i wzorcującym**

**Kołobrzeg / Kudowa Zdrój, 2013 r.**

**Informacje o wydaniu**

Symposium Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB  
o charakterze szkoleniowym

Materiały szkoleniowe – wydanie 1

Praca zbiorowa pod redakcją: Krystyny Krzyśko – Prezesa Klubu POLLAB

Wydrukowano z materiałów dostarczonych przez autorów

Nakład 600 egz.

**Wydawca:**

Klub Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB

ul. Kłobucka 23A

02-699 Warszawa

[www.pollab.pl](http://www.pollab.pl)

**Projekt okładki, skład i druk:**

Wydawnictwo MALAMUT

ul. Królowej Marysienki 9/6a, 02-954 Warszawa

[www.malamut.pl](http://www.malamut.pl)

ISBN 978-83-923010-6-6

Warszawa, 2013

# Szanowni Państwo!

Zarząd Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB, analizując problemy i zapytania zgłaszane przez Członków Klubu, zdecydował się na przybliżenie tematyki zarządzania wynikami pomiarów w laboratorium badawczym i wzorcującym na tegorocznym sympozjum Klubu POLLAB. Mając na uwadze konieczność zbliżania polskich laboratoriów do wymagań stawianych na świecie, Zarząd Klubu POLLAB przedłożył wszelkich starań aby umożliwić potwierdzenie kompetencji naszych laboratoriów do badań, których owocem będą jedynie wiarygodne, rzetelne i użyteczne wyniki.

Celem XIX Sympozjum Klubu POLLAB jest wymiana doświadczeń i dobrych praktyk z zakresu zarządzania wynikami pomiarów w laboratoriach. Osiągnięcie postawionego celu będzie możliwe za sprawą znakomitych referatów naszych prelegentów, wśród których znajdują się przedstawiciele Polskiego Centrum Akredytacji, Głównego Urzędu Miar, profesorzy wyższych uczelni oraz praktycy akredytowanych organizacji, członków Klubu POLLAB.

W imieniu Zarządu Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB wyrażam podziękowanie wszystkim Autorom referatów za ich przygotowanie na wysokim poziomie merytorycznym.

Wszystkim uczestnikom sympozjum życzę satysfakcji oraz korzyści z udziału w naszym sympozjum. Wyrażam przekonanie, że zdobyta wiedza i wymiana doświadczeń przyczynią się do pokonywania trudności z którymi spotykają się Państwo w swojej działalności badawczej, podczas pracy w laboratoriach, czy innych instytucjach.

Życzę Państwu owocnej lektury „Zarządzania wynikami pomiarów w laboratorium badawczym i wzorcującym”, a także mam nadzieję, że doskonała atmosfera integracyjna XIX Sympozjum będzie kolejną okazją do odnowienia kontaktów, nawiązania nowych oraz wymiany posiadanych doświadczeń.

Krystyna Krzyśko  
Prezes Klubu POLLAB



# Spis treści

<b>1. Zewnętrzna kontrola jakości: ocena kompetencji na podstawie wyników PT/ILC, kryteria akceptacji, działania korygujące i zapobiegawcze</b> – <i>Ewa Bułska</i> .....	1
<b>2. Strategia wewnętrznej kontroli jakości: monitorowanie wyników, częstotliwość i kryteria akceptacji</b> – <i>Piotr Paślawski</i> .....	9
<b>3. Ocena jakości wyników w kontekście budżetu niepewności</b> – <i>Piotr Konieczka</i> .....	13
<b>4. Ocena i wykorzystanie informacji (wyników wzorcowań) podanych w świadectwach wzorcowania / świadectwach materiałów odniesienia</b> – <i>Robert Rzepakowski, Jolanta Wasilewska</i> .....	17
<b>5. Wyniki pomiarów w procesie walidacji i rewalidacji procedury pomiarowej</b> – <i>Piotr Paślawski</i> .....	27
<b>6. Kierowanie badaniami w systemie Dobrej Praktyki Laboratoryjnej</b> – <i>Ewa Sabura, Renata Kulesza</i> .....	31
<b>7. Kontrola wewnętrzna w laboratorium mikrobiologicznym</b> – aktualne wymagania na podstawie warsztatów Eurachem (Berlin 2012) – <i>Barbara Sokołowska</i> .....	39
<b>8. Kryteria wykorzystania wyników badań PT/ILC do oceny obciążenia metody, szacowania niepewności i interpretacji wyników</b> – <i>Waldemar Korol, Grażyna Bielecka, Jolanta Rubaj</i> .....	47
<b>9. Zarządzanie ryzykiem w laboratorium – ryzyko w organizacji i jego konsekwencje</b> – <i>Ewa Brykańska</i> .....	55
<b>10. Dokładność i niepewność przedstawianych wyników a ocena zgodności na przykładzie badań wyrobów budowlanych</b> – <i>Małgorzata Niziurska</i> .....	65
<b>11. Wpływ przygotowania próbek betonu na placu budowy na otrzymywane wyniki wytrzymałości na ściskanie</b> – <i>Marzena Najduchowska</i> .....	71
<b>12. Wyniki badań genetycznych – analiza statystyczna i sprawozdanie z badań</b> – <i>Żanetta Makowska</i> .....	81
<b>13. Profilowanie jako sposób grupowania i ustalania podobieństwa pomiędzy wynikami pomiarów analitycznych na przykładzie badań siarczanu amfetaminy</b> – <i>Wiktor Dmitruk, Jowita Polak</i> .....	87
<b>14. Zarządzanie wynikami pomiarów właściwości fizyko-mechanicznych w kontekście zróżnicowanej metodyki pomiarowej</b> – <i>Izabela Jasińska, Beata Witkowska</i> .....	95



## Zewnętrzna kontrola jakości: ocena kompetencji na podstawie wyników PT/ILC, kryteria akceptacji, działania korygujące i zapobiegawcze

*Raport z porównań międzylaboratoryjnych jest zawsze cennym źródłem informacji na temat jakości wyników. Laboratorium może uzyskać potwierdzenie swoich kompetencji lub wskazanie do podjęcia działań korygujących w odniesieniu do kompetencji technicznych. Bez względu na ocenę wyników uczestników za pomocą zastosowanego wskaźnika, laboratorium powinno wykorzystać również pozostałe informacje zawarte w raporcie do wspomaganie walidacji, do oceny obciążenia danej procedury pomiarowej, do określenia przedziałów decyzyjnych w karatach kontrolnych oraz do oszacowania niepewności.*

### 1. WPROWADZENIE

#### 1.1 Zapewnienie jakości wyników

**Jakość to jest ogół cech i charakterystyk produktu lub usługi, warunkujący fakt, że spełniają one określone i oczekiwane wymagania**

Działania systemowe związane ze sterowaniem jakością wyników obejmują dwa podstawowe obszary. Zapewnienie jakości (QA; ang. *Quality Assurance*) obejmuje działania organizacyjne i techniczne, uwzględniające charakter prowadzonej przez laboratorium działalności. Sterowanie jakością (QC; ang. *Quality Control*) to proces systematycznego sprawdzania wybranych parametrów procedury pomiarowej. Wymagania odnośnie zapewnienia jakości wyników badań i wzorcowań są opisane jednoznacznie w punkcie 5.9 normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005.

Zapewnienie jakości (QA) obejmuje również cały zestaw działań technicznych, skrojonych na miarę prowadzonych pomiarów, między innymi:

- stosowanie zwalidowanych procedur pomiarowych;
- prawidłowy nadzór nad wyposażeniem, w tym wzorcowanie/kalibracja tych urządzeń pomiarowych, które wpływają na wynik pomiaru;
- odpowiednie przechowywanie próbek oraz właściwe procedury przygotowania badanych obiektów, łącznie z procesem pobierania kilku równoległych porcji tej samej próbki;
- dbanie o właściwe warunki środowiskowe w laboratorium (np. temperatura, wilgotność).

Niezmiernie ważnym aspektem sterowania jakością (QC) jest natomiast wybór odpowiednich wskaźników oraz określenie wymagań odnośnie ich wartości i odnośnie częstotliwości ich sprawdzania.

#### 1.2 Sterowanie jakością wyników

W laboratorium, w którym określone zostały szczegółowo specyficzne wymagania odnośnie zapewnienia jakości wyników konieczne jest stosowanie systematycznej oceny skuteczności tych działań. Sposobem

na to jest proces w którym wybrane parametry procedury pomiarowej są sprawdzane z odpowiednią częstotliwością, a ich wartości są na bieżąco porównywane z wcześniej określonymi wymaganiami.

*System kontroli jakości jest sposobem wczesnego ostrzegania o możliwości popełnienia błędu, a tym samym sposobem ograniczającym ryzyko przekazania do klienta błędnego wyniku (dotyczy konkretnego wyniku)*

## 2. WSKAŹNIKI JAKOŚCI

Zakres nadzoru nad jakością wyników, czyli rodzaj parametrów, które są uwzględniane jako wskaźniki jakości oraz częstotliwość ich sprawdzania, powinien być dobrany przede wszystkim odpowiednio do rodzaju i liczby wykonywanych badań. Podstawą jest oczywiście odpowiedni wybór rodzaju próbki i poddanie jej stosowanej procedurze pomiarowej. Uzyskane wyniki pomiarów powinny być na bieżąco zapisywane tak, aby możliwe było śledzenie kierunków zmian. Sposób i częstotliwość prowadzenia nadzoru powinien być wcześniej zaplanowany, a do oceny wyników powinny być stosowane odpowiednie techniki statystyczne.

***Sterowanie jakością (QC) może odbywać się na dwóch płaszczyznach: jako wewnętrzne i jako zewnętrzne sterowanie jakością.***

Zarówno w przypadku kontroli wewnętrznej jak i zewnętrznej, próbki mogą być przekazywane pracownikom w sposób jawny, co oznacza, że pracownik ma świadomość, które próbki są próbkami kontrolnymi lub w sposób niejawny, co oznacza, że pracownik nie wie, które próbki w danej serii pomiarowej są próbkami kontrolnymi.

### 2.1 Wewnętrzne sterowanie jakością wyników

Wewnętrzne sterowanie jakością obejmuje ocenę wyników uzyskanych w laboratorium w trakcie prowadzenia pomiarów, w których oprócz próbek laboratoryjnych badane są również próbki przeznaczone do kontroli jakości (np. próbki ślepe; kontrolne; wzorce). Wygodne jest w tym przypadku nanoszenie wyników pomiarów bezpośrednio na karty kontrolne, gdyż umożliwia to wizualne śledzenie ewentualnych zmian (tendencji) i/lub natychmiastowe potwierdzenie, że wartość danej właściwości utrzymuje się w założonych wcześniej granicach. Monitorowanie jakości wyników prowadzi się za pomocą wskaźników, na przykład:

- obciążenia metody (odzysk);
- precyzji pomiarów (odchylenie standardowe);
- rozstępu (różnica między wynikami otrzymanymi dla dwóch porcji tego samego materiału);
- zanieczyszczenia układu pomiarowego i/lub odczytników (wartość ślepej próby)

### 2.2 Zewnętrzne sterowanie jakością wyników

Zewnętrzne sterowanie jakością to przede wszystkim udział laboratorium w porównaniach międzylaboratoryjnych. W tym przypadku laboratorium otrzymuje próbkę o nieznannej wartości danej właściwości (np. stężenie substancji i/lub jej identyfikacja), prowadzi badanie, wysyła wyniki do organizatora i jest oceniane na podstawie stopnia zgodności otrzymanego wyniku z wartością odniesienia przyjętą przez organizatorów.

*Karty kontrolne, z naniesionymi wynikami pomiarów, są cennym źródłem informacji o prawidłowości lub nieprawidłowości wyników pomiarów; umożliwiają śledzenie stabilności i trendów.*

O ile laboratorium regularnie bierze udział w porównaniach międzylaboratoryjnych, możliwe jest również stosowanie kart kontrolnych do śledzenia trendów. Monitorowanie jakości wyników prowadzi się na podstawie wartości wskaźników porównań, na przykład **z**, **z'**, **zeta** lub **En**.

### 2.3 Porównania międzylaboratoryjne

**Udział w porównaniach międzylaboratoryjnych pozwala na wykazanie kompetencji laboratorium w zakresie prowadzonych badań, wspomaga proces walidacji stosowanych procedur pomiarowych, umożliwia porównanie wyników uzyskanych w różnych laboratoriach oraz za pomocą różnych procedur analitycznych, jak również w określonych warunkach umożliwia zapewnienie spójności pomiarowej.**

Niezmiernie ważnym elementem pracy laboratoriów badawczych i wzorcujących jest systematyczny udział w porównaniach międzylaboratoryjnych/badaniach biegłości prowadzonych przez niezależnych organizatorów. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie obiektywnych dowodów dotyczących funkcjonowania laboratorium i uzyskiwanej jakości wyników.

Porównanie międzylaboratoryjne (ILC, ang. *Interlaboratory Comparison*) – zorganizowanie, wykonanie i ocena wzorcowań / badań tego samego lub podobnych obiektów wzorcowań / badań, przez co najmniej dwa laboratoria, zgodnie z uprzednio ustalonymi warunkami.

Badanie biegłości (PT, ang. *Proficiency Testing*) – określenie, za pomocą porównań międzylaboratoryjnych, zdolności laboratorium do przeprowadzania wzorcowań lub badań.

Wyniki porównań międzylaboratoryjnych są zawsze cennym źródłem informacji dla laboratoriów biorących w nich udział, gdyż pozwalają na uzyskanie jednoznacznej odpowiedzi na temat jakości otrzymywanych wyników. W zależności od uzyskanych wyników, udział w porównaniach międzylaboratoryjnych może być argumentem potwierdzającym wysokie kompetencje laboratorium w zakresie danych oznaczeń, lub o ile jest to konieczne, może być narzędziem ułatwiającym krytyczną analizę ewentualnych problemów. Udział danego laboratorium w porównaniach międzylaboratoryjnych może być bądź dobrowolny, bądź może być wymuszony przez określone wymagania (prawne, akredytacyjne i/lub klientów laboratorium). We wszystkich przypadkach, gdy wynik jest niezadowolający, laboratorium powinno zastanowić się nad przyczyną otrzymywania odbiegających wyników. Powodem może być wpływ systematyczny, nieuwzględniony w formie poprawki (na przykład niecałkowity odzysk w czasie ekstrakcji) lub to, iż niepewność wyniku nie została właściwie oszacowana. W związku z tym udział w porównaniach międzylaboratoryjnych powinien być traktowany jako skuteczne i niezbędne narzędzie pozwalające na identyfikację istniejących zagrożeń potencjalnie wpływających na wynik prowadzonych oznaczeń. Krytyczna ocena wyników porównań międzylaboratoryjnych umożliwia podjęcie odpowiednich decyzji odnośnie koniecznych działań korygujących.

W porównaniach międzylaboratoryjnych organizatorzy podają wartość odniesienia uzyskaną w różny sposób: (I) wyznaczoną za pomocą metody referencyjnej; (II) jako wartość średnią z wyników uzyska-

nych przez wybraną grupę laboratoriów eksperckich; (III) jako wartość średnią wyników wszystkich uczestników porównania.

Po zakończeniu porównań oczekuje się, że organizatorzy przedstawią raport końcowy zawierający dyskusję otrzymanych wyników. Pożądane jest aby raport zawierała wyniki wszystkich laboratoriów z uwzględnieniem otrzymanych wyników z przypisaną im niepewnością, oczywiście z zachowaniem poufności odnośnie identyfikacji uczestników. Oczekuje się, że organizatorzy podadzą wartość odniesienia w miarę możliwości z jak najmniejszą wartością niepewności. Oczekuje się, że laboratoria podają wraz z przesądnymi wynikami również ich niepewność wyznaczoną zgodnie z zasadami opisanymi w przewodniku ISO-GUM lub zgodnie z zasadami omówionymi w odpowiednich dokumentach EA lub EURAMET.

## 2.4 Ocena wyników udziału laboratorium w porównaniach międzylaboratoryjnych

Laboratoria badawcze i wzorcujące powinny zabiegać o jak najczęstszy udział w różnorodnych porównaniach międzylaboratoryjnych, przede wszystkim z tego względu, iż jest to niezmiernie ważne narzędzie w obszarze sterowania jakością wyników, a uzyskane informacje są podstawą oceny wiarygodności stosowanych procedur pomiarowych. W każdym porównaniu podstawowym zadaniem laboratorium jest wykonanie oznaczeń dla dostarczonego przez organizatorów obiektu (próbki), w warunkach identycznych z codzienną praktyką postępowania w danym laboratorium. Uzyskane w laboratorium wyniki są następnie porównywane z przyjętą przez organizatora wartością odniesienia, a ocena kompetencji laboratorium obejmuje dodatkowo stosowanie wskaźników klasyfikujących dany wynik w stosunku do wartości odniesienia. W przypadku uzyskania wyników spełniających określone kryteria, laboratorium potwierdza swoje kompetencje w zakresie prowadzonych pomiarów. W przypadku uzyskania wyników odbiegających, laboratorium powinno przeprowadzić szczegółową analizę stosowanej procedury pomiarowej, gdyż udział w porównaniach powinien być traktowany jako narzędzie wspomagające proces rozwoju systemu zarządzania.

Głównym celem porównania wyniku uzyskanego przez dane laboratorium ( $x_{lab}$ ) z wartością odniesienia ( $X_{odn}$ ) jest ocena, w jakim stopniu uzyskany wynik spełnia wymagania w odniesieniu do przyjętych kryteriów. Kryteria oceny uzyskanych wyników w danym programie porównań powinny być określone i jednoznacznie przedstawione uczestnikom przez organizatora. Dzięki temu laboratorium może krytycznie ocenić stosowane przez organizatorów porównań narzędzia statystyczne służące do odrzucania wartości skrajnych, do ustalania wartości odniesienia oraz do ustalania kryteriów oceny. Wszystkie te informacje powinny być zamieszczone w raporcie, łącznie z wynikami uczestniczących laboratoriów. Te informacje są niezbędne do krytycznej oceny uzyskanych wyników oraz w razie potrzeby do zastosowania własnych kryteriów, wynikających z wymagań legislacyjnych lub z ustaleń z klientem. Jest to niezmiernie ważne w świetle wymagań Polskiego Centrum Akredytacji, określonych w dokumencie DA-05 „Polityka Polskiego Centrum Akredytacji dotycząca wykorzystywania badań biegłości/porównań międzylaboratoryjnych w procesach akredytacji i nadzoru laboratoriów”, gdzie podkreślona jest konieczność analizowania przez laboratorium wyników porównań (ILC/PT), szczególnie tych wątpliwych i niezadowolających. Stąd pojawia się pytanie, jaki wynik należy zakwalifikować jako wątpliwy czy niezadowolający oraz czy kryteria stosowane przez organizatorów zawsze spełniają wymagania jakości określone przez laboratorium?

### 2.4.1 Ocena wyników laboratorium względem wartości odniesienia

Ocena kompetencji laboratorium na podstawie udziału w danym porównaniu jest prowadzona na podstawie wartości **wskaźników klasyfikujących**, co jest jednocześnie sposobem na porównanie poda-

nych przez uczestników wyników względem przyjętej wartości odniesienia, w odniesieniu do ustalonych przez organizatora kryteriów. Jak wynika z przeglądu różnych raportów oraz literatury, w praktyce stosowane są różne kryteria, a w konsekwencji różne wskaźniki klasyfikujące. W każdym jednak przypadku wskaźnik klasyfikujący jest wyrażeniem ułamkowym, a podstawowym i wspólnym elementem jest zapisywana w mianowniku różnica pomiędzy wynikiem uzyskanym w danym laboratorium ( $x_{lab}$ ) a wartością odniesienia ( $X_{odn}$ ) podaną przez organizatorów.

$$\Delta = x_{lab} - X_{odn}$$

Gdzie:

$x_{lab}$  – wynik podany przez laboratorium;  $X_{odn}$  – wartość odniesienia podana przez organizatorów ILC. Następnie wyznaczoną różnicę odnosi się względem klasyfikatora, czyli względem wartości zapisywanej w mianowniku. Najczęściej stosowanym i powszechnie akceptowanym kryterium jest wskaźnik  $z$  (ang. *z-score*). Warto jednak podkreślić, że wraz z rozpowszechnieniem porównań (ILC/PT) wprowadzane są również inne kryteria oceny.

W celu uporządkowania różnych informacji warto prześledzić polecane w różnych dokumentach wskaźniki.

### **Różnica procentowa**

Najczęściej stosowanym matematycznym sposobem porównania dwóch wartości liczbowych jest wyznaczenia różnicy procentowej

$$D\% = \frac{(x_{lab} - X_{odn})}{X_{odn}} \times 100\%$$

gdzie:  $D\%$  – różnica wyrażona w procentach;  $x_{lab}$  – wynik podany przez laboratorium;  $X_{odn}$  – wartość odniesienia

Kryterium oceny jest ustalane przez organizatorów, na przykład można przyjąć, że wartości zadowolające spełniają kryterium  $D\% \leq 20\%$ .

### **Wskaźnik z**

W przypadku stosowania wskaźnika  $z$  stosuje się następujące równanie:

$$z = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sigma_p}$$

gdzie:  $\sigma_p$  oznacza najczęściej wartość odchylenia standardowego dla wyników uzyskanych od uczestniczących laboratoriów lub przyjętą przez organizatorów wartość dla danego porównania (wynikająca na przykład z wymagań prawnych dla danych badań).

W tym przypadku kryterium oceny jest zgodne z powszechnie przyjętymi i podanymi poniżej zakresami:

$ z  \leq 2$	wynik zadowolający
$2 <  z  \leq 3$	wynik wątpliwy
$ z  > 3$	wynik niezadowolający

W niektórych przypadkach organizatorzy zamiast wartości odchylenia standardowego wszystkich wyników podanych przez uczestniczące laboratoria, stosują arbitralnie przyjętą wartość wynikającą z wyma-

gań prawnych dla danych oznaczeń, na przykład  $\sigma_p$  może odpowiadać 0,2 wartości odniesienia  $X_{odn}$ . W takim przypadku stosowane równanie przyjmuje postać:

$$z = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{0,2X_{odn}}$$

Warto podkreślić, że zastosowany zabieg pozwala na rzeczywistą ocenę kompetencji laboratorium względem wymagań prawnych przyjętych w danym obszarze.

### Wskaźnik $z'$

W równaniu opisującym wskaźnik  $z$  nie jest uwzględniona niepewność wartości odniesienia. W sytuacji, kiedy jest to możliwe poleca się stosowanie wskaźnika  $z'$ , gdzie w równaniu uwzględniono w mianowniku zarówno wartość odchylenia standardowego przyjętego dla danego porównania (tak jak dla wskaźnika  $z$ ), jak i niepewność standardową wartości odniesienia.

$$z' = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{\sigma_p^2 + u_x^2}}$$

Gdzie  $u_x$  oznacza wartość niepewności standardowej dla wartości odniesienia.

Kryterium oceny wyniku przy stosowaniu wskaźnika  $z'$  jest takie samo jak w przypadku wskaźnika  $z$ :

$ z'  \leq 2$	wynik zadowalający
$2 <  z'  \leq 3$	wynik wątpliwy
$ z'  > 3$	wynik niezadowalający

### Wskaźnik zeta

Kolejną modyfikacją wskaźnika  $z$  jest wskaźnik **zeta**, w którym uwzględniona została niepewność standardowa złożona wyniku podanego przez laboratorium, co nie było uwzględniane we wcześniej omawianych wskaźnikach. Oczywiście stosowanie tego wskaźnika jest możliwe jedynie w przypadku, gdy laboratorium podaje wynik z przypisaną niepewnością. Warto podkreślić, że coraz częściej organizatorzy porównań proszą o podawanie wyniku łącznie z niepewnością, co wynika również z wymagań normy ISO/IEC 17025:2005.

$$zeta = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{u_x^2 + u_X^2}}$$

Kryterium oceny jest identyczne z podanym, wcześniej kryterium dla wskaźników  $z$  i  $z'$ .

*Wskaźnik zeta może być stosowany zamiast wskaźnika  $z$  w tych przypadkach, gdy laboratorium podaje wyniki z oszacowaną niepewnością.*

### Wskaźnik $E_N$

Kolejnym kryterium oceny, coraz częściej stosowanym przez organizatorów porównań, jest wskaźnik  $E_N$ , nazywany też błędem znormalizowanym.

$$E_n = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{U_x^2 + U_X^2}}$$

gdzie:  $U_x$  oraz  $U_X$  to wartości niepewności rozszerzonej (dla  $k = 2$ ) odpowiednio wyniku podanego przez laboratorium i wartości odniesienia.

Warto zwrócić uwagę, że podstawową różnicą między wskaźnikiem  $E_n$  w stosunku do wskaźnika **zeta** jest to, że w przypadku wskaźnika  $E_n$  w mianowniku zamieszczone są wartości niepewności rozszerzonej, stąd wynika zmiana wartości liczbowych kryterium oceny.

Wskaźnik jest stosowany powszechnie do oceny kompetencji laboratoriów wzorcujących w porównaniach dwustronnych, gdzie porównuje się wyniki danego laboratorium z wynikami laboratorium odniesienia, o wyższych kompetencjach metrologicznych.

$ E_n  \leq 1$	wynik zadowalający
$ E_n  > 1$	wynik niezadowalający

Przedstawione powyżej omówienie najważniejszych wskaźników stosowanych przez organizatorów porównań (ILC/PT) do oceny wyników wskazuje, że wynik oceny może zależeć od zastosowanego kryterium. Stąd niezmiernie ważnym elementem raportów przygotowywanych przez organizatorów powinno być jednoznaczne opisanie stosowanych wskaźników, łącznie z podaniem wartości. Z drugiej strony laboratorium oceniając swój udział w danym porównaniu powinno we własnym zakresie krytycznie ocenić, na ile zastosowane kryterium odpowiada przyjętym wymaganiom odnośnie jakości wyników oraz w razie potrzeby wykorzystać zamieszczone w raporcie dane do zastosowania własnych kryteriów.

### **Wskaźniki oceny laboratoriów uczestniczących w porównaniach międzylaboratoryjnych**

$$z = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sigma_p} \quad zeta = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{u_x^2 + u_X^2}} \quad z' = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{\sigma_p^2 + u_X^2}} \quad E_n = \frac{x_{lab} - X_{odn}}{\sqrt{U_x^2 + U_X^2}}$$

## **3. DZIAŁANIA KORYGUJĄCE I ZAPOBIEGAWCZE**

### **3.1 Działania korygujące**

Najważniejszym etapem oceny raportu porównań międzylaboratoryjnych jest stwierdzenie, czy laboratorium spełnia kryteria ustalone przez organizatora. W tym celu laboratorium porównuje uzyskaną wartość wskaźnika względem przyjętych kryteriów. Uzyskanie oceny zadowalającej stanowi potwierdzenie kompetencji laboratorium w zakresie badań, będących przedmiotem porównań. Uzyskanie oceny niezadowalającej stanowi ważny sygnał, wskazujący na konieczność przeprowadzenia działań korygujących. Działania te wymagają po pierwsze oceny kryteriów zastosowanych przez organizatora. W przypadku, gdy zastosowane kryteria są zgodne z wymaganiami danego laboratorium, niezadowalająca ocena wymaga podjęcia działań technicznych związanych najczęściej z optymalizacją procedury pomiarowej lub wyborem innych materiałów odniesienia. W przypadku, gdy zastosowane kryteria są bardziej rygorystyczne względem wymagań stosowanych w danym laboratorium, poleca się przeprowadzenie dodatkowych obliczeń, z uwzględnieniem kryteriów stosowanych przez laboratorium.

Takie postępowanie wymaga jednak dobrej znajomości wymagań odnośnie niepewności docelowej, z jaką mogą być podawane wyniki dla klienta. Efektem takich działań korygujących powinien być raport wskazujący jednoznacznie, że uwzględnienie wymagań odnośnie jakości wyników, stosowanych w danym laboratorium pozwala na zadowalającą ocenę wyniku wykorzystywanego w danym porównaniu międzylaboratoryjnym.

W przypadku gdy ocena wyniku względem kryteriów danego laboratorium prowadzi do oceny niezadowalającej, laboratorium jest zobowiązane do podjęcia odpowiednich działań technicznych.

### 3.2 Działania zapobiegawcze

Raport z porównań międzylaboratoryjnych może stanowić świetne źródło informacji odnośnie podejmowania zasadnych działań zapobiegawczych. W przypadkach, kiedy laboratorium uczestniczy systematycznie w takich porównaniach, śledzenie trendów powinno stanowić jedno z najważniejszych źródeł informacji o jakości wyników. Warto również przeprowadzić szczegółową analizę wszystkich danych liczbowych zamieszczonych w raporcie.

Porównanie wyniku laboratorium z wartością odniesienia pozwala na ocenę obciążenia stosowanej w laboratorium procedury pomiarowej. W przypadku, gdy możliwe jest stosowanie różnych technik pomiarowych, a organizator podaje informację, jaka technika była stosowana w poszczególnych laboratoriach możliwe jest ich porównanie.

Porównanie niepewności przypisanej do wyniku z wartościami niepewności podawanymi przez inne laboratoria pozwala na ocenę, czy w budżecie niepewności uwzględnione zostały wszystkie składowe lub czy podawana przez laboratorium niepewność nie jest zbyt duża.

## 4. ZAKOŃCZENIE

W referacie przedstawiono różne kryteria oceny wyników. Zasadna może być wątpliwość, dlaczego organizatorzy nie stosują jednego, powszechnie przyjętego kryterium oceny wyników. Zgodnie z wymaganiami normy ISO/DIS 13528:2005 organizator porównań może wybrać sposób oceny wyników oraz stosowane kryteria (wskaźnik) w zależności od potrzeb danej grupy laboratoriów czy danej branży. W wielu przypadkach powodem wprowadzenia nowych wskaźników była próba uwzględnienia wymagań prawnych, na przykład wymagań opisanych w Dyrektywach Europejskich. Wprowadzenie wskaźników (**zeta**,  $E_n$ ), w których uwzględniona jest niepewność wyniku podana przez laboratorium, pozwoliło na ocenę kompetencji laboratoriów względem oczekiwanego wykorzystywania wyniku, a nie jedynie względem wartości odniesienia.

W przypadku gdy wartość odniesienia jest wyznaczana za pomocą metody definitywnej, na przykład ID-ICPMS (ang. *Isotopic Dilution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*), przypisana do wartości odniesienia niepewność jest bardzo małą. W laboratoriach prowadzących pomiary w obszarze badań środowiskowych zadowalająca jest najczęściej większa niepewność, stąd uznano, że uwzględnienie niepewności podawanej przez laboratorium zapewni bardziej rzetelny sposób oceny.

## Strategia wewnętrznej kontroli jakości: monitorowanie wyników, częstotliwość i kryteria akceptacji

*W referacie omówiono wymagania, które powinny spełniać określone elementy chemicznej analizy laboratoryjnej. Owe elementy dotyczą przede wszystkim: laboratorium i jego zaplecza (pomieszczeń, wyposażenia, ale także określonych wymogów wobec personelu), stosowanych metod analitycznych, monitorowania wyników oraz kontroli jakości.*

### 1. STRATEGIA WEWNĘTRZNEJ KONTROLI JAKOŚCI

Aby prawidłowo prowadzić analizy chemiczne w laboratorium trzeba zapanować nad krytycznymi elementami chemicznej analizy laboratoryjnej. Elementy te muszą spełniać określone wymagania i podlegać stałej kontroli [1].

#### 1.1 Personel laboratorium musi spełniać następujące wymagania:

- analityk nadzorujący badania – głównie po studiach chemicznych lub o podobnym wykształceniu z minimum rocznym doświadczeniem w nadzorowanych badaniach oraz znajomością podstaw zapewnienia jakości,
- analityk laboratoryjny – głównie po studiach chemicznych lub o podobnym wykształceniu z minimum rocznym doświadczeniem w wykonywanych badaniach. Powinien przejść szkolenie w obsłudze wyposażenia oraz odbyć staż pod nadzorem doświadczonego analityka,
- technik laboratoryjny – posiadający dyplom technikum chemicznego. Powinien przejść 6 miesięczne szkolenie pod nadzorem doświadczonego analityka zakończone sprawdzianem. Przed rozpoczęciem pracy powinien przejść szkolenie w zakresie podstaw kontroli jakości badań,
- personel pobierający próbki – powinien przejść szkolenie specjalistyczne w technikach pobierania wszystkich rodzajów pobieranych przez laboratorium próbek pod nadzorem doświadczonego próbkobiorcy.

Cały personel powinien znać dokumenty systemu jakości.

#### 1.2 Pomieszczenia laboratoryjne odpowiednie do wykonywanych badań.

#### 1.3 Wyposażenie pomocnicze i pomiarowe regularnie sprawdzane i kalibrowane.

#### 1.4 Podstawy dobrej praktyki laboratoryjnej stosowane przez personel (w tym znajomość postępowania z odczynnikami chemicznymi).

#### 1.5 Czynniki mogące powodować kontaminacje powinny być pod stałym nadzorem:

- woda laboratoryjna,
- przygotowanie naczyń analitycznych,
- monitorowanie warunków środowiskowych.

- 1.6 Bezpieczeństwo pracy w laboratorium powinno być zapewnione.**
- 1.7 Sposoby zapewnienia jakości powinny być znane i stosowane.**
- 1.8 Stosowane metody analityczne powinny być zwalidowane lub zweryfikowane w przypadku metod znormalizowanych.**
- 1.9 Pobieranie próbek, przechowywanie i konserwacja próbek powinno być odpowiednie i nadzorowane:**
- nadzór nad temperaturą przechowywania,
  - nadzór nad czasem przechowywania próbek,
  - nadzór nad pobieraniem i transportem próbek,
  - szkolenie personelu pobierającego próbki i regularna kontrola,
  - odpowiednie raporty z pobierania próbek,
  - techniki przygotowania próbek do badań odpowiednio stosowane.
- 1.10 Zapisy techniczne i raporty z badań prowadzone prawidłowo i nadzorowane przez upoważniony do tego personel.**
- 1.11 Kontrola jakości:**
- dostępność dokumentów zapewnienia jakości,
  - dostępność informacji z kontroli jakości,
  - nadzór nad wagami, wzorcami masy i ważeniem powinien być pod szczególną kontrolą (wzorcowanie, kontrola, zapisy),
  - nadzór nad termometrami (wzorcowanie, sprawdzanie). Termometry elektroniczne kalibrowane minimum raz na kwartał,
  - kalibracja wyposażenia – na początku każdego dnia pracy w zakresie pokrywającym badane analizy (w zakresie 3 lub więcej punktów),
  - kontrola kalibracji – dla pewnych metod kalibrowanie wyposażenia codziennie może być nie praktyczne, w tym przypadku konieczne jest weryfikowanie krzywej kalibracji przy pomocy jednego stężenia wzorca obejmującego wszystkie badane analizy. Weryfikacja kalibracji powinna być prowadzona minimum na początku i końcu serii analitycznej. Wzorzec kontrolny powinien pochodzić od innego producenta lub z innej serii niż wzorzec kalibracyjny,
  - ślepa próba regularnie badana (w każdej serii),
  - ślepa próba z dodatkiem wzorca (na poziomie 10 x granica wykrycia metody),
  - laboratoryjne próbki matrycowe z dodatkiem wzorca (najlepiej na poziomie stężenia środkowego wzorca kalibracji),
  - karty kontrolne prowadzone dla dokładności i precyzji (z ustalonymi granicami kontrolnymi po zebraniu minimum 20–30 wyników),
  - wstępna sprawdzenie możliwości metody (precyzja i dokładność oraz granica wykrywalności metody na poziomie ufności 99%),
  - dolna granica oznaczalności (dolna granica podawania wyników).

**Tabela 1.** Rodzaj informacji używanej do oszacowania elementów kontroli jakości

Elementy kontroli jakości	Pomiary laboratoryjne	Pomiary polowe
Precyzja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laboratoryjna próbka kontrolna</li> <li>• Powtórzona próbka kontrolna</li> <li>• Podwójne próbki z dodatkiem wzorca</li> <li>• Ocena tendencji danych historycznych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Próbka pobrana podwójnie</li> <li>• Próbka podwójna z dodatkiem wzorca</li> <li>• Odpowiednia procedura pobrania próbek</li> </ul>

Elementy kontroli jakości	Pomiary laboratoryjne	Pomiary polowe
Dokładność	<ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratoryjna próbka kontrolna</li> <li>Podwójne próbki z dodatkiem wzorca</li> <li>Dodatek standardu wewnętrznego do próbek</li> <li>Sztuczny dodatek kontroli odzysku (organika)</li> <li>Kalibracja wstępna wyposażenia</li> <li>Weryfikacja kalibracji</li> <li>Analiza materiałów odniesienia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Podwójne próbki z dodatkiem wzorca</li> <li>Ślepe próby z dodatkiem wzorca</li> <li>Odpowiednia procedura pobrania próbek</li> <li>Odpowiednie pojemniki na próbki</li> <li>Odpowiednie utrwalanie próbek</li> <li>Czas przechowywania próbek</li> <li>Ślepe próby polowe i wyposażenia</li> </ul>
Reprezentatywność	<ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratoryjna homogenizacja próbek</li> <li>Odpowiednie pobranie próbki laboratoryjnej</li> <li>Odpowiednie rozcieńczanie próbek</li> <li>Utrwalanie próbek i czas przechowywania</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Odpowiednia procedura pobrania próbek</li> <li>Odpowiednie pojemniki na próbki</li> <li>Odpowiednie utrwalanie próbek</li> <li>Odpowiednia ilość próbki</li> <li>Prawidłowe zapisywanie wyników pomiarów polowych</li> </ul>
Porównywalność	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kalibracja wyposażenia</li> <li>Przebieg realizacji metody badawczej</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Porównanie danych z wcześniejszych pomiarów w tych samych punktach</li> <li>Porównanie danych z podobnych punktów</li> </ul>
Kompletność	<ul style="list-style-type: none"> <li>Procent próbek analizowanych i raportowanych</li> <li>Wszystkie krytyczne próbki raportowane i niezakwalifikowane</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Procent planowanych i pobranych próbek</li> <li>Wszystkie pobrane krytyczne próbki</li> </ul>
Czułość	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ślepe próby metody</li> <li>Ślepe próby instrumentalne</li> <li>Granica raportowania wyników (poziom dolnego wzorca kalibracji)</li> <li>Odpowiednia metoda analityczna</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ślepa próba wyposażenia do pobierania próbek/ślepa próba polowa</li> <li>Odpowiednia objętość próbki lub odpowiednia waga</li> </ul>

**Tabela 2.** Ogólne kryteria akceptacji wyników badań

Elementy kontroli jakości /częstotliwość stosowania	Kryteria akceptacji
<b>Ślepa próba:</b> 1 w serii (1 ÷ 20 próbek)	Poniżej granicy wykrywalności metody: bez korekcji Powyżej granicy wykrywalności metody: korekcja
<b>Próbki podwójne:</b> 1 w serii (1 ÷ 20 próbek)	Oznaczanie składników nieorganicznych: względny rozstęp ≤ 10 % Oznaczenie składników organicznych w wodzie: względny rozstęp ≤ 15 % Oznaczenie składników organicznych w glebie: względny rozstęp ≤ 20 %
<b>Badanie odzysku:</b> 1 w serii (1 ÷ 20 próbek)	Oznaczanie składników nieorganicznych: odzysk ≤ 85 ÷ 115 % Oznaczenie składników organicznych w wodzie: odzysk ≤ 80 ÷ 120 % Oznaczenie składników organicznych w glebie: odzysk ≤ 75 ÷ 125 %

<b>Elementy kontroli jakości /częstotliwość stosowania</b>	<b>Kryteria akceptacji</b>
<b>Kalibracja:</b> przed pomiarem	Liczba wzorców kalibracyjnych: 2–5 wzorców Współczynnik korelacji: 0,99 (dla organiki) i 0,995 (dla nieorganiki)
<b>Sprawdzanie kalibracji:</b> co 10/20 próbek	Bezpośrednio po kalibracji: ≤ 5 % Weryfikacja kalibracji (po 10/20 próbkach): ≤10 %

**LITERATURA:**

- [1] Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water. Criteria and procedures quality assurance. US EPA, 2005. ([www.epa.gov](http://www.epa.gov))

## Ocena jakości wyników w kontekście budżetu niepewności

*Każdy wynik jest konsekwencją przeprowadzonego pomiaru. Nadrzędnym celem wykonującego pomiar jest otrzymanie wyniku jak najbardziej zbliżonego do wartości oczekiwanej (rzeczywistej). Wynik pomiaru nie jest wartością stałą lecz ma pewną wartość nieznaną, która powinna mieścić się w przedziale nazywanym niepewnością. Konsekwencją tego jest konieczność określania wielkości tego przedziału jako wymaganej informacji niezbędnej do odpowiedniego zapisu i w związku z tym interpretacji wyniku pomiaru. W wystąpieniu zostaną omówione sposoby szacowania niepewności oraz jej wpływ na jakość wyniku.*

### 1. WPROWADZENIE

Niepewność i spójność są podstawowymi właściwościami każdego wyniku analizy. Konieczne jest zatem w stosunku do każdego wyniku pomiaru oszacowanie wartości niepewności oraz udokumentowanie jego spójności.

Niepewność występuje na każdym etapie procedury pomiarowej. Nie jest ona własnością, która ma przysparzać dodatkowych trudności w trakcie procesu pomiarowego, wręcz przeciwnie jej oszacowanie pozwala na zrozumienie metrologicznej charakterystyki danej procedury. Oszacowanie niepewności wyniku analizy to swego rodzaju wartość dodana, która z jednej strony zwiększa miarodajność uzyskanego wyniku a z drugiej pozwala na określenie jego jakości.

Pewność wyniku analizy zależy od niepewności wszystkich etapów postępowania analitycznego przy wykorzystaniu, którego jest on uzyskiwany. Niepewność wyniku analizy to składowa niepewności wszystkich pojedynczych etapów postępowania analitycznego. Decydującym parametrem wpływającym na wartość niepewności wyniku oznaczenia jest ten, dla którego wartość niepewności jest największa. W związku z tym konieczne jest określenie źródeł oraz typów niepewności dla poszczególnych jednostkowych etapów procedury analitycznej, a ściślej dla każdej wielkości mierzonej.

Zdecydowana większość wyników analiz chemicznych jest otrzymywana na podstawie pomiarów wielkości, w oparciu o które obliczany jest wynik końcowy. I tak np.: w klasycznej analizie miareczkowej podawana jako wynik wartość stężenia jest obliczana w oparciu o pomiar objętości i/lub masy oraz wyznaczonego miana titrantu. Podawany wynik analizy jest zatem obciążony niepewnością złożoną z poszczególnych wartości niepewności dla wykorzystywanych w celu jego uzyskania pomiarów jednostkowych. Z tego to powodu niezbędnym jest „rozłożenie” każdej procedury pomiarowej na czynniki pierwsze w celu określenia każdego ze źródeł niepewności jak i ich wartości, które są obliczane jako niepewności standardowe.

Oszacowanie niepewności wyniku analizy pozwala na określenie przedziału wokół wartości średniej (wynik oznaczenia jest najczęściej przedstawiany jako średnia arytmetyczna), w którym to przedziale powinna się znaleźć wartość oczekiwana. Szerokość tego przedziału zależy od:

- niepewności związanych ze stosowanymi w trakcie procedury analitycznej urządzeniami, akcesoriami, odczynnikami, wzorcami, materiałami odniesienia itp.,
- niepewności związanej z osobą wykonującą oznaczenia, związanej i zależnej od jej doświadczenia i umiejętności,
- poziomem prawdopodobieństwa z jakim zostaje ten przedział wyznaczony.

## 2. ŹRÓDŁA NIEPEWNOŚCI

Zanim przystąpi się do szacowania niepewności wyniku analizy, należy ustalić źródła niepewności standardowych, które składać się będą na niepewność złożoną.

Podstawowymi źródłami niepewności dla pomiarów chemicznych mogą być:

- błędnie lub nieprecyzyjnie zdefiniowana wielkość oznaczana,
- brak spełnienia wymogu reprezentatywności dla pobranej próbki,
- nieprawidłowo zastosowana procedura oznaczeń,
- błędy systematyczne związane z odczytami sygnałów,
- nieznaną wpływem wszystkich warunków zewnętrznych na wynik pomiaru analitycznego;
- niepewność etapu kalibracji stosowanego przyrządu pomiarowego,
- rozdzielczość stosowanego przyrządu pomiarowego,
- niepewności wartości odniesienia wykorzystywanych wzorców i/lub materiałów odniesienia,
- niepewności wykorzystywanych w obliczeniach parametrów np.: stałe fizyko-chemiczne,
- przybliżenia i założenia związane ze stosowaniem danego przyrządu pomiarowego i zastosowane w trakcie wykonywania pomiaru;
- zmienność warunków prowadzenia pomiarów – niepowtarzalność wyników.

Wymienione źródła można zaklasyfikować do dwóch grup. Pierwszą stanowią te, których przyczynami są warunki prowadzenia pomiaru związane ze stosowanymi odczynnikami, urządzeniami, akcesoriami, natomiast drugą te związane z osobą wykonującą pomiar. W przypadku pierwszej z grup wartość niepewności jest związana z klasą stosowanych urządzeń, akcesoriów czy jakością wykorzystywanych odczynników i zależy od ich ceny. Druga składowa zależna jest od doświadczenia wykonującego pomiar.

## 3. METODY SZACOWANIA NIEPEWNOŚCI

Istnieje wiele sposobów szacowania niepewności pomiaru. Warto na wstępie zaznaczyć, że nie bez powodu mówi się o „szacowaniu” niepewności. Konsekwencją wyznaczonej wartości niepewności jest zapis wyniku pomiaru – jego zaokrąglenie. Regułą jest podawanie wartości niepewności z co najwyżej dwiema cyframi znaczącymi a wartości wyniku zaokrąglonej do takiej samej liczby miejsc dziesiętnych co niepewność.

W przypadku obliczania złożonej niepewności pomiaru w oparciu o niepewności standardowe, wykorzystywane jest prawo przenoszenia (propagacji), którego konsekwencją jest zwiększanie wpływu wartości największej na wartość końcową.

Powyższe powody wpływają na sposoby postępowania wykorzystywane w przypadku szacowania niepewności pomiaru.

Wśród stosowanych metod szacowania niepewności pomiaru należy wymienić:

- **bottom-up** – „od szczegółu do ogółu” – metoda uwzględniająca wpływ poszczególnych elementów wpływających na wartość złożonej niepewności pomiaru; podejście to jest czaso- i pracochłonne; w przypadku stosowania tej metody należy ustalić wszystkie źródła niepewności, obliczyć wartości niepewności standardowych i wykorzystując prawo propagacji obliczyć wartość niepewności złożo-

nej; pomocą przy tym podejściu do szacowania niepewności jest graficzne przedstawienie wpływu poszczególnych niepewności standardowych na niepewność złożoną z wykorzystaniem diagramu Ishikawy,

- **fitness-for-purpose** – w oparciu o zależność matematyczną między wynikiem pomiaru i wartością niepewności; sposób jest znacznie łatwiejszy i mniej czasochłonny niż podejście bottom-up; w tej metodzie oszacowana wartość niepewności dla danego poziomu zawartości (jako wartość względna) może być wykorzystana dla pomiarów wykonanych dla innych poziomów,
- **top-down** – „od ogółu do szczegółu” – metoda wykorzystująca głównie precyzję otrzymanych wyników; stosuje się dane uzyskane z badań międzylaboratoryjnych; u podstaw teoretycznych tego podejścia leży fakt, iż w przypadku większości pomiarów główną składową niepewności jest ta wynikająca z rozrzutu wyników spowodowanych ich niepowtarzalnością,
- w oparciu o wyznaczone parametry walidacyjne: precyzję, poprawność, liniowość, granicę wykrywalności; jakość uzyskiwanych wyników pomiarów analitycznych jest determinowana przez wartości parametrów walidacyjnych a te z kolei wpływają na oszacowaną wartość niepewności.

#### 4. JAKOŚĆ WYNIKU ANALIZY A NIEPEWNOŚĆ

Jak już wspomniano, aby uznać podawany wynik za wynik analityczny, musi być on zapisany z wartością niepewności. Podawanie tylko wartości średniej jako wyniku oznaczenia determinuje taki zapis jako wynik bezwartościowy. Traktowany bowiem być on powinien jako wartość stała, czyli z definicji niemożliwa to otrzymania w wyniku zastosowania danej procedury analitycznej.

Wyznaczenie niepewności pomiaru powoduje zwiększenie jego miarodajności, pozwala na porównywanie wyników uzyskanych w trakcie badań międzylaboratoryjnych oraz pomaga podejmować decyzje co do istotności różnicy uzyskanego wyniku pomiaru z wartością odniesienia.

Tworzony w trakcie procesu szacowania niepewności budżet niepewności, pozwala na określenie istotności wpływu poszczególnych składowych na niepewność złożoną. W oparciu o analizę poszczególnych składowych możliwe jest np.:

- stwierdzenie, która ze składowych ma dominujący wpływ na wartość niepewności,
- jednoznaczne wskazanie parametru, dla którego zmniejszenie niepewności pozwoli zmniejszyć niepewność złożoną,
- oszacowanie istotności wpływu parametrów walidacyjnych na złożoną niepewność, a w konsekwencji jakości wyniku (jego precyzji, dokładności) na wartość niepewności.

Kolejnym aspektem związanym z jakością otrzymywanych wyników analiz jest ich zgodność z wartościami normowanymi, wyznaczonymi. Określenie zgodności nie jest określeniem równości (identyczności) dwóch wartości – normowanej i oznaczonej. Podanie wartości niepewności wartości oznaczonej pozwala na zdefiniowanie pewnego potencjału jakim dysponowano w trakcie całego procesu pomiarowego, by tę wartość wyznaczyć. Nie było możliwe podanie (w zapisie) wartości wyniku z większą liczbą miejsc dziesiętnych niż to uczyniono, bo na taki a nie inny zapis pozwalała wartość oszacowanej niepewności. Taki a nie inny zapis pozwala na porównywanie wartości. We wnioskowaniu należy zatem uwzględnić wartość niepewności podając np.: „różnica między wartościami nie przewyższa (jest w ramach) niepewności”. Taka jest główna rola niepewności w zapisie wyniku. Nie ma możliwości by otrzymać wynik bardziej pewny niż wypadkowa (nie)pewność całego procesu analitycznego.

Gdyby jednak oszacowana wartość niepewności nie spełniała pewnych wartości granicznych – np. wartości niepewności docelowej, należy poprzez analizę budżetu niepewności zwrócić uwagę na tę składową, która pozwoli zmniejszyć wartość niepewności złożonej. W takim wypadku tylko zmniejszenie wartości największej składowej niepewności pozwoli na zmniejszenie wartości niepewności złożonej. Jeśli ta dominująca wartość niepewności należy do grupy źródeł niepewności „aparaturowo-akcesoriowo-odczynnikiowych” to istnieje możliwość pozyskania odpowiednich przyrządów czy od-

czynników o wyższej klasie (czyli droższych), a w związku z tym takich, dla których wartości niepewności standardowych będą mniejsze. Pozwoli to w takim wypadku na zmniejszenie niepewności złożonej. Gdy natomiast dominująca składowa niepewności „leży po stronie” wykonującego pomiar sposobami na zmniejszenie wartości niepewności złożonej jest albo zastosowanie innej, bardziej odpornej na czynnik ludzki procedury oznaczeń, bądź inwestycja w szkolenie personelu wykonującego oznaczenie z zastosowaniem danej procedury pomiarowej.

Biorąc pod uwagę definicję niepewności pomiaru, można zauważyć, że wartość ta zależy od wartości wyniku pomiaru (jest z nim związana!!!). Idąc dalej, dla każdego z wyników wartość niepewności (bezwzględnej) będzie (musi być) inna. Wynika to z natury pomiaru.

Dodatkowo, każdy z wyników analizy jest podawany jako wartość średnia, dlatego też dla każdego z wyników można podać wartość odchylenia standardowego. Ta z kolei wartość zależy od wielkości wyniku – im większy wynik tym odchylenie standardowe większe. Wartość odchylenia standardowego jest z kolei wielkością, na podstawie której szacowana jest składowa niepewności związana z (nie)powtarzalnością pomiarów. I dalej, w zdecydowanej większości przypadków to ta składowa niepewności stanowi główny udział w budżecie niepewności.

Można natomiast oszacować wartość względnej rozszerzonej niepewności dla danego zakresu pomiarowego, podając jej największą wartość (dla najniższej wartości zawartości z danego zakresu). Należy jednak przy tym pamiętać, że tak podana wartość niepewności będzie dla pozostałych (wyższych) wartości wyników zawyżona.

Należy dodać, iż większym błędem przy podawaniu wartości niepewności jest jej niedoszacowanie niż przeszacowanie. Podstawową zasadą jest jednak zawsze szacowanie niepewności w sposób racjonalny i optymalny.

## 5. PODSUMOWANIE

Oszacowanie niepewności wyniku analizy to konieczny i niezbędny etap w trakcie jego uzyskiwania. Bez podanej wartości niepewności wyniku oznaczenia nie można nawet traktować jako wynik z punktu widzenia metrologicznego. Wartość niepewności wyniku analizy pozwala bowiem na:

- potwierdzenie jego miarodajności,
- określenie i udokumentowanie jego jakości,
- porównanie otrzymanego wyniku z wartościami granicznymi, normowanymi czy też wartościami odniesienia.

Z tego powodu czas i koszty poniesione w trakcie szacowania niepewności są kompensowane poprzez uzyskiwanie miarodajnych wyników analiz, interpretacja których z kolei prowadzi do otrzymywania informacji na temat badanych obiektów.

## LITERATURA:

- [1] Międzynarodowy słownik metrologii – pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM), PKN-ISO/IEC Guide 99:2010.
- [2] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements, International Organization for Standardization, Geneva 1995.
- [3] Ellison S. L. R., Rösslein M., Williams A.: EURACHEM, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements, 2nd Edition, 2000.
- [4] Bulska E.: Metrologia Chemiczna, Sztuka prowadzenia pomiarów, Wyd. Malamut, Warszawa 2008.
- [5] Konieczka P., Namieśnik J.: Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory: A Practical Approach, Boca Raton; London; New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2009.

**Robert Rzepakowski, Jolanta Wasilewska**  
Główny Urząd Miar

## Ocena i wykorzystanie informacji (wyników wzorcowań) podanych w świadectwach wzorcowania/świadectwach materiałów odniesienia

*Referat porusza problematykę związaną z właściwą interpretacją świadectw wzorcowania, świadectw materiałów odniesienia oraz wykazaniem spójności pomiarowej. Omówione zostały informacje zawarte w świadectwach oraz wskazano na możliwości ich wykorzystania przez laboratoria wzorcujące i badawcze. Poruszono zagadnienie ustalonych w laboratorium kryteriów akceptacji oraz związane z nimi występujące błędy. Omówiono sposoby wykorzystania informacji ze świadectwa oraz towarzyszące temu ryzyka.*

### 1. WPROWADZENIE

#### 1.1 Przygotowanie laboratorium do oceny i wykorzystania informacji zawartych w świadectwach

Świadectwa wzorcowania oraz materiałów odniesienia, zwanych dalej świadectwami, są ważnym źródłem wiedzy dla laboratoriów wzorcujących i badawczych, niezależnie od tego, czy są to laboratoria akredytowane przez Polskie Centrum Akredytacji (PCA), czy nie. W przypadku laboratoriów akredytowanych, świadectwa takie są obowiązkowe, co wynika z normy [1]. Obowiązujący wzór świadectwa wzorcowania [2] dostępny jest na stronie internetowej PCA.

Prawidłowo sporządzone świadectwa z odpowiednimi do potrzeb laboratorium niepewnościami pomiaru stanowią niezbędny element wykazania spójności pomiarowej zarówno dla samego laboratorium, jak i jego ewentualnych klientów.

Niezależnie od tego, czy laboratorium stosuje świadectwa ze względu na wymagania akredytacyjne, kierując się dobrą praktyką laboratoryjną, czy z innej przyczyny, nie może traktować ich formalistycznie – bo wymaga ich norma. W żadnym wypadku nie wolno ich odkładać do archiwum, bez wcześniejszej analizy. Aby w pełni wykorzystać informacje zawarte w świadectwach potrzebna jest wiedza na temat ich wartości oraz ustalone przez laboratorium kryteria.

Do kryteriów takich można zaliczyć np. kryterium przyjęcia nowo wprowadzanego wyposażenia pomiarowego, dopuszczenia wyposażenia pomiarowego do stosowania po powrocie z wzorcowania okresowego, po powrocie po wykonaniu pomiarów poza laboratorium, po regulacjach, naprawach itp. Istotnym kryterium jest również kryterium wyboru laboratorium odniesienia, realizującego usługę wzorcowania, ze względu na oferowaną niepewność pomiaru.

Certyfikowane materiały odniesienia powinny być traktowane identycznie jak przyrządy pomiarowe. Podejście do certyfikowanych materiałów odniesienia jest m. in. przedmiotem Not Aplikacyjnych dostępnych na stronach internetowych European Reference Materials (ERM), np. dokumentu Application Note 1 [3].

Podsumowując, do właściwej oceny świadectw potrzebna jest wiedza i właściwie opracowane, dobrze dopasowane do potrzeb laboratorium kryteria.

## **1.2 Zawartość świadectw**

### **1.2.1 Informacja o akredytacji laboratorium**

Zwykle wymaganiem laboratorium przekazującym swoje wyposażenie pomiarowe do wzorcowania jest, aby było ono wykonane w akredytowanym laboratorium odniesienia lub w krajowej instytucji metrologicznej (NMI – National Metrological Institution). W Polsce taką instytucją jest Główny Urząd Miar. W przypadku laboratorium akredytowanego wymaganie takie wynika z kontraktu zawartego z PCA.

Na świadectwie wydanym przez laboratorium akredytowane widnieje symbol jednostki akredytującej, w przypadku akredytacji udzielonej przez PCA symbol powinien być zgodny z dokumentem PCA DA-02 [4].

### **1.2.2 Zastosowana metoda**

Laboratorium wykonujące usługę wzorcowania powinno wskazać metodę wykonywania pomiarów odnosząc się do stosowanej procedury, która powinna być identyfikowalna przez oznaczenie oraz datę lub numer wydania. W przypadku niestandardowej metody uzgodnionej z klientem, laboratorium powinno ją opisać. Laboratorium powinno na żądanie udostępnić do wglądu procedurę, według której wykonywało pomiary.

W przypadku materiałów odniesienia laboratorium podaje metodę przygotowania i charakterystykę materiału odniesienia.

### **1.2.3 Warunki wykonywania pomiarów**

Laboratorium odniesienia powinno, o ile jest to istotne, podać warunki w jakich wykonywano pomiary, takie jak zakres temperatury, wilgotności, ciśnienia itp. Znajomość tych warunków jest pomocna przy szacowaniu niepewności pomiarów wykonywanych wywzorcowanym wyposażeniem pomiarowym, które mogą być wykonywane w innych warunkach.

W przypadku materiałów odniesienia laboratorium podaje zalecenia dotyczące warunków użytkowania i przechowywania materiału.

### **1.2.4 Spójność pomiarowa**

Świadectwo powinno wskazywać na sposób zapewnienia spójności pomiarowej, podając do jakich wzorców odniesiono wyniki pomiarów.

### **1.2.5 Wyniki wraz z niepewnością pomiaru**

Wyniki wzorcowania zawarte w świadectwie oraz związane z nimi niepewności pomiaru są zasadniczym źródłem wiedzy o wyposażeniu pomiarowym. Pozwalają na jego ocenę i podjęcie decyzji o dalszym stosowaniu.

### **1.2.6 Ocena zgodności wyników ze specyfikacją**

W niektórych przypadkach laboratorium może zażądać od laboratorium wzorcującego oceny uzyskanych podczas wzorcowania wyników, ze wskazaną przez siebie specyfikacją. Świadectwo zawierające

taką ocenę może zawierać również wyniki pomiaru oraz związane z nimi niepewności. W przypadku, gdy świadectwo nie zawiera wyników, muszą one być przechowywane i dostępne w laboratorium wzorcującym. Podczas oceny zgodności wyników ze specyfikacją, należy stosować zasady zawarte w dokumencie ILAC G-8 [5]

### 1.2.7 Data ważności świadectwa

Laboratoria w zasadzie nie podają okresu ważności świadectw wzorcowania. Mogą je podać, na wyraźne żądanie klienta, pod warunkiem, że mają dobre podstawy do tego, np. wtedy, gdy wyposażenie jest dobrze im znane (było kilkakrotnie wzorcowane w laboratorium).

Okres ponownego wzorcowania, o ile nie wynika z przepisów prawa lub innego rodzaju wymagania, powinien wynikać z oceny stosującego wyposażenie pomiarowe laboratorium. Powinno ono uwzględniać takie czynniki jak stabilność charakterystyk metrologicznych, liczbę i częstość wykonywanych wzorcowań, ryzyko związane z uzyskaniem nierzetelnych wyników i inne. Przy ustalaniu okresów ponownego wzorcowania pomocnym może być dokument ILAC G24 [6]. Harmonogram wzorcowań wzorców odniesienia laboratoriów akredytowanych musi zaakceptować PCA.

W przypadku materiałów odniesienia w świadectwie podaje się datę ważności materiału odniesienia.

## 1.3 Świadectwa wydawane przez GUM

Główny Urząd Miar wydaje świadectwa wzorcowania oraz świadectwa materiałów odniesienia, których wzory są elementem dokumentacji systemu zarządzania jakością, zgodnie z normą [1]. Świadectwa wzorcowania oraz materiałów odniesienia wydawane przez GUM mogą mieć postać dwujęzyczną – polsko-angielską.

W związku z tym, że laboratoria GUM, jako krajowej instytucji metrologicznej nie mają obowiązku akredytacji, w końcowej części każdego świadectwa znajduje się deklaracja będąca rękojmią rzetelności wyników i zachowania spójności pomiarowej.

*Główny Urząd Miar (GUM) realizuje zadania wynikające z ustawy z dnia 11 maja 2001 r. – Prawo o miarach (tekst jednolity: Dz. U. z 2004 r. Nr 243, poz. 2441 z późniejszymi zmianami). Jest instytucją najwyższej rangi w dziedzinie metrologii w Rzeczypospolitej Polskiej jako tzw. krajowa instytucja metrologiczna.*

*Podstawowym celem działalności Głównego Urzędu Miar jest zapewnienie wzajemnej zgodności i odpowiedniej dokładności wyników pomiarów przeprowadzanych w Polsce oraz ich powiązania z międzynarodowym systemem miar.*

*Główny Urząd Miar, jako krajowa instytucja metrologiczna jest źródłem, od którego akredytowane laboratoria wzorcujące wywodzą swoją spójność pomiarową. Nadrzędna rola krajowej instytucji metrologicznej potwierdzona jest w międzynarodowym dokumencie ILAC-P10:2002 „Polityka ILAC dotycząca spójności pomiarowej wyników pomiarów” oraz w dokumencie DA-06 wydanym przez Polskie Centrum Akredytacji pt. „Polityka PCA dotycząca zapewnienia spójności pomiarowej”*

*Laboratoria GUM biorą udział w porównaniach wzorców z laboratoriami krajowych instytucji metrologicznych w innych krajach w Europie i na świecie.*

Laboratoria wzorcujące GUM mają wdrożony system jakości zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2005 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących”.

GUM jest sygnatariuszem międzynarodowego „Porozumienia o wzajemnym uznawaniu państwowych wzorców jednostek miar oraz świadectw wzorcowania i świadectw pomiarów wydawanych przez krajowe instytucje metrologiczne”, zawartego pod auspicjami Międzynarodowego Komitetu Miar (tzw. CIPM MRA).

Dane odnośnie zdolności w zakresie wzorcowania i pomiarów (CMCs) są zawarte w Dodatku C do CIPM MRA. Niniejsze świadectwo spełnia wymagania CIPM MRA, w szczególności zapisów w Dodatku C. W ramach CIPM MRA wszystkie uczestniczące instytucje uznają ważność świadectw wzorcowania i świadectw pomiaru wystawianych przez innych sygnatariuszy, w odniesieniu do wielkości, zakresów i niepewności pomiarów wymienionych w Dodatku C (szczegóły patrz: [www.bipm.org](http://www.bipm.org)).

Laboratoria GUM biorą również udział w ocenach wzajemnych, tzw. peer-review, dokonywanych wzajemnie przez NMI z innych krajów.

Jeśli świadectwa spełniają wymagania porozumienia CIPM MRA, to umieszczony jest na nich symbol porozumienia.



Jednym z wymagań porozumienia jest umieszczenie informacji o zdolności pomiarowej (CMC – Calibration and Measurement Capability) laboratorium NMI w bazie danych (KCDB) dostępnej na stronie internetowej BIPM.

Wyjaśnienia wymagają akronimy oraz pojęcie zdolności pomiarowej, użyte w powyższej deklaracji: ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) – to międzynarodowa organizacja zrzeszająca podmioty akredytujące laboratoria.

BIPM (Bureau International des Poids et Mesures) – to Międzynarodowe Biuro Miar.

Przez zdolność pomiarową laboratorium należy rozumieć oferowaną przez nie niepewność podczas wykonywania rutynowych pomiarów wyposażenia pomiarowego, które nie wpływa na tę niepewność.





Wyniki z kolejnych wzorcowań stanowią podstawę do analizy stabilności wyposażenia pomiarowego, pozwalają na wyznaczenie trendu zmian (dryfu), co jest jednym z elementów zapewniania jakości wyników pomiarów przeprowadzanych w laboratorium. Mogą one stanowić również podstawę do decyzji o wydłużeniu lub skróceniu okresów ponownego wzorcowania.

### 3. KRYTERIA PRZYJĘCIA

Ustalenie kryteriów przyjęcia jest zwykle trudnym zadaniem, szczególnie dla laboratoriów które nie mają dużego doświadczenia.

Częstym błędem przy ustalaniu kryteriów jest stosowanie największego dopuszczalnego błędu pomiaru [8] (dawniej zwanego maksymalnym błędem dopuszczalnym) deklarowanego przez producenta, w nieodpowiednich sytuacjach. O ile jest to właściwe kryterium do oceny wprowadzanego do użytku nowego wyposażenia pomiarowego po jego zakupie, to w przypadku kolejnych wzorcowań i lepszego poznania przez laboratorium charakterystyk metrologicznych wyposażenia takie kryterium jest zwykle niewystarczające.

Nierzadko kryteria nie uwzględniają korelacji występujących podczas pomiarów. Przykładem może być kryterium przyjęcia wyposażenia po jego powrocie z pomiarów wykonywanych poza laboratorium. Pomiar weryfikacyjny wykonywany jest w stosunku do tego samego wzorca. Zwykle błędy zastosowanego wzorca są znaczącym składnikiem niepewności pomiaru, a więc oba pomiary nim wykonane są mniej lub bardziej powiązane (skorelowane). To powoduje, że ustalenie kryterium o wartości uzyskiwanej w laboratorium niepewności może być również niewystarczające.

Podobna sytuacja ma miejsce podczas porównań wewnątrzlaboratoryjnych, gdy ten sam przyrząd wzorcowany jest przez różnych pracowników. Jednym ze sposobów ustalenia kryterium akceptacji jest wykonanie wielu serii pomiarów w pewnym przedziale czasu przez tego samego pracownika i ustalenie kryterium, wykorzystując uzyskane wyniki (ich zmienność charakterystyczną dla takich pomiarów). Niektóre laboratoria niewłaściwie wykorzystują kryterium  $|En| \leq 1$ , zalecane przez normę [9], które jest stosowane podczas porównań międzylaboratoryjnych. Kryterium to służy do porównania wyników uzyskiwanych w różnych laboratoriach, podczas gdy stosowane bywa do porównywania wyników uzyskiwanych w tym samym laboratorium, stosującym to samo wyposażenie pomiarowe, co również powoduje wystąpienie korelacji.

Jednym z najczęstszych zastosowań certyfikowanych materiałów odniesienia jest walidacja procedur pomiarowych. W tym celu przeprowadza się pomiary z użyciem certyfikowanych materiałów odniesienia, a wyniki porównuje się z wartościami certyfikowanymi. Aby ocenić skuteczność metody porównuje się  $\Delta_m$  z  $2u_\Delta$ . Jeśli  $\Delta_m \leq 2u_\Delta$  wtedy nie ma znaczącej różnicy między wynikiem pomiaru i wartością certyfikowaną [3].

$$\Delta_m \leq 2 \cdot u_\Delta \quad (1)$$

$$C_m - C_{CRM} \leq 2u_m^2 + u_{CRM}^2 \quad (2)$$

gdzie:

$\Delta_m$  – bezwzględna różnica między średnią wartością zmierzoną a wartością certyfikowaną,

$C_m$  – średnia wartość zmierzona,

$C_{CRM}$  – wartość certyfikowana,

$u_\Delta$  – połączona niepewność wyniku i wartości certyfikowanej,

$u_m$  – niepewność wyniku pomiaru,

$u_{CRM}$  – niepewność wartości certyfikowanej

## 4. WYKORZYSTYWANIE ŚWIADECTW PODCZAS POMIARÓW W LABORATORIUM

### 4.1 Stosowanie poprawek przez laboratorium

Zwykle w świadectwie wzorcowania podawana jest wartość odniesienia, wskazanie przyrządu, błąd pomiaru lub poprawka, równa co do wartości błędu lecz ze znakiem przeciwnym oraz niepewność pomiaru. Często laboratoria korzystają z poprawek aby zmniejszyć niepewność pomiaru, ale powinny stosować je bardzo rozważnie, zdając sobie sprawę z różnych ryzyk.

Stosowanie poprawki w punkcie pomiarowym pokrywającym się z punktem pomiarowym ze świadectwa wzorcowania jest obarczone mniejszym ryzykiem popełnienia błędu. Problem pojawia się, gdy wykonujemy pomiar w punkcie pomiarowym, dla którego nie mamy poprawki. Zwykle w takich przypadkach posługujemy się interpolacją. Warunkiem jej poprawnego wykonania jest dobra znajomość charakterystyki metrologicznej wyposażenia pomiarowego. Dodatkowym problemem jest przypisanie niepewności do wartości poprawki wynikającej z interpolacji, szczególnie wtedy, gdy do dwóch sąsiednich wyników przypisane są różne niepewności pomiaru. Pamiętać należy o tym, że poprawki z czasem mogą ulec zmianie, np. z powodu dryfu (dawniej dryftu) [9]. W skrajnych przypadkach zdarza się, że laboratoria szacują uzyskane niepewności wykonywanych przez siebie pomiarów o wartości niższej niż niepewność zastosowanego wyposażenia pomiarowego z jego świadectwa wzorcowania.

Często laboratoria biorące udział w porównaniach międzylaboratoryjnych dwustronnych wybierają punkty pomiarowe pokrywające się z punktami pomiarowymi ze świadectwa. Po zastosowaniu poprawek osiągają zwykle dobre wyniki, potwierdzające zadeklarowane zdolności pomiarowe. Jednak wykonywanie pomiarów na potrzeby własne lub klienta może dotyczyć innych punktów pomiarowych. Aby pokazać, że zdolność pomiarowa dotyczy całego deklarowanego przez laboratorium zakresu pomiarowego, powinno ono porównywać się z laboratorium odniesienia również w punktach pomiarowych nie pokrywających się z tymi ze świadectwa wzorcowania.

### 4.2 Wykorzystywanie niepewności wzorcowania

Wartości niepewności ze świadectwa są jednym ze składników pozwalających na oszacowanie niepewności pomiarów wykonywanych w laboratorium. Przed ich użyciem do utworzenia budżetu niepewności należy je podzielić przez wartość współczynnika rozszerzenia  $k$  gdyż w świadectwach są one podawane jako niepewność rozszerzona. Podczas ich stosowania należy mieć na względzie uwagi zawarte w poprzednim punkcie.

### 4.3 Uwzględnianie wpływu różnych warunków pomiaru na szacowane niepewności

Podczas stosowania wyposażenia pomiarowego, a później opracowywania uzyskanych wyników, należy pamiętać i uwzględniać mogące wystąpić różnice warunków pomiaru, wpływające na wyniki. Należy sprawdzić, czy niepewności ze świadectwa wzorcowania nie należy powiększyć o wartość wynikającą z różnicy, np. temperatury w której wzorcowano wyposażenia pomiarowe i tej, w której stosowano je do pomiarów wykonywanych w laboratorium. Zwykle producent wyposażenia pomiarowego podaje w jego specyfikacjach technicznych współczynniki wrażliwości na warunki otoczenia.

Przykładowo, producent wzorcowego licznika energii elektrycznej podaje w specyfikacji technicznej wartość współczynnika temperaturowego  $\pm 0,0005\%/^{\circ}\text{C}$ . Oznacza to, że wartość błędu tego licznika może zmienić się na skutek zmiany temperatury, proporcjonalnie do tej zmiany. Przy różnicy temperatur  $2^{\circ}\text{C}$  zmiana ta wyniesie  $0,001\%$ . Kierunek zmiany nie jest przez producenta określony, więc wartość ta nie może być poprawką, lecz składnikiem niepewności.

## 5. PODSUMOWANIE

Właściwe wykorzystanie informacji zawartych w świadectwach, ich analiza i uwzględnianie wynikających z niej wniosków jest istotnym elementem zapewnienia jakości wyników pomiarów wykonywanych przez laboratorium. Jest to niezbędny warunek wykazania spójności pomiarowej i zademonstrowania zdolności pomiarowych laboratorium oraz budowania jego prestiżu. Podczas ustalania zdolności pomiarowej laboratorium powinno realnie oceniać swoje możliwości pomiarowe. Ich niedoszacowanie utrudnia prawidłowe przeprowadzenie porównań międzylaboratoryjnych, natomiast przeszacowanie może prowadzić do uzyskiwania nieprawidłowych wyników pomiaru.

### LITERATURA:

- [1] PN-EN ISO/IEC 17025:2005. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
- [2] Wzór świadectwa wzorcowania wyd. 6 z 06.02.12 r. (<http://www.pca.gov.pl/?page=dokumenty>)
- [3] Application Note 1. Komisja Europejska – Wspólne Centrum Badawcze Instytut Materiałów Odniesienia i Pomiarów (IRMM) – styczeń 2010 r. ([http://www.erm-crm.org/ERM\\_products/application\\_notes/Pages/index.aspx](http://www.erm-crm.org/ERM_products/application_notes/Pages/index.aspx)).
- [4] DA-02 wyd. 12 z 28.02.12 r. Zasady stosowania symboli akredytacji PCA ([http://www.erm-crm.org/ERM\\_products/application\\_notes/Pages/index.aspx](http://www.erm-crm.org/ERM_products/application_notes/Pages/index.aspx)).
- [5] ILAC G8:03/2009 Wytyczne dotyczące przedstawiania zgodności ze specyfikacją ([http://www.pca.gov.pl/?page=dokumenty\\_ilac](http://www.pca.gov.pl/?page=dokumenty_ilac)).
- [6] ILAC G24:2007 Wytyczne dotyczące wyznaczania odstępów czasu między wzorcowaniami przyrządów pomiarowych ([http://www.pca.gov.pl/?page=dokumenty\\_ilac](http://www.pca.gov.pl/?page=dokumenty_ilac)).
- [7] EA-4/02 Wyrażanie niepewności pomiaru przy wzorcowaniu ([http://bip.gum.gov.pl/pl/bip/px\\_ea\\_4\\_02.pdf](http://bip.gum.gov.pl/pl/bip/px_ea_4_02.pdf)).
- [8] PN-EN ISO/IEC 17043:2011 Ocena zgodności. Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości.
- [9] PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 Międzynarodowy słownik metrologii - Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM).



## Wyniki pomiarów w procesie walidacji i rewalidacji procedury pomiarowej

*Warunkiem dobrej i akceptowanej pracy laboratorium analitycznego jest poddanie procedury pomiarowej procesowi walidacji. Celem walidacji metody analitycznej jest stwierdzenie, czy proces analizy według danej metody przebiega w sposób rzetelny i daje wiarygodne wyniki. W referacie omówiono przykłady metod walidacji, ze szczególnym uwzględnieniem: klasycznej metody walidacji, metody walidacji bieżącej pobierania i analizowania próbek ścieków oraz metody weryfikacji metod znormalizowanych.*

### 1. WPROWADZENIE

Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 nakazuje „przeprowadzać walidację metod nieznormalizowanych, metod zaprojektowanych przez laboratorium, metod znormalizowanych wykorzystywanych poza przewidzianym dla nich zakresem oraz metod znormalizowanych, które zostały rozszerzone lub zmodyfikowane”. Walidacja stosowanej procedury pomiarowej ma udowodnić, że zastosowana metoda badawcza jest właściwa dla zamierzonego zastosowania, z punktu widzenia klienta metoda powinna być przydatna dla jego celu. Prawidłowość walidacji metody może być potwierdzona przez kalibrację metody za pomocą materiałów odniesienia, porównywanie z innymi metodami, porównanie międzylaboratoryjne, ocenę czynników wpływających na wynik oraz prawidłową ocenę niepewności wyników. Metoda zwalidowana powinna charakteryzować się odpowiednią niepewnością, granicą wykrywalności, selektywnością, liniowością kalibracji, granicą powtarzalności i odtwarzalności, odpornością na czynniki zewnętrzne i czynniki przeszkadzające pochodzące od matrycy próbki. Zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2005 „walidacja jest zawsze kompromisem pomiędzy kosztami, ryzykiem i możliwościami technicznymi”.

### 2. PRZYKŁADY METOD WALIDACJI

Metoda walidacji jest procesem ustalania jakie analizy można oznaczać badaną metodą, w jakich matrycach, w jakim zakresie zawartości, przy jakich czynnikach zakłócających, z jaką precyzją i dokładnością. Większość stosowanych procedur walidacji bada podobne charakterystyki metody, większe różnice pomiędzy sposobami walidacji dotyczą długości walidacji, ilości pomiarów w serii, kryteriów akceptacji oraz wymogów okresowej rewalidacji metody. Metody klasyczne walidacji dotyczą walidacji krótkotrwałej prowadzonej w ramach jednej serii pomiarowej, inne metody wymagają walidowania przez np. powtarzanie analiz w trzy niekolejne dni. Obecnie, w wyniku rozwinięcia metod szacowania bieżącego niepewności pomiarów, walidacja wykorzystuje bieżące badania rutynowe trwające kilka miesięcy i kończące się po roku kontrolą rewalidacyjną metody.

## 2.1 Klasyczna metoda walidacji

**Tabela 1.** Walidacja metody zgodnie z wymaganiami EURACHEM [1]

Parametr badany	Sposób oceny
Selektywność i specyficzność metody	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza próbek metodą badaną</li> <li>Analiza próbek metodą niezależną</li> <li>Analiza próbek z dodatkiem spodziewanych interferentów</li> </ul>
Granica wykrywalności	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 10 prób ślepych (jednokrotnie)</li> <li>Analiza 10 prób ślepych z dodatkiem wzorca</li> </ul> G.W. = ślepa próba + 3s; 0 + 3s
Granica oznaczalności	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 10 prób ślepych (jednokrotnie)</li> <li>Analiza 10 prób ślepych z dodatkiem wzorca</li> </ul> G.O. = ślepa próba + 5s; + 6s; + 10s
Zakres roboczy i zakres liniowości	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 6 prób ślepych z różnymi stężeniami dodatku wzorca</li> <li>Analiza 3 powtórzeń x 6 prób ślepych z różnymi dodatkami wzorca</li> </ul> Kontrola wizualna liniowości i współczynnik korelacji
Poprawność/dokładność	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 10 x matrycowego materiału odniesienia (lub CRM) i odjęcie średniej z 10 ślepych prób</li> <li>Analiza metodą badaną i metodą odniesienia 10 x matrycowego materiału odniesienia i odjęcie średniej z 10 ślepych prób</li> </ul>
Powtarzalność/odtworzalność z użyciem matrycowego materiału odniesienia	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 10 x matrycowy materiał odniesienia przez jednego analityka</li> <li>Analiza 10 x matrycowy materiał odniesienia przez różnych analityków</li> <li>Analiza 10 x matrycowy materiał odniesienia przez różnych analityków w różnych laboratoriach (udział w badaniach międzylaboratoryjnych)</li> </ul>
Badanie odporności metody na zmienne warunki	Identyfikacja zmiennych wpływających na działanie metody. Badać niewielkie zmiany w metodzie analizując matrycowe materiały odniesienia lub CRM i wpływy zmian na dokładność.
Badanie odzysku	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 6 x próbki rzeczywistej z dodatkiem wzorca, matrycowego materiału odniesienia lub CRM</li> </ul>

## 2.2 Metoda walidacji bieżącej pobierania i analizowania próbek ścieków

Metoda ta jest stosowana w ramach programu MCERTS (Wielka Brytania) certyfikacji laboratoriów biorących udział w monitoringu ścieków. Podczas walidacji wykonuje się pobieranie minimum 11 par próbek w ciągu nie mniej niż tydzień do 3 miesięcy pobierając próbki rutynowo. Walidacja pobierania próbek ścieków wykonywana w oparciu o minimum trzy rodzaje ścieków: mieszanina oczyszczonych ścieków komunalnych i przemysłowych, ściek surowy oraz zrzutowy ściek przemysłowy (z rodzaju przemysłu badanego przez laboratorium). Przy badaniu ścieku o tej samej matrycy ale o znacznej różnicy stężeń należy wykonać walidację na dwóch poziomach stężeń. Próbkę do walidacji pobierane są rutynowo podwójnie i analizowane w dniu pobrania podwójnie oraz ponownie z dodatkiem wzorca (lub analiza materiału odniesienia). Rewalidacja metody przeprowadzana w przypadku znacznych modyfikacji procedury. Przy mniejszych zmianach częściowa rewalidacja polegająca na pobraniu 6 serii próbek podwójnych z użyciem dodatku wzorca do pobranych próbek dla wszystkich pobieranych matryc. Ocenę wyników wykonuje się metodą analizy wariancyjnej ANOVA.

**Tabela 2.** Walidacja metody pobierania próbek zgodnie z wymaganiami MCERTS [2]

Badany parametr	Sposób oceny
Granica wykrywalności	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 11 serii prób ślepych</li> <li><math>G.W. = 2 \cdot 2 \cdot t \cdot s_w</math></li> <li>(<math>s_w</math> – odchylenie standardowe wewnątrz seryjne; <math>t</math> – współczynnik Studenta dla 95% i minimum 10 stopni swobody)</li> <li>Granica wykrywalności powinna stanowić minimum 10% wartości krytycznej w ścieku dla oznaczanego analitu</li> <li>Granica wykrywalności oznaczona dla każdego analitu</li> </ul>
Krzywa kalibracji	<ul style="list-style-type: none"> <li>Minimum trzy wzorce kalibracyjne (więcej wzorców w przypadku kalibracji nieliniowej)</li> <li>Kontrola kalibracji w każdej serii (wzorzec z innej serii produkcyjnej)</li> </ul>
Ślepa próba	W każdej serii
Określenie odzysku analizy (bias)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analiza 11 serii podwójnych próbek materiału odniesienia lub dodatku wzorca do próbek rzeczywistych</li> <li>Ocena odzysku na minimum dwóch poziomach zakresu analitycznego np.: 20% i 80% zakresu stężeń</li> <li>Potwierdzenie prawidłowości stosowania metody dodatku wzorca</li> <li>Dopuszczalny bias dla analitów podany w osobnej tabeli</li> <li>Potwierdzenie walidacji w badaniach biegłości</li> </ul>

**Tabela 3.** Przykład kryteriów akceptacji precyzji i błędu systematycznego w ramach programu MCERTS [2]

w %	Ścieki oczyszczone		Ścieki przemysłowe		Ścieki surowe	
	Precyzja	Bias	Precyzja	Bias	Precyzja	Bias
As	7,5	10	7,5	10	10	10
Cd	5	10	7,5	10		
Pb	5	10	7,5	10		
Hg	7,5	10	7,5	10	10	15
NH <sub>4</sub>	5	10	5	10	5	10
ChZT	5	10	5	10	5	10
pH	0,2 jed. pH	0,2 jed. pH	0,2 jed. pH	0,2 jed. pH	0,2 jed. pH	0,2 jed. pH
Cl	5	10				
N <sub>całkowity</sub>	5	10			5	10
P <sub>całkowity</sub>	5	10			5	10
Oleje mineralne	10	12,5	10	12,5	10	12,5
WWA	15	20				
BTEX	15	20				

### 2.3 Metoda weryfikacji metod znormalizowanych

Według PN-EN ISO/IEC 17025:2005 „laboratorium powinno potwierdzić, że jest w stanie prawidłowo realizować metody znormalizowane, zanim wprowadzi je do badań lub wzorcowań. Jeżeli metoda znormalizowana zmieni się, potwierdzenie należy powtórzyć”. Kiedy metoda jest potwierdzana (weryfikowana) laboratorium musi zademonstrować, że może zapewnić odtwarzalność (wykonywalność) specyficznych charakterystyk/parametrów ustalonych walidacji metody. Sposób i obszerność weryfikacji metody zależy od rodzaju badań jakie wykonuje się daną metodą.

Kategorie weryfikowanych chemicznych metod analitycznych: 1. potwierdzenie identyfikacji, 2. oznaczenie ilościowe analitu na niskim poziomie stężenia, 3. określenie czy analit jest poniżej lub powyżej wyspecyfikowanego niskiego stężenia (w pobliżu G.O.), 4. oznaczenie ilościowe analitu na wysokim poziomie stężenia, 5. określenie czy analit jest poniżej lub powyżej wyspecyfikowanego wysokiego stężenia, 6. badanie jakościowe.

Wymagania dla poszczególnych kategorii chemicznych metod analitycznych podano w tabeli poniżej.

**Tabela 4.** Kryteria weryfikacji dla kategorii chemicznych metod analitycznych [3]

<b>Charakterystyka</b>	<b>1.</b>	<b>2.</b>	<b>3.</b>	<b>4.</b>	<b>5.</b>	<b>6.</b>
Poprawność	Nie	<b>Tak</b>	Nie	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	Nie
Precyzja	Nie	<b>Tak</b>	Nie	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	Nie
Specyficzność	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>
G.W.	Nie	<b>Tak</b>	<b>Tak</b>	<b>Tak/Nie</b>	Nie	Nie
G.O.	Nie	<b>Tak</b>	Nie	<b>Tak/Nie</b>	Nie	Nie
Odporność	Nie	<b>Tak</b>	Nie	<b>Tak</b>	Nie	Nie
Liniowość/zakres	Nie	<b>Tak</b>	Nie	<b>Tak</b>	Nie	Nie

Jak widać z tabeli 4. w pewnych przypadkach (kategoria 2) weryfikacja metody zbliża się do wymagań pełnej walidacji metody.

#### **LITERATURA:**

- [1] Przydatność metod analitycznych do określonych celów. Przewodnik walidacji metod w laboratorium i zagadnienia związane. Biuletyn Informacyjny Klubu POLLAB Nr 2/30/2000 (tłumaczenie: The fitness for purpose of analytical methods, Eurachem, 1998).
- [2] Performance standard for organisations undertaking sampling and chemical testing of water. Part 1 – Sampling and chemical testing of untreated sewage, treated sewage effluents and trade effluents. MCERTS, 2012.
- [3] How to meet ISO 17025 requirements for method verification, AOAC International, 2007.

Ewa Sabura, Renata Kulesza  
Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej „Blachownia”

## Kierowanie badaniami w systemie Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

*W niniejszej pracy przedstawiono najważniejsze elementy systemu Dobrej Praktyki Laboratoryjnej, gdzie uwzględniono sposób organizacji pracy i zarządzania wynikami na przykładzie wewnętrznej kontroli jakości. Opisano schemat kierowania badaniem, który obejmuje każdorazowo realizowane badanie. Omówiono obowiązki na poszczególnych szczeblach zarządzania laboratorium, z wyróżnieniem roli kierownika badania i Jednostki Zapewnienia Jakości.*

### 1. WPROWADZENIE

#### 1.1 Porozumienie o Wzajemnym Uznawaniu Danych

Ustawodawstwo dotyczące kontroli substancji i preparatów chemicznych opiera się na filozofii zapobiegania potencjalnego ryzyka ich stosowania, poprzez badanie i ocenę poziomu zagrożenia dla zdrowia i środowiska. Obecnie wręcz niemożliwe jest wprowadzenie substancji chemicznej do obrotu, bez oceny ryzyka jej stosowania, a na pewno działanie takie wiąże się to z kodeksowymi konsekwencjami prawnymi. Podstawowym wymogiem przepisów legislacyjnych jest warunek, aby taka ocena substancji i preparatów chemicznych opierała się na wynikach badań bezpieczeństwa stosowania posiadających odpowiednią jakość. Dlatego też, kwestia wiarygodności i jakości badań musi mieć międzynarodowy wymiar. Jeśli władze prawodawcze w danym kraju będą mogły polegać na wynikach badań związanych z bezpieczeństwem stosowania substancji chemicznych prowadzonych w innym kraju, zapobiegnie to powielaniu badań, oszczędzając tym samym czas i zasoby finansowe. W tym celu Rada Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju, (ang. *Organization for Economic Co-operation and Development*, OECD) w 1981 roku Decyzją C(81)30(Final) [1] wprowadziła w życie **Porozumienie o Wzajemnym Uznawaniu Danych** (ang. *Mutual Acceptance of Dates*, MAD), które regulowały dwa dokumenty:

- Wytyczne do metod badań zawarte w załączniku I do Decyzji
- Zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (DPL) w załączniku II do Decyzji

W załączniku I w/w Decyzji postanowiono, że „dane uzyskiwane w badaniach substancji chemicznych przeprowadzonych w kraju członkowskim OECD w zgodności z Wytycznymi OECD do Badań Substancji Chemicznych oraz Zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej OECD będą uznawane w innych krajach członkowskich, dla celów oceny oraz innych zastosowań związanych z ochroną człowieka i środowiska”. Umożliwia to realizację zasady „jedna substancja – jedno badanie”, uzasadnionej ekonomicznie (unikanie powielania badań substancji w różnych krajach) oraz chroniącej przed cierpieniem zwierzęta laboratoryjne. Ponadto, ujednolicone kryteria ułatwiają wymianę informacji i zapobiegają niebezpieczeństwu powstawania barier w handlu, przyczyniając się do zwiększenia ochrony zdrowia człowieka i środowiska.

Obecnie w Unii Europejskiej System Wzajemnego Uznawania danych regulują następujące akty prawne:

- Decyzja 89/569/EWG o przyjęciu zasad DPL określonych przez OECD [2],
- Dyrektywa 2004/10/WE określająca zasady DPL [3],
- Dyrektywa 2004/9/WE dotycząca monitorowania badań DPL [4].

W ramach odrębnych porozumień Unia Europejska współpracuje w zakresie MAD z Izraelem, Japonią, Szwajcarią, Islandią, Lichtensteinem i Norwegią.

## 1.2 Zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

Dobra Praktyka Laboratoryjna (ang. *Good Laboratory Practice*, GLP) jest to system zapewnienia jakości wymaganych prawem nieklinicznych badań laboratoryjnych, służący ocenie właściwości substancji i preparatów chemicznych z zakresu bezpieczeństwa i zdrowia dla człowieka i środowiska. DPL dotyczy badań substancji i preparatów nowych wykonywanych w celu ich rejestracji, wprowadzenia do obrotu towarowego lub uzyskania licencji czy pozwolenia. Przedmiotem tych badań są substancje chemiczne i ich mieszaniny stosowane w przemyśle, produktach farmaceutycznych, pestycydach, produktach kosmetycznych, produktach medycznych, weterynaryjnych jak i również w dodatkach do żywności i pasz. Natomiast niekliniczne badania laboratoryjne obejmują badania wykonywane w laboratoriach, szklarniach i w terenie.

Zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (DPL) zostały opracowane po to, by promować jakość i wiarygodność wyników badań wymaganych przez obowiązujące regulacje prawne. Jest to koncepcyjne podejście do zarządzania obejmującego procesy organizacyjne i warunki, w jakich badania laboratoryjne są planowane, przeprowadzane, rejestrowane i sprawozdawane. Wiarygodności badań służy stałe monitorowanie ich jakości wykonywane przez Narodowe Jednostki Monitorujące Zgodność z Zasadami DPL, które jednocześnie odpowiadają za prawidłowość funkcjonowania systemu DPL na swoim terytorium jak i spełniają funkcję jednostek kontaktowych dla krajów działających w systemie.

Dobra Praktyka Laboratoryjna jest pojęciem opisującym uporządkowane zasady postępowania praktycznego przy wykonywaniu badań i ściśle określa sposób kierowania badaniem. Kontrolowany jest każdy etap badania, od momentu jego planowania, poprzez wykonanie właściwej części eksperymentalnej, aż po właściwe przechowywanie danych źródłowych i sprawozdań, tak, by możliwe było prześledzenie toku badania lub jego całkowite odtworzenie. Natomiast system ten nie dotyczy badań klinicznych, jak również przepisów prawa w zakresie BHP. Działania również nie obejmują merytorycznej oceny celu, przedmiotu i metodyki badania oraz interpretacji uzyskanych wyników pod kątem bezpieczeństwa stosowania. Zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej OECD zostały po raz pierwszy opracowane przez Grupę Ekspertów ds. DPL powołaną w 1978 roku w ramach Specjalnego Programu Kontroli Substancji Chemicznych, a ich podstawą stały się propozycje dotyczące procedur DPL dla nieklinicznych badań laboratoryjnych, opublikowane w roku 1976 przez Administrację ds. Żywności i Leków Stanów Zjednoczonych (FDA). Stosowanie tych zasad w krajach członkowskich zostało formalnie zalecone przez Radę OECD w 1981 roku Decyzją C(81)30(Final). Po piętnastu latach stosowania, kraje członkowskie uznały, że istnieje potrzeba rewizji i aktualizacji zasad DPL, uwzględniając postęp naukowy i techniczny w obszarze badań bezpieczeństwa stosowania substancji chemicznych. Zrewidowane Zasady DPL OECD zostały zweryfikowane przez właściwe organa Organizacji i zostały zaakceptowane przez Radę w dniu 26 listopada 1997 roku [5].

System DPL został po raz pierwszy implementowany do prawodawstwa polskiego na mocy ówczesnego rozporządzenia Ministra Zdrowia z 2003 roku [6]. Aktualnie w stosunku do zasad DPL obowiązuje rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 maja 2010 roku w sprawie kryteriów, które powinny spełniać jednostki organizacyjne wykonujące badania substancji i preparatów chemicznych, oraz kontroli spełniania tych kryteriów [7].

### 1.3 DPL w systemie REACH

Obecnie DPL jest ściśle powiązany z systemem REACH, który stanowi zintegrowany system rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów. Zgodnie z zapisem art.13 ust. 4 Rozporządzenia REACH [8], w odniesieniu do badań ekotoksykologicznych i toksykologicznych laboratorium musi posiadać certyfikat Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (wymogi co do DPL znajdują się w dyrektywie 2004/10/WE), lub spełniać inne międzynarodowe normy, które Komisja lub Agencja uzna za równoważne. Podobnego obowiązku nie ma w stosunku do badań fizykochemicznych, choć z pierwotnych założeń system DPL miał obligatoryjnie dotyczyć wszystkich badań prowadzonych dla potrzeb REACH. Mimo, iż regulacje prawne nie narzucają wymogu stosowania DPL w każdym zakresie badań, to system ten stanowi uporządkowany i ściśle zdefiniowany sposób pracy laboratorium badawczego, dlatego może być z powodzeniem wdrożony w obszar każdej praktyki laboratoryjnej. Aby zgodnie z terminem uzyskać dobrą czyli rzetelną praktykę laboratoryjną.

## 2. KONTROLA BADANIA

### 2.1 Kierownik badania

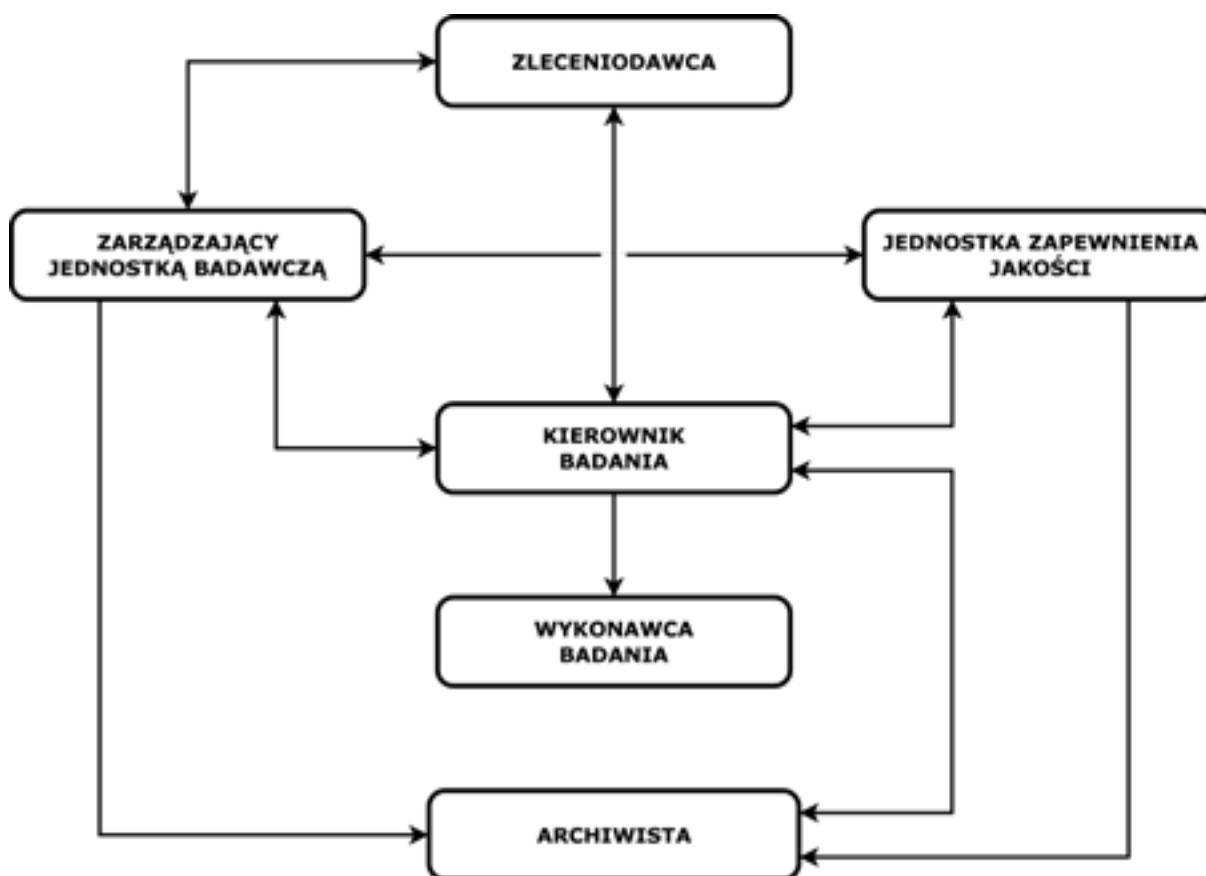
Wytyczne OECD szczegółowo opisują zasady DPL, dlatego też określony jest każdy element tego systemu jakości. Natomiast w obszarze laboratorium badawczego kryteria te muszą być bezwarunkowo przestrzegane. Ponadto zdefiniowana jest odpowiedzialność wszystkich osób powiązanych z badaniem, każdy ma sprecyzowane swoje obowiązki. Nadrzędną funkcję pełni kierownik badania, który ponosi ostateczną odpowiedzialność za naukowy całokształt badania i potwierdza zgodność prowadzenia badania z zasadami DPL. Dlatego też kierownik badania musi wykazywać się dogłębnym zrozumieniem zasad tego systemu, jak i posiadać odpowiednią wiedzę dotyczącą procedur stosowanych w danej jednostce. Szczegółowe kwalifikacje na to stanowisko określa zarządzający jednostką badawczą, który natomiast jest odpowiedzialny za zapewnienie, iż jego jednostka działa zgodnie z zasadami DPL. Wobec powyższego, kierownik badania zapewnia nadzór nad badaniem pod względem naukowym, pod względem sposobu administrowania i zgodności z przepisami.

Do każdego badania powoływany jest kierownik badania, który stanowi jednoosobowy element systemu kontroli badania. Odpowiedzialność za prowadzenie badania przydzielona jest tylko jednej osobie, co wyklucza możliwość przekazywania sprzecznych informacji personelowi badawczemu i mogłoby prowadzić do niewłaściwej realizacji badania. Co więcej projekt/plan każdego badania, z opisem metodyki badawczej lub odniesieniem do odpowiednich procedur badawczych, jak również z wyznaczeniem wykonawców badania jest przygotowany w formie pisemnej i jest udostępniony personelowi, który będzie wykonywał dane badanie. Z tej racji dodatkowo ogranicza się możliwość pomyłek, czy działań niepożądanych, gdyż wyznaczone są osoby, które mają wykonać dany etap badania oraz opisane jest jak mają to wykonać. Wyniki z części doświadczalnej są bezpośrednio przekazywane kierownikowi badania i to on nimi zarządza, przygotowując na ich podstawie sprawozdanie końcowe lub podejmując decyzje o kontynuacji badania. Oczywiście dopuszcza się rozwiązanie, które często jest stosowane, iż kierownik badania również jest wykonawcą danego etapu badania. Jak również jedna osoba może pełnić funkcję kierownika badania w kilku równolegle prowadzonych badaniach.

Pomimo, iż kierownik badania nadzoruje całe badanie, to jego działania również są koordynowane przez zarządzającego jednostką badawczą, który zatwierdza wszystkie dokumenty przygotowane w danym etapie badania oraz weryfikuje poprawność realizacji zasad DPL. Tym samym zarządzający jednostką badawczą pośrednio również kieruje badaniem.

## 2.2 Jednostka Zapewnienia Jakości

Każdy wdrożony system jakości opiera się na udokumentowanej polityce jakości, która wprowadza wymagane kryteria na płaszczyznę działania danej jednostki. Powoływana jest osoba, która jest odpowiedzialna za prowadzenie systemu i gwarantuje prawidłowe jego funkcjonowanie. W DPL te elementy również obowiązują; opracowywany jest Program Zapewnienia Jakości, o który dba Jednostka Zapewnienia Jakości (JZJ). Stanowisko to wyróżniają jego obszerne obowiązki, ponieważ oprócz ogólnego sprawowania pieczy nad systemem, JZJ ma za zadanie kontrolować każde badanie i wszystkie jego etapy. Dobra Praktyka Laboratoryjna ukierunkowana jest jednostkowo, bezpośrednio na każde badanie. Jak już przedstawiono w poprzednim rozdziale, badaniem a konkretnie uzyskanymi wynikami zarządza kierownik badania, nad którym sprawuje kontrolę zarządzający jednostką badawczą i teraz do tego dochodzi Jednostka Zapewnienia Jakości. Powstaje pewnego rodzaju „łańcuch kontrolny” z kilkoma zasadniczymi „punktami kontrolnymi”, dzięki którym uzyskuje się wysoką jakość i wiarygodność badania. Strukturę zarządzania badaniami w systemie DPL przedstawiono schematycznie na rys. 1.



**Rysunek 1.** Struktura zarządzania badaniami w systemie DPL

Jednostka Zapewnienia Jakości nie może uczestniczyć w przeprowadzonym badaniu, ani jako jego wykonawca ani kierownik badania. Natomiast musi posiadać wysokie kompetencje w zakresie realizowanych badań, tj. wykazywać dobrą znajomość metod badawczych, gdyż to ona wyznacza i nadzoruje fazy krytyczne badania. Wymagana jest zarówno wiedza teoretyczna, jak i praktyczna. Gdyż JZJ ocenia przede wszystkim poprawność wykonanego badania zgodnie z opracowanym planem badania i dokumentami odniesienia, jak również weryfikuje zgodność z zasadami DPL.

### 2.3 Kontrolowane etapy badania

Badanie w systemie DPL jest obiektem bezpośredniej kontroli. Wszystkie jego etapy, od „startu” do „mety” są nadzorowane i muszą być prowadzone w zgodności z zasadami DPL.

W badaniach prowadzonych w systemie DPL wyróżnia się 4 główne etapy:

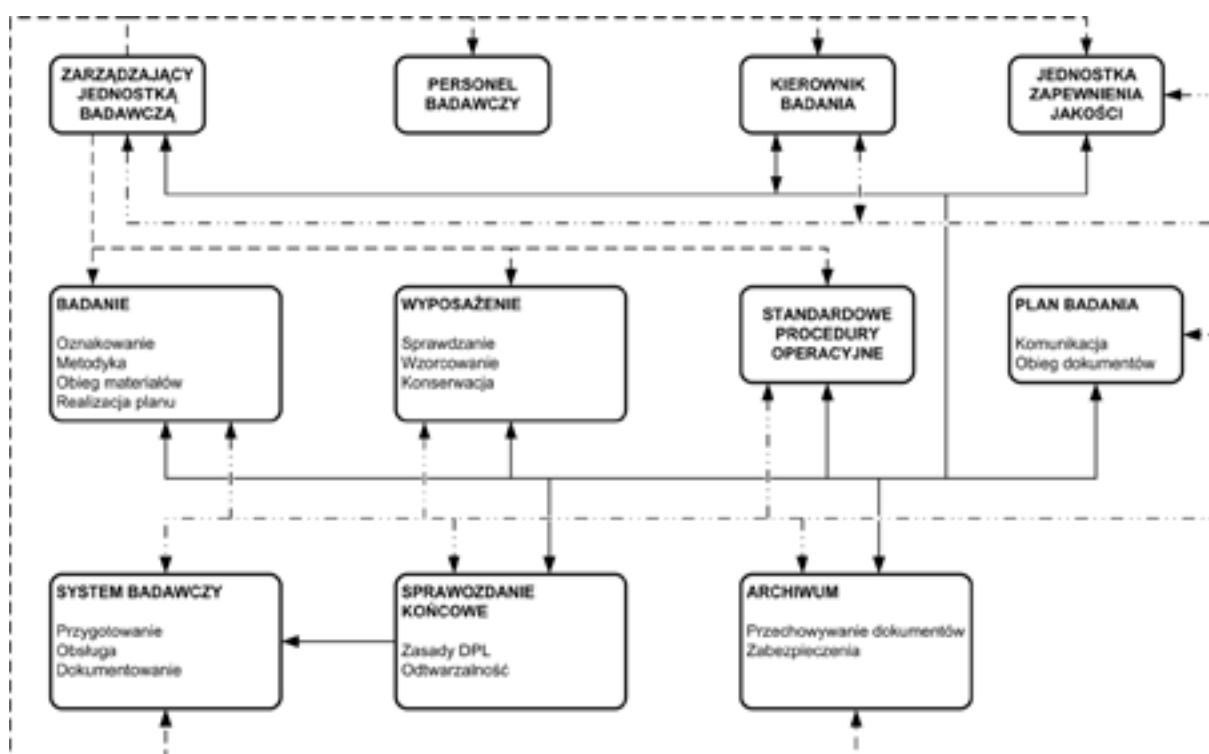
1. planowanie przebiegu badania – przygotowanie w formie pisemnej planu badania,
2. część eksperymentalna – wykonanie pomiarów i kontrola jego faz krytycznych,
3. opracowanie i podsumowanie wyników: przygotowanie w formie pisemnej sprawozdania końcowego,
4. archiwizacja materiału badawczego i dokumentacji.

Po wyznaczeniu kierownika badania, właściwego do zakresu realizowanych prac badawczych, przygotowany jest przez niego w formie pisemnej Plan badania (PB), w którym szczegółowo zaprojektowany jest przebieg badania, z określeniem metodyki badawczej, wykonawców oraz terminu realizacji. Wytyczne OECD wyznaczają szczegółowo jego elementy. Wykonawcy badania podpisują ten dokument, przyjmując tym samym obowiązki do wypełnienia, kolejno jest on zatwierdzany przez zarządzającego jednostką badawczą oraz Jednostkę Zapewnienia Jakości, która weryfikuje pod kątem zgodności z wymaganymi zasadami. Każda z osób podpisujących może zgłosić swoje uwagi do Planu badania, wówczas mogą zostać wprowadzone poprawki w postaci aneksu. Badanie tylko z zatwierdzonym planem badania może być realizowane.

Część eksperymentalna jest prowadzona zgodnie z Planem badania. A stosowane metody badawcze opierają się na udokumentowanych procedurach określających sposób przeprowadzenia badania tzw. Standardowych Procedurach Operacyjnych (SPO). Wszystkie dane uzyskane podczas badania są niezwłocznie parafowane datowanym podpisem i przekazywane kierownikowi badania. Jakikolwiek zmiany danych źródłowych są wprowadzone w sposób umożliwiający odczyt poprzedniego zapisu, z podaniem powodu i również potwierdzone datowanym podpisem. Jednym z ważniejszych elementów tego systemu jakości jest zarządzanie wynikami pomiarów, które bazuje na prostej zasadzie: „**nie zapisane = nie wykonane**”, przez co kompletna dokumentacja badania jest bezwzględnie wymagana. Jeżeli w trakcie badania pojawią się pewne odstępstwa na wskutek nieprzewidzianych okoliczności to przede wszystkim niezwłocznie musi zostać o tym poinformowany kierownik badania, który ocenia czy mają one wpływ na wynik badania i podejmuje decyzje o przerwaniu badania, powtórzeniu danego etapu lub kontynuacji badania bez żadnych zmian. Niemniej jednak wszystkie takie wydarzenia są opisywane i wyjaśniane przez kierownika badania. Taki dokument również musi być zatwierdzony przez zarządzającego, Jednostkę Zapewnienia Jakości i jeśli istnieje taka potrzeba to należy o takim zdarzeniu poinformować również zleceniodawcę. Zapisy te są przechowywane z pełną dokumentacją badania. W trakcie realizacji badania może zostać poszerzony zakres oznaczeń, jeśli zadecyduje o tym kierownik badania lub potrzebę taką zgłosi Zleceniodawca. Wówczas również należy przygotować odpowiedni dokument, zwykle załącznik do Planu badania, w którym również szczegółowo zaplanowany jest eksperyment i również wymaga on zatwierdzenia. W wyniku takiego, niemniej jednak poprawnego działania, ilość przygotowanych dokumentów znacznie wzrasta. Jednak tylko dzięki temu istnieje możliwość prześledzenia całego toku badania i jego niezależne odtworzenie, aby uzyskać właściwy rezultat.

Po wykonaniu zaplanowanej części eksperymentalnej zostaje przygotowane przez kierownika badania sprawozdanie w formie pisemnej, gdzie opisywany jest cały przebieg badań, ze szczególnym uwzględnieniem wprowadzonych zmian, gdy takie występują oraz podsumowane są uzyskane wyniki. Zawartość sprawozdania końcowego również jest ściśle określona w wytycznych OECD. Wymagane są podpisy wszystkich osób wykonujących badanie oraz kierownika badania, który tym samym przyjmuje odpowiedzialność za wiarygodność danych i wykonanie badania zgodnie z zasadami DPL. Sprawozdanie końcowe jeżeli jest poprawnie przygotowane musi zostać zatwierdzone.

Jednostka Zapewnienia Jakości pośrednio lub bezpośrednio uczestniczy w prowadzeniu badania, ponieważ nadzoruje wszystkie omówione powyżej etapy badania. Przygotowuje pisemny raport z inspekcji planu badania, części eksperymentalnej i sprawozdania końcowego. Ponadto jeśli badanie jest długoterminowe lub wymaga tego jego specyfika wykonuje się dwie lub więcej inspekcje części eksperymentalnej, z wnikliwą kontrolą faz krytycznych, czyli czynności podczas których można popełnić błąd. Wówczas sprawdzane są wszelkie zapisy dotyczące nadzoru nad stosowaną aparaturą badawczą, dokumenty odniesienia oraz dane źródłowe. Ta kontrola wykonywana jest bezpośrednio na miejscu badania, przy obecności kierownika i wykonawców. W trakcie realizacji badania istnieje wiele punktów krytycznych, które są nadzorowane na poszczególnych szczeblach zarządzania jednostką – rys. 2. Po wykonaniu inspekcji danego etapu, JZJ przekazuje kopie raportu kierownikowi badania i zarządzającemu jednostką. Wynik pozytywny inspekcji umożliwia realizację kolejnego etapu badania. Jeżeli w trakcie inspekcji zostanie wykryta niezgodność, to wówczas należy przedyskutować jej wpływ na badanie i wykonać stosowne działania korygujące lub w skrajnych sytuacjach następuje dyskwalifikacja badania, gdyż nie może ono być uznane za zgodne z zasadami DPL. Natomiast gdy inspekcje wszystkich etapów badania nie wykazują niezgodności to wówczas przygotowuje się Oświadczenie Jednostki Zapewnienia Jakości, które podsumowuje inspekcje badania i definitywnie potwierdza zgodność z zasadami DPL.



Rysunek 2. Punkty krytyczne w systemie DPL

## 2.4 Archiwizacja dokumentacji

Pełna dokumentacja natychmiast po zakończeniu badania jest przekazywana do archiwum, gdzie przez okres co najmniej 10 lat jest tam przechowywana. W chwili przekazania materiałów do archiwum odpowiedzialność za nie przejmuje zarządzający. Odnośnie samego badania należy archiwizować następujące dokumenty: zlecenie wykonania badania, plan badania i ewentualnie jego załączniki i/lub aneksy (jeśli istnieją), dane źródłowe, wszelkie zapisy dodatkowe, raporty z inspekcji badania oraz sprawozdanie końcowe. Archiwizacja dokumentacji ma na celu nie tylko jej zabezpieczenie przed zniszczeniem, ale przede wszystkim wyklucza możliwość manipulacji danymi. Osoby odpowiedzialne

za archiwum nie mogą uczestniczyć w badaniach, muszą to być osoby postronne. Dlatego też, dostęp do archiwum jest ograniczony, a wszelki wgląd w dokumentację jest odnotowywany i jest możliwy tylko za specjalną zgodą. Obowiązkiem archiwizacji objęty jest również materiał badawczy, jak również pełna dokumentacja systemowa i wszelkie dokumenty związane z działaniem jednostki. W archiwum przechowywana jest kompletna historia – od początku do końca – zachowana „na zawsze”. Dopiero po zabezpieczeniu wyników i materiału badawczego, można uznać badanie za w pełni zrealizowane.

### 3. PODSUMOWANIE

Wszystkie obecnie istniejące systemy jakości organizują pracę jednostki ze szczególnym uwzględnieniem dbałości o jakość wykonywanych badań. A zarządzanie wynikami pomiarów jest ich istotnym elementem. Dobra Praktyka Laboratoryjna ukierunkowuje się na każde badanie jednostkowo, poprzez jego planowanie i standaryzowaną weryfikację, zapewniając tym samym jego jakość i wiarygodność. Wymagana jest inspekcja każdego wykonywanego badania, jego wszystkich etapów. A odpowiedzialność za realizację badania i dokumentowanie uzyskanych wyników spoczywa na kierowniku badania (jednoosobowa odpowiedzialność). Dlatego też wyniki badań generowane w zgodności z kryteriami DPL są uznawane przez kraje partnerskie w ramach porozumienia o wzajemnym uznawaniu danych MAD, do celów oceny szkodliwości substancji chemicznych i innych zastosowań związanych z ochroną człowieka i środowiska.

#### LITERATURA:

- [1] Decyzja C(81)30(Final), Decyzja Rady OECD z dnia 12 maja 1981 r. w sprawie Porozumienia o Wzajemnym Uznawaniu Danych do oceny substancji chemicznych.
- [2] Decyzja Rady 89/569/EWG dnia 28 lipca 1989 r. o przyjęciu decyzji/zalecenia OECD w sprawie kontroli zgodności z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- [3] Dyrektywa 2004/10/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie harmonizacji przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych odnoszących się do stosowania zasad dobrej praktyki laboratoryjnej i weryfikacji jej stosowania na potrzeby badań substancji chemicznych.
- [4] Dyrektywa 2004/9/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie kontroli i weryfikacji dobrej praktyki laboratoryjnej (DPL).
- [5] Decyzja C(97)186/Final, Decyzja Rady OECD z dnia 26 listopada 1997, która zmienia Dyrektywę Rady 87/18/EWG z dnia 18 grudnia 1986 roku.
- [6] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 4 czerwca 2003 roku w sprawie kryteriów, które powinny spełniać jednostki organizacyjne wykonujące badania substancji i preparatów chemicznych, oraz kontroli spełnienia tych kryteriów (Dz. U. Nr 116, poz. 1103, z późn. zm.).
- [7] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 maja 2010 roku w sprawie kryteriów, które powinny spełniać jednostki organizacyjne wykonujące badania substancji i preparatów chemicznych, oraz kontroli spełnienia tych kryteriów (Dz. U. Nr 109, poz. 722).
- [8] Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywy Komisji 1/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE.
- [9] Handbook: Good Laboratory Practice (GLP): Quality practices for regulated non-clinical research and development, Second Edition, World Health Organization, 2009.
- [10] <http://www.chemikalia.gov.pl/index.html>.
- [11] <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/goodlaboratorypracticeglp.htm#>.



**Barbara Sokołowska**  
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego

## Kontrola wewnętrzna w laboratorium mikrobiologicznym – aktualne wymagania na podstawie warsztatów Eurachem (Berlin 2012)

*Przedstawiono wspólne podejście EURACHEM do wewnętrznej kontroli jakości badań w Laboratoriach mikrobiologicznych. Szczególną uwagę zwrócono na: zapewnienie jakości pożywek i testów diagnostycznych stosowanych w Laboratorium, kontrolę prowadzoną równoległe z badaniami i weryfikację osiągnięć metod badawczych w warunkach Laboratorium. Przedstawiono także zasady pracy ze szczepami odniesienia w celu minimalizacji zagrożeń zanieczyszczenia krzyżowego.*

### 1. WPROWADZENIE

Wyniki badań mikrobiologicznych są wykorzystywane do oceny bezpieczeństwa, jakości i zgodności z wymaganiami prawa, badanych materiałów. Wiarygodność wyników ma zasadnicze znaczenie zarówno dla klientów usług laboratoryjnych jak i dla Laboratoriów. Mimo iż regularne uczestnictwo w zewnętrznych programach badania biegłości przyczynia się do zapewnienia wiarygodności wyników, to jednak najlepszym narzędziem do osiągnięcia tego celu jest utworzenie i realizacja szczegółowych programów kontroli wewnętrznej.

### 2. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI BADAŃ

Program wewnętrznej kontroli jakości badań może obejmować zapewnienie jakości pożywek, weryfikację działania testów/zestawów diagnostycznych, kontrolę wykonywaną równoległe z badaniami, regularną weryfikację osiągnięć metod badawczych w warunkach Laboratorium. Częstotliwość tych kontroli zależy od wielu czynników, w tym od poziomu ryzyka, które Laboratorium jest w stanie zaakceptować, wymogów miejscowej organizacji akredytującej, wymagań klientów i częstotliwości przeprowadzania poszczególnych badań.

Nieodłącznym elementem wszelkich programów wewnętrznej kontroli jakości badań mikrobiologicznych jest posiadanie i stosowanie kultur odniesienia. Takie elementy jak wybór szczepów, sposób i miejsce ich przechowywania i pracy z nimi, wymagają starannego rozważenia, gdyż istnieje ryzyko wzajemnego zanieczyszczenia.

#### 2.1 Zapewnienie jakości pożywek

Zapewnienie jakości pożywek obejmuje następujące elementy: kontrola pH (po sterylizacji i dodaniu suplementów), kontrola objętości po sterylizacji (odparowanie), kontrola jałowości, badanie takich właściwości użytkowych jak żywność, selektywność i specyficzność. Zarówno każda partia pożywki przygotowana w Laboratorium jak i każda partia zakupionych gotowych pożywek powinna być kontrolowana.

Takie elementy kontroli jakości żywności jak pH, objętość i jałowość są łatwe, szybkie w realizacji i łatwo je wprowadzić do codziennej pracy Laboratorium. Natomiast badanie cech użytkowych żywności jest czasochłonne, wymaga ciągłego przygotowywania kultur o znanej/określonej liczebności, nie jest łatwe do włączenia w codzienną pracę Laboratorium i niekiedy może stanowić duże wyzwanie dla pracowników.

W praktycznej realizacji zapewnienia jakości żywności pomocne są przewodniki ISO [1, 2] dotyczące przygotowania, wytwarzania i kontroli jakości żywności przygotowywanych w Laboratorium.

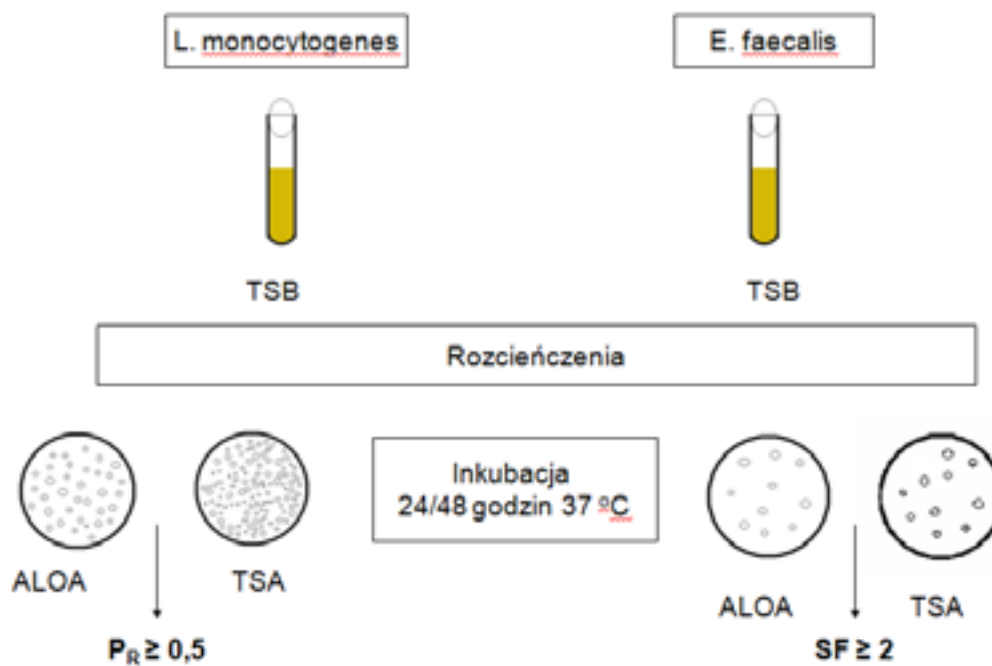
W badaniu cech użytkowych żywności stosowane są metody ilościowe, półilościowe i jakościowe (Rys. 1–6). Szczepy należy namnożyć w bulionie nieselektywnym (hodowla robocza w fazie stacjonarnej), zapewniając ich czystość. Niezależnie od metody stosowane jest standaryzowane inokulum.

Przy badaniu żywności żywności hodowlę roboczą organizmu docelowego należy rozcieńczyć odpowiednim rozcieńczalnikiem tak aby uzyskać:  $10^2$  jtk na płytkę w metodzie ilościowej, od  $10^3$  do  $10^4$  jtk na płytkę w metodzie półilościowej i jakościowej i 10 do 100 jtk dla żywności płynnych.

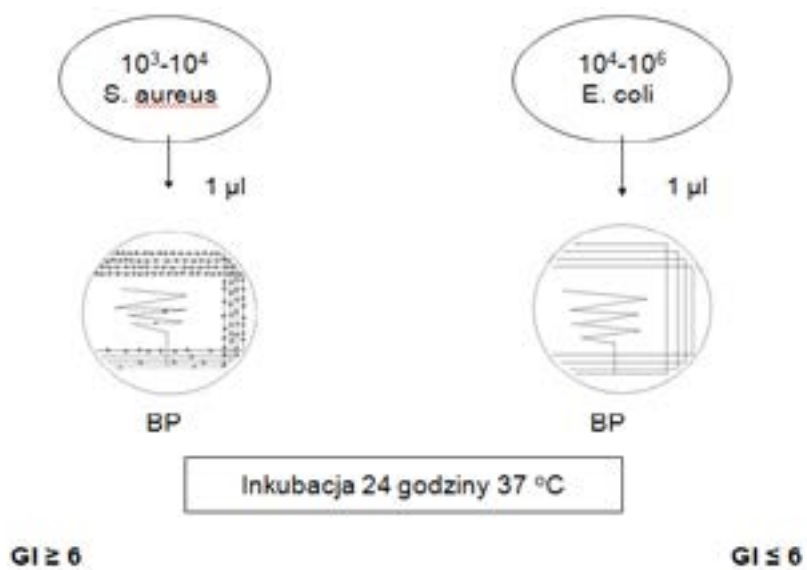
W badaniach selektywności żywności hodowlę roboczą organizmu nie będącego docelowym należy rozcieńczyć odpowiednim rozcieńczalnikiem tak, aby uzyskać: od  $10^4$  do  $10^6$  jtk na płytkę lub probówkę.

**Tabela 1.** ISO/CD 11133:2009 – Załącznik E – przykłady

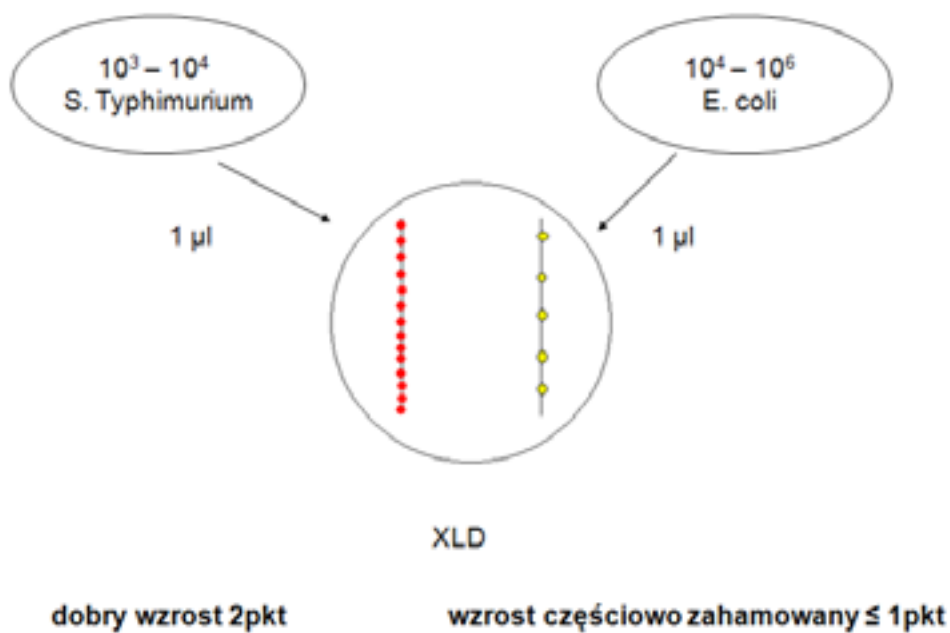
Pożywka	Cecha	Inkubacja	Szczep testowy	Pożywka referencyjna	Metoda kontroli	Kryteria	Charakterystyczne reakcje
Baird – Parker RPF	Żywność	24-48h 37°C	<i>St. aureus</i> ATCC 6538 lub 25923 <sup>b</sup>	TSA	ilościowa	$P_R \geq 0,5$	Czarne / szare kolonie ze strefą przejaśnienia
	Selektywność	48h 37°C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 lub 8739 <sup>b</sup>	-	jakościowa	Całkowite zahamowanie	-
	Specyficzność	24-48h 37°C	<i>St. epidermidis</i> ATCC 12228 lub <i>St. saprophyticus</i> ATCC 15305 <sup>b</sup>	-	jakościowa	-	Czarne / szare kolonie bez strefy przejaśnienia
VRBL	Żywność	24h 30°C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 lub 8739 <sup>b</sup>	TSA	ilościowa	$P_R \geq 0,5$	Purpurowe kolonie z lub bez strefy precypitacji
	Selektywność	24h 30°C	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 lub 19433 <sup>b</sup>	-	jakościowa	Całkowite zahamowanie	-
	Specyficzność	24h 30°C	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	jakościowa	-	Kolonie bezbarwne do beżowych



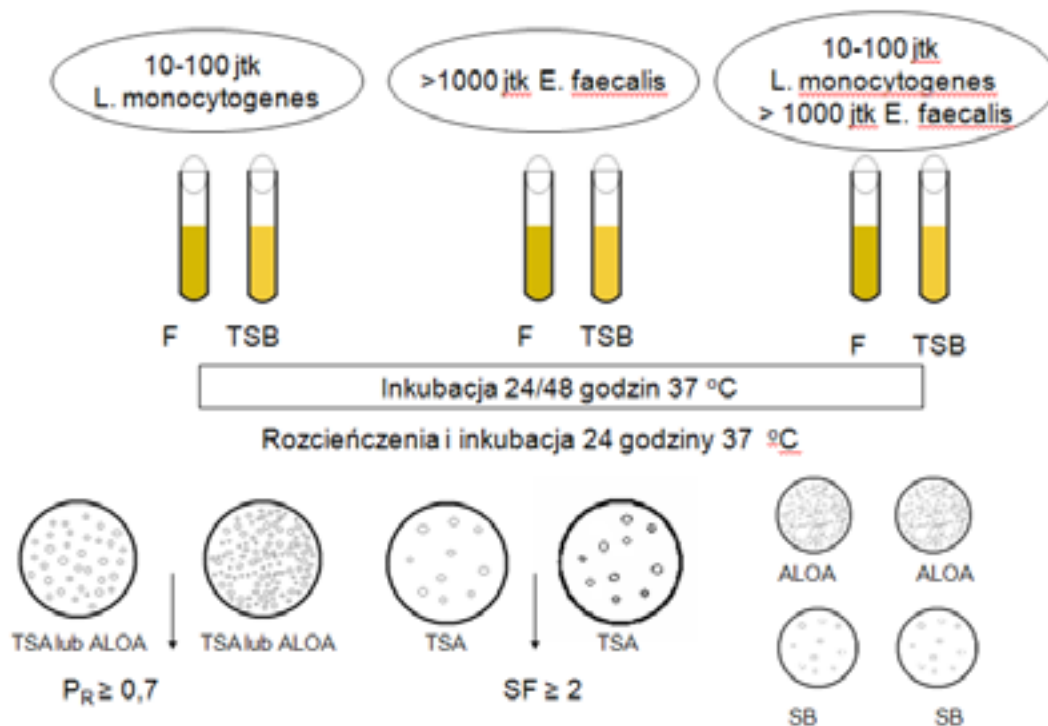
Rysunek 1. Metoda ilościowa dla żywek stałych



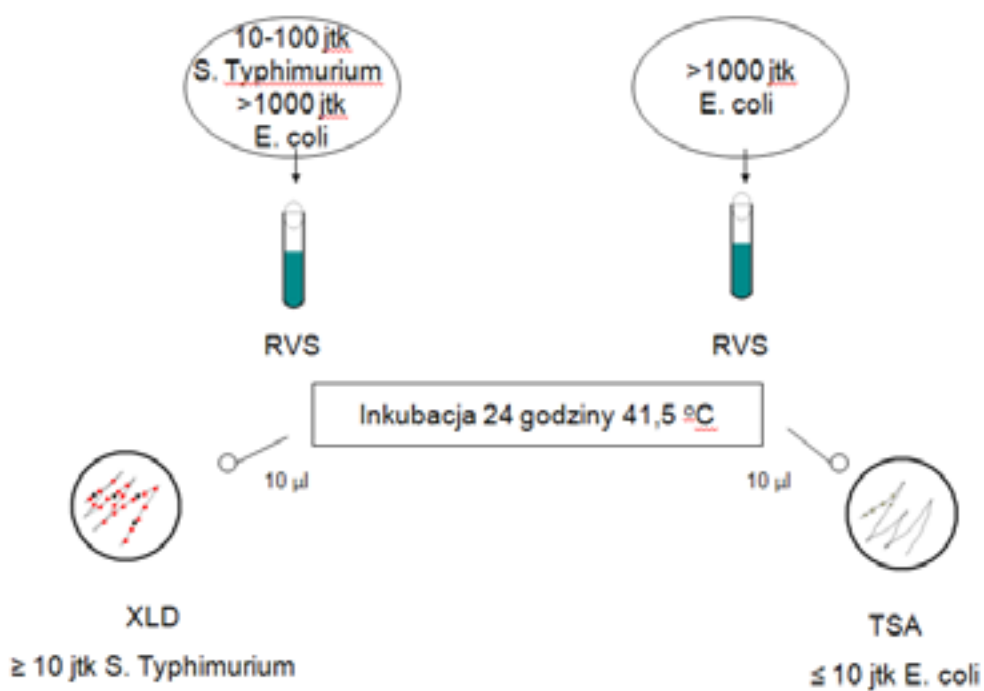
Rysunek 2. Metoda półilościowa dla żywek stałych



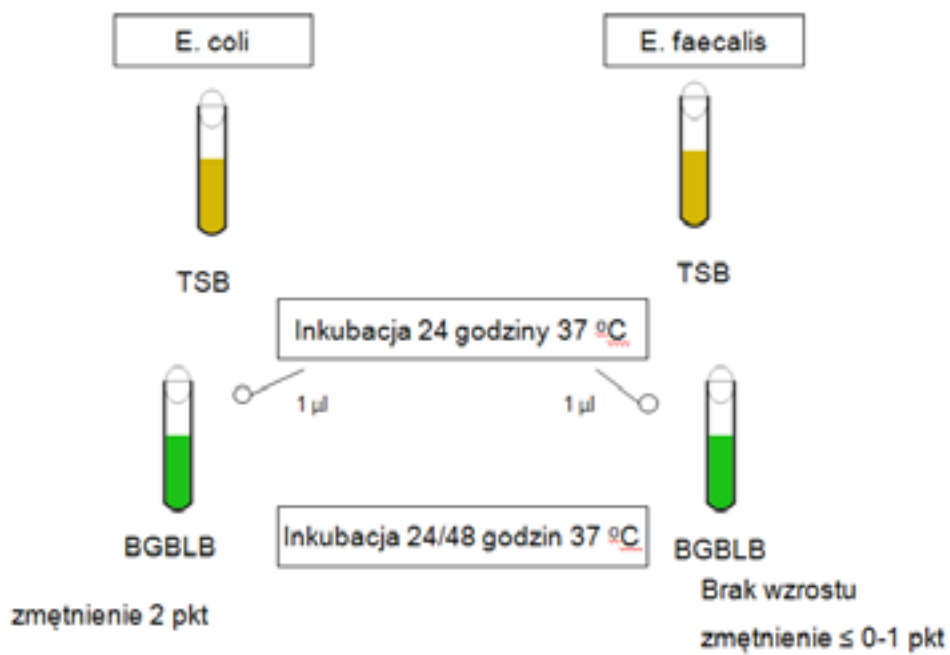
Rysunek 3. Metoda jakościowa dla pożywek stałych



Rysunek 4. Metoda ilościowa dla pożywek płynnych



Rysunek 5. Metoda półilościowa dla pożywek płynnych



Rysunek 6. Metoda jakościowa dla pożywek płynnych

## 2.2 Kontrola jakości testów/zestawów diagnostycznych

Jeżeli możliwe Laboratorium powinno zebrać informacje dotyczące kontroli jakości wykonywanej przez producenta i uzyskać potwierdzenie, że test przeszedł pozytywnie kontrolę producenta. Kontrola w Laboratorium powinna obejmować kontrolę dodatnią i ujemną szczepami odniesienia. W zależności od częstotliwości użycia, instrukcji producenta, wymagań metody i wymagań Laboratorium należy kontrolować testy/zestawy przy każdym użyciu/każdą partię.

## 2.3 Kontrola wykonywana równoległe z badaniami

Rutynowo równoległe z badaniami prowadzona jest kontrola jakości pożywek, rozcieńczalników, pipet i płytek Petriego. Ten sposób postępowania jest pomocny dla wykazania jakości materiałów stosowanych do badań po okresie ich przechowywania.

Zalecana jest także kontrola pozytywna i negatywna poprzez wprowadzenie do pierwszej pożywki namnażającej szczepu i kontynuowanie postępowania jak z próbką [3]. Taki sposób postępowania jest opisany w niektórych normach [4, 5]. Wykonując takie badanie równoległe z badaniem próbek mamy pewność, że zastosowane pożywki, warunki inkubacji, testy umożliwiają wykrycie danego mikroorganizmu w próbce, gdyby był on obecny. Zaletą takiego sposobu postępowania jest również pomoc w interpretacji wyników, np. wybór typowych kolonii. Równoległa kontrola pozytywna i negatywna jest niestety bardzo rzadko wykonywana w polskich Laboratoriach.

## 2.4 Weryfikacja osiągnięć metod badawczych w warunkach Laboratorium

Najczęściej stosowanym w polskich Laboratoriach elementem kontroli jakości ilościowych badań mikrobiologicznych jest badanie próbek powtórzonych i odtworzonych i ocena precyzji uzyskanych wyników. Precyzja wyników może być porównywana z wartościami uzyskanymi w trakcie walidacji lub uzyskiwanymi na poprzednich kartach kontrolnych. Wyniki te służą również monitorowaniu wartości niepewności pomiaru w Laboratorium. W badaniach ilościowych stosuje się także próbki kontaminowane; mogą one służyć ocenie liniowości i odzysku na poziomie istotnym dla Laboratorium.

W metodach jakościowych stosuje się natomiast próbki kontaminowane. Poziom kontaminacji powinien być znany i udokumentowany, odpowiedni do próbek, metod i organizmów jakie wykrywamy. Powinien odzwierciedlać poziom zanieczyszczenia zawarty w specyfikacjach, wymaganiach przepisów prawa. Zaletą jest fakt stosowania próbek naturalnych, zawierających mikroflorę „tła”. Uzyskiwane wyniki mogą służyć do oceny granicy wykrywalności, czułości i specyficzności metod jakościowych i mogą być porównywane z wartościami uzyskanymi w trakcie walidacji. Należy jednak pamiętać, że realizacja badań próbek kontaminowanych przebiega w warunkach idealnych: do kontaminacji stosujemy typowy niezestresowany mikroorganizm, próbki badamy bezpośrednio po wprowadzeniu inokulum.

Inokulum najczęściej jest przygotowywane w Laboratorium. Podobnie jak przy badaniu cech użytkowych pożywek szczepy należy namnożyć w bulionie nieselektywnym (hodowla robocza w fazie stacjonarnej), zapewniając ich czystość. Na rynku dostępnych jest coraz więcej materiałów odniesienia które z powodzeniem mogą być stosowane zarówno w analizach ilościowych jak i jakościowych. Gotowe preparaty mają zalety, m. in. są stabilne i łatwe w użyciu. Jednakże są drogie w codziennym stosowaniu, mogą być niedostępne określone gatunki i/lub określone poziomy. Krajowa organizacja akredytująca może ich jednak nie akceptować jako szczepy odniesienia z powodu zbyt dużej liczby pasaży. Częstotliwość prowadzonych działań zmierzających do weryfikacji osiągnięć metod badawczych może być indywidualnie dobrana przez Laboratorium.

### 3. ZASADY POSTĘPOWANIA ZE SZCZEPAMI

Ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego próbek szczepami odniesienia należy minimalizować poprzez:

- przechowywanie szczepów odniesienia/macierzystych/roboczych oddzielnie od próbek i pożywek,
- organizację badań tak aby próbki kontaminowane badać po próbkach badanych rutynowo w Laboratorium oraz inkubację z dala od badanych próbek,
- stosowanie dedykowanych pipet i/lub końcówek z filtrem,
- przechowywanie szczepów w wyznaczonym obszarze Laboratorium,
- dezynfekcję rąk i powierzchni po pracy z kulturami.

Jako szczepy kontrolne należy stosować rzadko występujące serotypy Salmonella i sprawdzać szczepy Salmonella izolowane z badanych rutynowo próbek surowicami specyficznymi dla szczepów z kolekcji Laboratorium (weryfikacja zanieczyszczenia).

### 4. PODSUMOWANIE

Wewnętrzna kontrola jakości badań jest niezbędna dla wykazania wiarygodności wyników uzyskiwanych każdego dnia w Laboratorium. Niezbędne jest połączenie zarówno prostych metod jak i metod stanowiących wyzwanie dla Laboratorium. Ciągłe utrzymywanie i stosowanie kultur odniesienia jest warunkiem realizacji programu wewnętrznej kontroli. Odpowiednie środki są niezbędne aby identyfikować i zapobiegać możliwościom krzyżowych zanieczyszczeń.

#### LITERATURA:

- [1] PKN-CEN ISO/TS 11133-1:2009 Mikrobiologia żywności i pasz. Wytyczne dotyczące przygotowania i wytwarzania pożywek. Część 1: Ogólne wytyczne dotyczące kontroli jakości pożywek przygotowywanych w Laboratorium.
- [2] ISO/TS 11133-2 Guidelines on preparation and production of culture media Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.
- [3] Christina Oscroft, IQC In Microbiology Testing, Eurachem, Berlin 2012.
- [4] PN-EN ISO 6579:2003 Mikrobiologia żywności i pasz. Wykrywanie obecności Salmonella spp.
- [5] IFU Method no 12 IFU Method No 12, September 2004/revised march 2007. Method on the Detection of taint producing Alicyclobacillus in Fruit Juices.



**Waldemar Korol, Grażyna Bielecka, Jolanta Rubaj**  
Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy  
Krajowe Laboratorium Pasz w Lublinie

## Kryteria wykorzystania wyników badań PT/ILC do oceny obciążenia metody, szacowania niepewności i interpretacji wyników

*Oceniono wyniki wieloletnich badań biegłości (PT) i porównań międzylaboratoryjnych (ILC) pod kątem ich wykorzystania do oceny obciążenia metody i oszacowania niepewności na podstawie podejścia doświadczalnego międzylaboratoryjnego. Niepewność obliczano na podstawie odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej i obciążenia metody z PT/ILC wg Raportu Technicznego Eurolab nr 1/200 i/lub podręcznika Nordtest. Doświadczalne podejście do szacowania niepewności pomiaru na podstawie wyników PT/ILC wzmiankowane jest, oprócz RT Eurolab nr 1/2007 i podręcznika Nordtest, w nowym przewodniku Eurachem/CITAC Guide CG 4 (2012) nt. obliczania niepewności pomiarów analitycznych i w normie ISO 11352:2012. Kryteria wykorzystania wyników to oparcie obliczeń na co najmniej sześciu wynikach PT ( $PT \geq 6$ ), uwzględnianie tylko wyników zadowalających uzyskanych przez laboratorium o wskaźniku  $z < 2$  (najlepiej  $\leq 1$ ) i akceptowanej precyzji PT ( $0,5 < H < 2$ ).*

### 1. WPROWADZENIE

Podstawowe (modelowe) podejście szacowania niepewności pomiaru w laboratorium opiera się na tworzeniu budżetu składowych niepewności i wykorzystaniu prawa propagacji błędów Gauss'a. Podejście to, powszechnie stosowane przez laboratoria, zostało przedstawione w przewodniku GUM [3] i w dostępnym już trzecim wydaniu przewodnika EURACHEM /CITAC [1]. Jednak nie uwzględnienie wszystkich składowych w budżecie niepewności może skutkować jej niedoszacowaniem. Inną przyczyną niedoszacowania niepewności podczas walidacji metody jest nie uwzględnianie obciążenia metody (bias). Ponadto szacowanie niepewności prowadzone jest zwykle podczas walidacji metody i opiera się na badaniu w krótkim okresie czasu dobrze rozdrobionych typowych matryc. Podczas rutynowych badań analizowane są różnorodne matryce a uzyskanie jednorodności niektórych próbek nie jest łatwe. Szacowanie niepewności metodą modelową [3] jest trudne, zwłaszcza w przypadku równoległego badania wielu składników lub w przypadku nietrwałych analitów w nietrwałych matrycach (np. aminokwasy w żywności lub paszy, niektóre badania środowiskowe, badania materiałów biologicznych). Wymaga żmudnego poszukiwania składowych „budżetu niepewności”. Niemniej podejście wg GUM [3] jest nadal podstawowym podejściem do szacowania niepewności pomiaru chociaż należy podkreślić, że norma PN-EN ISO/IEC 17025 nie zaleca stosowania określonego podejścia. Dlatego ważna jest możliwość sprawdzenia niepewności przy wykorzystaniu innych, praktycznych podejść. Podstawy doświadczalnego podejścia do szacowania niepewności pomiaru z wykorzystaniem wyników badań certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) i wyników uczestnictwa laboratorium w badaniach biegłości (PT) lub porównaniach międzylaboratoryjnych (ILC) podano w Raporcie Technicznym (RT) Eurolab nr 1/2007 [2] i w podręczniku Nordtest [4]. Podejścia te, zwane podejściami praktycznymi, zostały wymienione także w najnowszym przewodniku Eurachem/CITAC Guide CG 4 [1]

dotyczącym obliczania niepewności pomiarów analitycznych i w normie ISO 11352:2012 [6]. Wg przewodnika Eurachem/CITAC [1] dane z badań biegłości PT mogą dostarczyć użytecznych informacji do oceny niepewności pomiarów w laboratorium i/lub sprawdzenia niepewności określonej metodą standardową [3]. Zaletą PT jest duże podobieństwo badanych materiałów testowych do rzeczywistych próbek badanych rutynowo w laboratorium. Wadą może być brak możliwości wykazania spójności pomiarowej w przypadku gdy wartość przypisana jest określana na podstawie wyników uczestników. Wobec trudności w pozyskaniu CRM laboratorium może wykorzystać wyniki uczestnictwa w PT/ILC do oszacowania niepewności pomiaru. Szacując niepewność pomiaru analitów na podstawie danych z PT/ILC, niezbędna jest ocena wyników własnych badań jak również ocena jakości i precyzji PT/ILC. Celem pracy było określenie kryteriów wykorzystania wyników PT/ILC do oceny obciążenia metody i niepewności pomiaru oraz wykorzystanie tych parametrów do interpretacji wyników. Wyniki badania niepewności uzyskane na podstawie danych z PT/ILC porównano z uzyskanymi przy wykorzystaniu podejścia modelowego [3] oraz z obliczonymi z równania Horwitz'a [5].

## 2. MATERIAŁY I METODY

Krajowe Laboratorium Pasz IZPIB (KLP), w ramach zadań laboratorium referencyjnego, organizuje od 2004 r. PT/ILC z udziałem laboratoriów krajowych upoważnionych do badań pasz w ramach urzędowej kontroli (laboratoria ZHW i inne upoważnione). Celem tych badań jest ocena kompetencji laboratoriów i wykorzystanie wyników PT/ILC do walidacji i akredytacji metod badań. Przeprowadzono 16 PT i 24 ILC. Do roku 2009 PT/ILC były organizowane zgodnie z przewodnikiem ISO/IEC 43-1 [11] a od 2010 r. zgodnie z normą ISO 17043 [8]. Zbadano 70 próbek materiałów paszowych, mieszanek paszowych pełnoporcjowych i uzupełniających MPU oraz premiksów. Wykonano łącznie 6516 analiz. Informację dotyczącą organizowanych PT/ILC zamieszczono w tab. 1 i 2. Ponadto KLP uczestniczyło w licznych międzynarodowych badaniach biegłości organizowanych przez laboratoria referencyjne krajów UE (Austria, Węgry). Dane z PT/ILC zostały wykorzystane m.in. do oszacowania niepewności na podstawie podejścia doświadczalnego międzylaboratoryjnego.

**Tabela 1.** Badania biegłości wykonane w latach 2004–2012

Lp.	SymbolPT/ILC, rok	Badane składniki, substancje	Liczba lab	Liczba próbek	Ilość analiz
1	PT Pasze 2004	Wilgotność, popiół surowy, popiół nrozp	19	2	314
2	PT Pasze 2005	w HCl, białko ogólne, włókno surowe,	19	2	448
3	PT Pasze 2006	tłuszcz surowy, tłuszcz surowy po hydro-	19	2	536
4	PT Pasze 2007	lizie, skrobia, cukry, chlorki, fosfor, wapń,	23	2	670
5	PT Pasze 2008	magnez, sód, potas, żelazo, mangan,	26	2	728
6	PT Pasze 2009	cynk, miedź, aNDF, ADF i ADL	23	2	693
7	PT Pasze 2010	w materiałach i mieszankach paszowych	23	1	349
8	PT Pasze 2011		26	2	325
9	PT Pasze 2012		23	2	245
10	PT Premiks 2008	Wilgotność, witaminy A, E, B <sub>2</sub> (2008	18	2	386
11	PT Premiks 2010	r.) wapń, chlorki (jako Cl <sup>-</sup> ), fosfor, ma-	21	1	229
12	PT Premiks 2011	gnez, sód, potas, żelazo, mangan, cynk,	23	1	228
13	PT Premiks 2012	miedź, selen, jod, kobalt, arsen, fluor,	24	2	438
		kadm, ołów w premiksach			
14	PT 2008 Azotyny	Azotany (III) w mączce mięsnej	9	1	9
15	PT AA 2012	Aminokwasy (18) w paszach	7	2	178
16	PT Witaminy 2012	Witaminy A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , D <sub>3</sub> , E w paszach	8	2	58
		Razem PT (12)	311	28	5834

**Tabela 2.** Porównania międzylaboratoryjne wykonane w latach 2004–2012

Lp.	Symbol ILC, rok	Badane składniki, substancje	Liczba lab	Liczba próbek	Ilość analiz
1	ILC Wit 2006	Witaminy A, E (octan tokoferolu), B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> ,	5	2	20
2	ILC Wit 2007	D <sub>3</sub> , etoksyquin w mieszankach paszowych	7	2	28
3	ILC Wit 2009	i premiksach	7	1	29
4	ILC Wit 2010		7	2	43
4	ILC Wit 2011		6	2	32
6	ILC Try 2006	Tryptofan	3	2	6
7	ILC Try 2007		4	1	4
8	ILC AA 2009	Aminokwasy (18) w materiałach	6	1	74
9	ILC AA 2010	i mieszankach paszowych	5	2	112
10	ILC AA 2011		6	2	148
11	ILC EQ 2006	Etoksyquin – mieszanką, premiks	3	2	6
12	ILC B2 2007	Witamina B <sub>2</sub> – mieszanka, premiks	5	2	10
13	ILC Se 2006	Selen w preparatach premiksach	9	2	18
14	ILC Se 2007	i mieszankach paszowych	7	2	14
15	ILC Mocznik 2007	Mocznik ( mieszanki, drożdże)	7	3	21
16	ILC Mocznik 2007	Mocznik w mieszankach paszowych	7	3	21
17	ILC Jod 2007	Jod	2	2	4
18	ILC EM 2007	EM w mieszance dla drobiu (białko, tłuszcz, skrobia, cukry)	8	1	44
19	ILC Fluor 2006	Fluor w fosforanach paszowych	4	2	8
20	ILC Fluor 2007		4	1	4
21	ILC Azotyny 2010	Azotany (III) w wysłodkach buraczanych	7	1	7
22	ILC Azotyny 2011	Azotany (III) w materiale paszowym	8	1	8
23	ILC Gossypol 2010	Gossypol w nasionach bawełny	5	1	5
24	ILC Tłuszcze 2012	Liczba kwasowa i nadtlenkowa w tłuszczach	4	2	16
		Razem ILC (24)	136	42	682
		Razem PT i ILC (36) tab 1 i 2	447	70	6516

Jako kryterium oceny własnych wyników przyjęto wskaźnik z (lub zeta –score) stosowany zwykle przez organizatora PT/ILC i uwzględniano tylko wyniki zadowolające. Do oceny jakości i precyzji PT/ILC przyjęto wskaźnik Horwitz'a (HorRat H) obliczony z równania Horwitz'a [5]. Jeżeli wartość wskaźnika HorRat mieściła się w granicach  $0,5 < H < 2$ , uznawano oceniane PT/ILC za wystarczająco precyzyjne. Jeżeli  $H > 3$  wyniki PT/ILC nie były brane pod uwagę przy szacowaniu niepewności pomiaru [7]. Do oceny obciążenia i niepewności pomiaru wykorzystano wyniki PT/ILC w zakresie badania podstawowych składników pokarmowych, białka ogólnego, tłuszczu po hydrolizie, popiołu surowego, włókna surowego, skrobi i cukrów metodami standardowymi wg rozporządzenia 152/2009 [12]. Makroelementy i wybrane mikroelementy oznaczano metodą FAAS (Ca, Mg, Na, K, Mn, Zn, Cu) zgodną z rozporządzeniem 152/2009 [11]. Metodą ETAAS oznaczano kobalt, ołów i kadm natomiast arsen i selen badano metodą HGAAS, zgodnie z zalecanymi procedurami.

Standardowa niepewność złożona ( $u$ ) była obliczana na podstawie odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej ( $s$ ) jako miary precyzji pomiaru i obciążenia metody ( $b$ ) wg wzoru (1). Niepewność rozszerzoną obliczano przy zastosowaniu współczynnika rozszerzenia  $k=2$ .

$$u = \sqrt{s^2 + b^2} \quad (1)$$

Obciążenie obliczano z równania (2) podanego w Raporcie Technicznym Eurolab nr 1/2007 [2]

$$b = \sqrt{\Delta^2 + u_{PT}^2 + \frac{s_{PT}^2}{n}} \quad (2)$$

lub z równania (3) w podręczniku Nordtest [4],

$$b = \sqrt{\Delta^2 + u_{PT}^2} \quad (3)$$

$$\Delta = \sqrt{\frac{\sum (bias_i)^2}{n}} \quad (4)$$

w których:  $\Delta$  – średnie odchylenie wyników laboratorium;  $u_{PT}$  – niepewność wartości przypisanej obliczona wg ISO 13528 ( $u_{PT} = 1.25 s_{PT} / \sqrt{n}$ );  $s_{PT} / \sqrt{n}$  – niepewność pomiarów obciążenia. Do oceny precyzji PT/ILC stosowano wskaźnik HorRat ( $H$ ), obliczony jako iloraz  $\sigma/s_{PT}$  gdzie  $\sigma$  jest docelowym odchyleniem standardowym obliczonym z równania Horwitza w modyfikacji Thompsona [14]  $\sigma = 0,023 \cdot C^{0,826}$  (akceptowane wartości  $0,5 < H < 2$ ) a  $s_{PT}$  jest odchyleniem standardowym z PT/ILC.

### 3. WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki badania obciążenia metod i niepewności pomiarów podstawowych składników pokarmowych w paszach zamieszczono w tab. 3. Niezależnie od zastosowanego równania (2) lub (3) do pomiaru obciążenia metod, różnice pomiędzy wynikami badania obciążenia i niepewności pomiarów były niewielkie i nie przekraczały 0,2% wartości niepewności rozszerzonych, z wyjątkiem metody Luff-Schoorla badania cukrów gdzie różnica wyniosła 0,8% (niska precyzja PT,  $H=2,27$ ). Wg podręcznika Nordtest [4] równanie (3) można stosować w przypadku dużej liczby laboratoriów uczestniczących w PT ( $\geq 30$ ). Jak wykazano w tab. 3, równanie wg Nordtest można z powodzeniem stosować przy mniejszej liczbie laboratoriów uczestniczących pod warunkiem wysokiej precyzji PT ( $H \approx 1$ ).

**Tabela 3.** Ocena precyzji PT i wykorzystanie wyników badania podstawowych składników pokarmowych w paszach do obliczenia obciążenia ( $b, \%$ ) i niepewności pomiaru ( $u, \%$ )

Składnik, zawartość średnia	n PT	n lab /PT	H średnie	s <sub>w</sub> (%)	Równanie (2)			Równanie (3)		
					b (%)	u (%)	U (%)	b (%)	u (%)	U (%)
Popiół, 85 g/kg	25	25	0,80	2,37	2,42	3,39	6,80	2,36	3,35	6,70
Białko, 200 g/kg	21	27	0,48	0,76	2,23	2,36	4,72	2,21	2,34	4,68
Włókno, 36 g/kg	9	21	1,21	3,2	4,76	5,74	11,5	4,65	5,65	11,3
Tłuszcz, 32 g/kg	12	26	1,35	0,76	5,49	5,54	11,1	5,37	5,43	10,9
Skrobia, 400 g/kg	15	16	0,93	1,59	3,33	3,69	7,38	3,26	3,63	7,25
Cukry, 50 g/kg	11	10	2,27	1,12	6,48	6,58	13,2	6,11	6,21	12,4

nPT – liczba PT na podstawie których wykonano obliczenia; n lab – średnia liczba laboratoriów w PT

W przypadku składników mineralnych różnice pomiędzy wynikami badania obciążenia i niepewności pomiarów obliczone wg Nortest [4] i wg Raportu Technicznego Eurolab [2] okazały się zróżnicowane (tab. 4). Dla wapnia, magnezu, sodu, potasu, cynku i miedzi różnice nie przekraczały 0,5% wartości niepewności rozszerzonych. Największe różnice stwierdzono w przypadku manganu, kobaltu, selenu i ołowiu; niepewność obciążenia ( $s_{PT}/\sqrt{n}$ ) dla tych pierwiastków wpływała istotnie na wartość niepewności metody.

**Tabela 4.** Ocena precyzji PT i wykorzystanie wyników badania makroelementów, mikroelementów i pierwiastków toksycznych w paszach do obliczenia obciążenia (b,%) i niepewności pomiaru (u,%)

Pierwiastek, zawartość średnia	n PT	n lab /PT	H średnie	$s_w$ (%)	Równanie (2)			Równanie (3)		
					b (%)	u (%)	U (%)	b (%)	u (%)	U (%)
Ca, 10 g/kg	11	18	1,11	2,4	3,7	4,4	8,8	3,5	4,2	8,4
Mg, 1,8 g/kg	11	18	0,95	2,3	4,5	5,0	10,0	4,3	4,8	9,6
Na, 1,5 g/kg	10	17	0,96	2,7	5,3	6,0	12,0	5,1	5,8	11,6
K, 10 g/kg	10	17	1,14	1,9	4,9	5,3	10,6	4,7	5,1	10,2
Mn, 120 mg/kg	9	20	0,92	2,6	7,4	7,8	15,6	6,1	6,6	13,2
Zn, 170 mg/kg	15	30	0,62	2,5	4,3	5,0	10,0	4,2	4,9	9,8
Cu, 20 mg/kg	12	28	0,60	3,5	5,1	6,2	12,3	4,8	5,9	11,8
Co, 1,0 mg/kg	8	18	0,81	7,2	10,6	12,8	25,6	9,8	12,1	24,2
Se, 0,47 mg/kg	9	12	1,04	4,4	11,1	11,9	23,8	9,7	10,6	21,2
As, 4,3 mg/kg	7	11	0,44	6,1	6,7	9,0	18,0	6,2	8,6	17,2
Cd, 0,70 mg/kg	13	19	0,53	7,8	8,3	11,4	22,8	7,8	11,1	22,2
Pb, 4,0 mg/kg	11	16	0,79	4,7	12,1	12,9	25,8	11,3	12,2	24,4

nPT – liczba PT na podstawie których wykonano obliczenia; n lab – średnia liczba laboratoriów w PT

Wyniki oceny obciążenia metod badania lizyny, metioniny, treoniny i mocznika (tab. 5) wskazywały na brak różnic większych niż 0,4% pomiędzy wartościami obliczonymi z równań (2) i (3), nawet przy niewielkiej liczbie PT ( $\geq 4$ ) i niskiej średniej liczbie laboratoriów uczestniczących w PT (7–9). W przypadku badania tych dodatków należy odnotować wysoką precyzję PT ( $H \approx 1$ ). Przy niższej precyzji PT (witamina A i E,  $H=1,4-1,9$ ) niepewności szacowania obciążenia powinna być uwzględniona przy obliczaniu niepewności (tab. 5). Różnice niepewności rozszerzonych obliczone przy wykorzystaniu równania (2) i (3) wyniosły w przypadku witaminy A i E około 2%.

**Tabela 5.** Ocena precyzji PT i wykorzystanie wyników badania niektórych dodatków paszowych w paszach do obliczenia obciążenia (b,%) i niepewności pomiaru (u,%)

Dodatek, zawartość średnia	n PT	n lab /PT	H średnie	$s_w$ (%)	Równanie (2)			Równanie (3)		
					b (%)	u (%)	U (%)	b (%)	u (%)	U (%)
Wit A, 2000 jmg/g	9	8	1,45	3,4	8,9	9,5	19,0	7,9	8,6	17,2
Wit E, 8 g/kg	9	8	1,93	1,6	7,3	7,5	15,0	6,3	6,5	13,0
Liz, 19 g/kg	21	9	0,77	3,1	3,7	4,8	9,6	3,5	4,6	9,2
Met, 7 g/kg	9	8	1,01	5,4	5,6	7,7	15,4	5,2	7,5	15,0
Tre, 12 g/kg	16	7	0,76	2,7	4,1	4,9	9,8	3,9	4,7	9,4
Mocznik, 38 g/kg	4	7	1,05	2,5	5,6	6,1	12,2	5,4	5,9	11,8

nPT – liczba PT na podstawie których wykonano obliczenia; n lab – średnia liczba laboratoriów w PT

W tabeli 6 porównano niepewności rozszerzone obliczone na podstawie danych z PT/ILC, metodą modelową wg GUM [3] i z równania Horwitz'a [5]. W przypadku podstawowych składników pokarmowych takich jak popiół surowy, włókno surowe, tłuszcz surowy skrobia i cukry, niepewności obliczone wg GUM [3] były niższe, nawet o połowę, od obliczonych na podstawie wyników PT. Uzyskane wyniki mogą być podstawą korekty niepewności badania niektórych podstawowych składników pokarmowych zwłaszcza, że w jednym z międzynarodowych badań biegłości (PT 2012 Węgry) uzyskano dla tłuszczu surowego, skrobi i cukrów zadowalające wartości z-score i dla tych samych składników niezadowalające wartości liczby En. W przypadku składników mineralnych badanych metodą FAAS (Ca, Mg, Na, K, Mn, Zn) uzyskano dużą zgodność niepewności obliczonych wg GUM z obliczonymi na podstawie wyników PT/ILC. Możliwe jest przyjęcie dla tych pierwiastków (również dla miedzi) niepewności pomiaru obliczonych na podstawie wyników PT i wykorzystanie do sterowania jakością badań, np. wg zaleceń NATA [9]. W przypadku kobaltu, selenu, arsenu kadmu i ołowiu niepewności pomiaru obliczono na podstawie podejścia doświadczalnego wewnątrzlaboratoryjnego z wykorzystaniem CRM (tab. 6). Były one zbliżone do uzyskanych z PT i z reguły niższe od obliczonych z równania Horwitz'a [5]. Niepewności pomiaru witamin A i E obliczone na podstawie wyników PT/ILC były wyższe od uzyskanych z równania Horwitz'a ale możliwe do zaakceptowania ( $H < 2$ ; patrz tab. 5). W przypadku aminokwasów: lizyny, metioniny i treoniny stosowano w laboratorium niepewność obliczoną na podstawie wyników PT/ILC z lat 2004–2008 (tab. 6). Porównanie tych wartości z obliczonymi na podstawie aktualnych danych z PT/ILC wskazuje na potrzebę korekty niepewności pomiaru treoniny. Niepewność pomiaru mocznika obliczona metodą wg GUM była zbliżona do uzyskanej prezentowaną tu metodą na podstawie wyników ILC (tab. 6).

**Tabela 6.** Porównanie wyników badania niepewności rozszerzonych na podstawie danych z PT/ILC, obliczonych metodą modelową wg GUM [3] i obliczonych z równania Horwitz'a [5], U (%)

Badany składnik, zawartość średnia	PT/ILC	Wg GUM	Horwitz	Badany składnik, zawartość średnia	PT/ILC	Wg GUM	Horwitz
Podstawowe składniki pokarmowe							
Popiół, 85 g/kg	6,8	4,0	5,8	Tłuszcz, 32 g/kg	11,1	4,0	6,7
Białko, 200 g/kg	4,7	4,0	5,1	Skrobia, 400 g/kg	7,4	3,0	4,6
Włókno, 36 g/kg	11,5	7,0	6,6	Cukry, 50 g/kg	13,2	6,0	6,2
Składniki mineralne i pierwiastki toksyczne							
Ca, 10 g/kg	8,8	10,0	8,0	Cu, 20 mg/kg	12,4	18,0 h	20,3
Mg, 1,8 g/kg	10,0	8,0	10,3	Co, 1,0 mg/kg	25,6	24,0*	31,8
Na, 1,5 g/kg	12,0	12,0	10,6	Se, 0,47 mg/kg	23,8	15,0*	35,6
K, 10 g/kg	10,6	9,0	8,0	As, 4,3 mg/kg	18,0	25,0*	25,5
Mn, 120 mg/kg	15,6	12,0	15,5	Cd, 0,70 mg/kg	22,8	24,0*	33,5
Zn, 170 mg/kg	10,0	10,0	14,7	Pb, 4,0 mg/kg	25,8	16,0*	25,8
Wybrane dodatki paszowe							
Wit A, 2000 jm/g	19,0	-	12,2	Met, 7 g/kg	15,4	15,0 a	8,4
Wit E, 8 g/kg	15,0	-	8,2	Tre, 12 g/kg	9,8	17,0 a	7,8
Liz, 19 g/kg	9,6	10,0 a	7,2	Mocznik, 38 g/kg	12,2	10,0	6,6
* niepewność obliczona na podstawie podejścia doświadczalnego wewnątrzlaboratoryjnego z wykorzystaniem CRM; h – obliczono z równania Horowitz'a; a – obliczono z PT/ILC w latach 2004–2008							

Oceniając możliwości wykorzystania wyników uczestnictwa w PT/ILC do sterowania jakością badań przytoczono przykład oceny stopnia odzysku witaminy A, badanej metodą HPLC [12] w mieszankach

paszowych, określonego podczas walidacji na poziomie 96,0%. Testem Studenta-t nie stwierdzono różnic pomiędzy uzyskanym odzyskiem a odzyskiem pełnym (100%). Jednak analiza wyników badania witaminy A w mieszankach paszowych, uzyskanych przez laboratorium w PT/ILC, wskazywała na przewagę wyników o ujemnych wartościach z-score. W tabeli 7 podano wyniki przeliczenia danych z PT/ILC na odzysk 100%. Uzyskano niższe wartości z-score, niższe obciążenie metody i w rezultacie niższą o 3% niepewność rozszerzoną. Przytoczony przykład potwierdza potrzebę korekty wyników badania na 100% odzysk, nawet w przypadku braku (jak w tym przypadku) statystycznie istotnej różnicy pomiędzy uzyskanym odzyskiem a odzyskiem 100%.

**Tabela 7.** Wykorzystanie wyników PT do oceny stopnia odzysku witaminy A w mieszankach paszowych (96,0%)

Odzysk,%	n PT	n lab/PT	z-score	b, %	u, %	U, %
96,0	9	15	0,63	10,75	11,47	22,9
100	9	15	0,54	9,20	10,04	20,1

Niepewność jest użyteczna do wyrażania wyników pomiaru badanych składników lub substancji niepożądanych w sprawozdaniu z badań i do interpretacji wyników badań. W przypadku badania pasz niepewność pomiaru jest stosowana do (i) oceny maksymalnych zawartości dodatków paszowych w mieszankach paszowych, (ii) oceny zawartości substancji niepożądanych w stosunku do wymagań określonych w przepisach i (iii) oceny informacji podawanych na etykiecie dotyczących dodatków paszowych w połączeniu z dopuszczalnymi tolerancjami w rozporządzeniu Komisji (UE) nr 939/2010 [13]. Na wynikach badań międzylaboratoryjnych, w tym badań PT, opiera się niemiecki i węgierski system urzędowej kontroli pasz i interpretacji wyników badań [10, 15].

W części A załącznika do rozporządzenia Komisji 939/2010 [13] dopuszczalne tolerancje dla składników paszy, umieszczanych na etykiecie pod nagłówkiem „składniki analityczne”, zawierają tolerancje techniczne i analityczne (niepewności rozszerzone). Odnoszą się zatem do dopuszczalnych odchyleń w produkcji (np. błędy niehomogeniczności) i błędów analitycznych tj. błędów przy pobieraniu i przygotowaniu próbek oraz błędów podczas analizy. W tym przypadku do oceny zgodności wystarczy potwierdzenie, że uzyskany średni wynik mieści się w granicach dopuszczalnych tolerancji podanych w części A załącznika do rozporządzenia Komisji 939/2010 [13].

Wartości w części B załącznika do rozporządzenia Komisji 939/2010 [13] odnoszą się do dodatków paszowych i dotyczą tylko tolerancji technicznych producenta, tj. maksymalnych akceptowanych błędów wytwarzania paszy (np. błędy niehomogeniczności, utraty aktywności składnika w końcu okresu przechowywania). Niepewności pomiarów muszą być zatem brane pod uwagę w celu sprawdzenia wartości deklarowanych przez producenta. Jeżeli przedział niepewności pomiaru i przedział tolerancji technicznej mają część wspólną, wynik badania należy ocenić jako zgodny z deklaracją. Podobnie, jeżeli maksymalna zawartość dodatku w mieszance paszowej mieści się w przedziale niepewności wyniku, wynik jest interpretowany jako zgodny z wymaganiami.

W przypadku substancji niepożądanych, zgodnie z rozporządzeniem 152/2009 [12], wynik należy uznać za niezgodny tylko w takim przypadku gdy dolna granica przedziału tolerancji analitycznej (niepewności) jest powyżej maksymalnej zawartości.

W podsumowaniu można sformułować następujące kryteria wyboru i wykorzystania wyników badań PT/ILC do oceny obciążenia metody i szacowania niepewności:

- uwzględnianie PT/ILC organizowanych zgodnie z normą ISO 17043 o zadowalającej precyzji, której miarą jest wskaźnik HoRrat H mieszczący się w granicach  $0,5 < H < 2$ . Jeżeli  $H > 3$  wyniki PT/ILC nie powinny być brane pod uwagę przy szacowaniu niepewności pomiaru;
- uwzględnianie tylko wyników o zadowalających wskaźnikach przyjętych przez organizatora (z-score, zeta-score);

- przy liczbie PT/ILC  $\geq 6$ , wartości HorRat  $\approx 1$  (korzystnie  $H \leq 1$ ) i liczbie laboratoriów uczestniczących w PT/ILC  $\geq 10$ , można nie uwzględniać niepewności obciążenia ( $s_{PT}/\sqrt{n}$ ) przy obliczaniu niepewności pomiaru (równanie wg Nordtest); w innym przypadku niepewność pomiaru powinna być uwzględniona a obciążenie (b) obliczone wg równania podanego w przewodniku Eurolab RT 1/2007;

#### 4. PODSUMOWANIE

Przedstawiony sposób obliczania obciążenia na podstawie wyników PT/ILC odnosi się do obciążenia metody i laboratorium.

Niepewność obliczona na podstawie wyników PT/ILC może być wykorzystana do sprawdzenia niepewności metody obliczonej wg GUM.

Wyniki PT/ILC laboratoriów upoważnionych do badań w ramach urzędowej kontroli mogą być wykorzystane do budowy spójnego systemu oceny niepewności i interpretacji wyników badań.

#### LITERATURA:

- [1] Ellison S.L.R., Williams A. (Eds) Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements, Third edition, (2012) ISBN 978-0-948926-30-3. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
- [2] EUROLAB Technical Report 1/2007. Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Eurolab, Paris 2007. Wydanie polskie: Biuletyn POLLAB Nr 1/48/2007.
- [3] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). 1993. Wydanie PL: Wyrażanie niepewności pomiaru. Przewodnik. Wyd. Główny Urząd Miar, Warszawa 1999.
- [4] Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Nordtest TR 537, Version 3, 2008. Wydanie polskie: Biuletyn POLLAB Nr 2/51/2008.
- [5] Horwitz W., Albert R.: The Horwitz Ratio (HorRat). A useful index of method performance with respect to precision. J AOAC International 2006, 89, 1095–1109.
- [6] International Standard ISO 11352:2012. Water quality – Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data.
- [7] Korol W., Rubaj J., Bielecka G., Walczyński S.: Evaluation of bias of feed component measurement using data from proficiency testing. Eurachem Workshop on Validation / Traceability / Measurement Uncertainty Challenges for the 21<sup>st</sup> Century's Analysts. Berlin, 21–22 May 2012.
- [8] Norma PN-ENISO/IEC 17043:2010. Ocena zgodności. Ogólnymaganie dotyczące badania biegłości.
- [9] NATA Technical Note 33- Guidelines for estimating and reporting measurement uncertainty of chemical results, December 2009, Australia.
- [10] Permissible deviations in the interlaboratory tests. Departmental order No: 43/2003 (IV.26) FVM, Annex 15, Ministry of Agriculture, Hungary 2003.
- [11] Przewodnik ISO/IEC 43-1:1997. Badania biegłości poprzez porównania międzylaboratoryjne. Część 1. Projektowanie i realizacja programów badania biegłości. PKN Warszawa 2004 [zastąpiono poz. 8].
- [12] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 152/2009 z dnia 27 stycznia 2009 r. ustanawiające metody pobierania próbek i dokonywania analiz do celów urzędowej kontroli pasz. Dz. Urz. UE L 54/1 z 26.02.2009.
- [13] Rozporządzenie Komisji (UE) 939/2010 z dnia 20 października 2010 r. zmieniające załącznik IV rozporządzenia (WE) nr 767/2009 (Dz. Urz. UE L 277/4, 21.10.2010).
- [14] Thompson M.: The amazing Horwitz function. AMC Technical Brief No. 17, July 2004 (amc\amctb\statssc\horwitzb\_v2.doc).
- [15] VDLUFA Method Book Volume III, The chemical analysis of feedstuffs, 3. Edition 1976, 8. Suppl 2012. Analytical tolerances. 32.1. VDLUFA-Publisher, Darmstadt, 2012.

**Ewa Brykalska**

Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Opolu

## Zarządzanie ryzykiem w laboratorium – ryzyko w organizacji i jego konsekwencje

*Celem referatu będzie przedstawienie problematyki dotyczącej zagadnienia „ryzyka”, które w pracy laboratorium nabiera coraz większego znaczenia, w związku z jego istotnym miejscem w strategii (kontroli zarządczej) organizacji. Laboratorium, aby sprawnie funkcjonować, musi wypracować pewien system zarządzania swoimi zasobami i działaniami, uwzględnić priorytety „jakości” tzn. poszukiwać możliwości stałego doskonalenia. Zwłaszcza w kontekście niespodziewanych uwarunkowań, które wpływają negatywnie na wyniki badań/pomiarów, a w konsekwencji na zdolność do zaspokajania stwierdzonych i przyszłych potrzeb klienta. Jednym z elementów zapewnienia jakości tych badań/ pomiarów, jest ocena ryzyka. Dlatego tak ważne jest poszerzenie wiedzy na temat „zarządzania ryzykiem” aby efektywnie wykorzystywać otrzymywane dane, umożliwiające dogłębną analizę zagrożeń dla realizacji celów.*

Ryzyko towarzyszy każdemu naszemu przedsięwzięciu – w różny sposób. Najczęściej kojarzy się z niebezpieczeństwem niepowodzenia różnego rodzaju działań, zaś negatywne jego efekty kojarzone są przeważnie z „bezpieczeństwem i higieną pracy” czy z trudnościami finansowymi.

Od jakości poszczególnych elementów wykonywanych badań/pomiarów zależy jakość całego systemu zarządzania w laboratorium. Dla wszystkich nas, pracowników laboratoriów inspekcyjnych, w najbliższym czasie jednym z największych wyzwań będzie stworzenie procedur, które wyeliminują ryzyko wystąpienia błędów w naszej pracy: stworzenia jednolitego zestawu reguł, które będą gwarantowały klientowi, że wybrane przez niego laboratorium spełnia wszystkie wymogi w obszarze tak bezpieczeństwa (wiarygodność i zaufanie) jak i kompetencji. Reguły te powinny określać zasady organizacji pracy, zakres odpowiedzialności poszczególnych pracowników oraz co ważne, schemat właściwego przepływu informacji o klientach i próbkach od momentu ich pobrania aż po wydanie sprawozdania z badań (zwolnienie wyrobu) [1,3,5,6,7,8].

Przeanalizowanie zatem istotnych źródeł ryzyka, mających wpływ na realizację dowolnych działań w laboratorium jest ważnym i trudnym problemem. Brak ustalonej metodyki oceny ryzyka może być źródłem błędnych decyzji i dotkliwych konsekwencji, nie tylko finansowych.

Dlatego tak ważne jest poszerzenie wiedzy na temat „zarządzania ryzykiem”, aby efektywnie wykorzystywać otrzymywane dane, często rozproszone w komórkach organizacyjnych, „systemach informacyjnych”, umożliwiające dogłębną analizę zagrożeń dla realizacji celów.

### 1. ZDEFINIOWANIE CZYM JEST RYZYKO W PRACY LABORATORYJNEJ

Pojęcie ryzyka nie jest zagadnieniem nowym, posługujemy się nim w języku potocznym niemal codziennie. Słowo „ryzyko” do języka polskiego zaczerpnięto z niemieckiego słowa „das Risiko”, które

z kolei pochodzi od starożytnego „risicare” – odważyć się, podjąć wyzwanie. Zdefiniowanie ryzyka jest zadaniem niezmiernie trudnym, ustalenie jednoznacznej definicji jest wręcz niemożliwe. Najczęściej kojarzy się z niebezpieczeństwem niepowodzenia różnego rodzaju działań i definiowane jest jako niebezpieczeństwo poniesienia straty, w tym straty rozumianej jako niekorzystne oddziaływanie na zdrowie, środowisko, możliwość wystąpienia działania szkodzącego lub nieosiągnięcia celu. Można je także określić jako taką sytuację, w której przyszłych warunków prowadzenia działań, badań, pomiarów nie można przewidzieć z całą pewnością, znany jest natomiast rozkład prawdopodobieństwa wystąpienia tych warunków.

Istnieje wiele rodzajów nauk, teorii, wyjaśnień dotyczących ryzyka [2,3,4,5,6]:

**Ryzyko** – możliwość urazu lub straty zdefiniowana jako miara prawdopodobieństwa i dotkliwości negatywnych skutków dla zdrowia, mienia, środowiska lub innych wartości (CAN / CSA-Q850-97);

**Ryzyko** – możliwość, że zdarzy się coś, co wpłynie na cele; mierzone pod względem konsekwencji i prawdopodobieństwa (AS / NZS 4360:2004);

**Ryzyko** – niepewność wpisana w plany oraz możliwość, że zdarzy się coś (np. nieprzewidziana sytuacja), co może wpłynąć na perspektywy realizacji celów przedsiębiorstwa lub projektu (BS 6079-3:2000);

**Ryzyko** – kombinacja prawdopodobieństwa zdarzenia i jego konsekwencji (ISO GUIDE 73:2001);

**Ryzyko** – niepożądana sytuacja lub okoliczność, którą cechuje zarówno prawdopodobieństwo wystąpienia, jak i potencjalne negatywne konsekwencje dla projektu (EN ISO 17666:2003);

**Ryzyko** – wpływ niepewności na cele (ISO 31000:2009 E/ISO GUIDE 73:2009);

**Ryzyko związane z bezpieczeństwem informacji** – potencjalna sytuacja, w której określone zagrożenie wykorzysta podatność aktywów lub grupy aktywów, powodując w ten sposób szkodę dla organizacji (PN-ISO / IEC 27005:2009);

**Ryzyko przedsięwzięcia** – kombinacja prawdopodobieństwa wystąpienia zdarzenia i jego konsekwencji dla celów przedsięwzięcia (PN-IEC 62198:2005);

**Ryzyko** – prawdopodobieństwo, że określone zagrożenie wykorzysta podatność zasobów lub grupy zasobów, aby spowodować straty lub zniszczenie zasobów (PN-I-13335-1:1999 (ISO / IEC TR13335-1:1996).

**Podsumowując: ryzykiem określa się prawdopodobieństwo wystąpienia szkody oraz skutków tej szkody.**

A w laboratorium możemy ująć ryzyko jako:

- czynnik uwzględniający rezultaty rzeczywiste i oczekiwane,
- prawdopodobieństwo wyniku innego niż oczekiwany,
- niepewność,
- niebezpieczeństwo (BHP),
- możliwość wystąpienia straty (i to nie tylko finansowej).

## 2. ZASADY ZARZĄDZANIA RYZYKIEM – KONCEPCJA ZARZĄDZANIA RYZYKIEM JAKOŚCI

Ryzyko w pracy laboratoryjnej występuje zawsze i nie można go wyeliminować. Można je natomiast ograniczać (redukować) poprzez rozpoznawanie (identyfikowanie), kształtowanie, analizowanie różnego rodzaju zdarzeń (które potencjalnie mogą wywoływać niepożądane lub pożądane zmiany w procesie lub w wyrobie), opracowaniu odpowiedzi na wypadek wystąpienia ryzyka, odpowiednią kontrolę realizacji, dywersyfikację (zróznicowanie i rozproszenie) działalności oraz racjonalizację ryzyka, czyli podejmowanie decyzji z uwzględnieniem wyników analiz poziomu ryzyka. Jednym z narzędzi identyfikacji ryzyka jest zarządzanie ryzykiem. Można je określić jako podejmowanie decyzji i realizację działań prowadzą-

cych do osiągnięcia niskiego (akceptowalnego) poziomu ryzyka. Dlatego zarządzanie ryzykiem jest coraz powszechniej stosowanym narzędziem doskonalenia zarządzania laboratorium [2,4,5,8].

Cele zarządzania ryzykiem

- Wiedzieć szybciej!!!
- Móc reagować natychmiast!!!
- Podejmować właściwe decyzje!!!

W systemie zarządzania jakością zwraca się uwagę na takie aspekty jak:

- stworzenie odpowiednich warunków pracy,
- identyfikowanie i kształtowanie czynników, które mają na nie wpływ,
- zapewnienie niezbędnych zasobów,
- utrzymanie „porządku”.

Należy także pamiętać, iż w systemie zarządzania jakością w laboratorium za jakość odpowiadają wszyscy pracownicy. Działania związane z zarządzaniem ryzykiem w jakości zazwyczaj, choć nie zawsze podejmowane są przez „zespoły”. W skład „zespołu” powinni wchodzić pracownicy posiadający także wiedzę na temat procesu zarządzania ryzykiem w jakości. Osoby podejmujące decyzje powinny:

- być odpowiedzialne za koordynację zarządzania ryzykiem w jakości na wszystkich etapach działania i w różnych komórkach organizacyjnych laboratorium,
- zapewnić, że proces zarządzania ryzykiem w jakości został zdefiniowany, udokumentowany, wdrożony i podlega przeglądowi z udziałem kompetentnych osób.

Według normy ISO 31000 (Risk Management – Principles and guidelines), prawidłowo wdrożony i realizowany system zarządzania ryzykiem powinien [2]:

- tworzyć i chronić wartość, a więc wspierać osiągnięcie celów oraz zwiększać efektywność laboratorium;
- stanowić integralną część wszystkich procesów organizacyjnych, a w szczególności zarządzania, pozostawać w zakresie odpowiedzialności zarządzających;
- stanowić element podejmowania decyzji, co oznacza, że ryzyko powinno być jednym z kryteriów hierarchizacji celów, projektów i zadań oraz motywować zarządzających do przedstawiania alternatywnych scenariuszy zdarzeń i decyzji;
- wyraźnie uwzględniać kwestie niepewności w przyjętych celach, scenariuszach oraz ryzyku z nimi związanym;
- być realizowany w sposób systematyczny, ustrukturyzowany i określony terminowo, ponieważ nie jest to czynność jednorazowa, lecz powtarzalny proces;
- bazować na najlepszych dostępnych informacjach, w tym danych historycznych, doświadczeniach, informacji zwrotnej od klientów, prognozach, obserwacjach, ocenach eksperckich i rozbieżnych opiniach. Poziom szczegółowości gromadzonych informacji o ryzyku powinien być zatem dostosowany do złożoności struktury laboratorium, procesów, specyfiki, badanych próbek, czy też procesów komunikacji z klientami;
- dostosować się do specyfiki organizacji, co oznacza, że nie ma jednego skutecznego systemu zarządzania ryzykiem;
- brać pod uwagę czynniki ludzkie i kulturowe, pamiętając, iż przejawem kultury zarządzania ryzykiem jest sytuacja, w której pracownicy mogą zgłaszać informacje o zagrożeniach bez obaw o konsekwencje służbowe. Kreowanie kultury akceptacji ryzyka wydaje się najtrudniejszym elementem systemu zarządzania ryzykiem, szczególnie w dużych organizacjach;
- być transparentny i dotyczyć wszystkich szczebli decyzyjnych w organizacji/ laboratorium, gdyż odpowiednie do zakresu i możliwości czasowych angażowanie klientów oraz decydentów na wszyst-

kich szczelbach organizacji gwarantuje, że zarządzanie ryzykiem jest adekwatne i zawiera aktualne informacje ekspozycji firmy na ryzyko związane z realizacją celów;

- być dynamiczny, iteracyjny oraz reagować na zmiany, które mogą powodować przesunięcia w hierarchii ryzyka, np. pojawienie się nowych niebezpieczeństw lub dezaktualizacja części z nich. W zależności od specyfiki danego ryzyka i jego dynamiki, organizacje powinny w odpowiedzi podejmować długookresowe decyzje i działania podnoszące odporność na ryzyko natury strategicznej bądź krótkookresowe i szybkie akcje nakierowane na istotne i dynamiczne ryzyka operacyjne;
- ułatwiać ciągłe doskonalenie organizacji, ponieważ w zarządzaniu ryzykiem, tak jak w innych metodach zarządzania, organizacje uczą się, a w rezultacie osiągają dojrzałość stosowanych mechanizmów i efektywność procesową, organizacyjną i biznesową (w ramach cyklu PDCA).

## 2.1 Zarządzanie ryzykiem jest procesem a nie jednorazowym przedsięwzięciem.

W praktyce trudno jest całkowicie wyeliminować ryzyko – dawniej radzono sobie z nim, stosując rozwiązania „nadmiarowe”. Jednak zabezpieczenie wszystkich możliwych obszarów działania laboratorium jest zbyt kosztowne, a więc nieskuteczne. Właściwym rozwiązaniem jest nie tyle unikanie i redukcowanie ryzyka, a skuteczne i efektywne nim zarządzanie. Z tego względu, niezależnie od wysiłków, zawsze pozostaje tzw. ryzyko szczątkowe, które laboratorium powinno w ramach procesu decyzyjnego zaakceptować [3,5,8].

**Akceptacja ryzyka** – powinna wskazywać na adekwatność środków kontroli do poziomu zidentyfikowanego ryzyka. Doprowadzenie kierownictwa do zobowiązania i potwierdzenia, że środki kontroli są adekwatne do zidentyfikowanego ryzyka, to jedna z najtrudniejszych kwestii do wdrożenia.

**Tolerancja na ryzyko** – określa, jaki poziom ryzyka organizacja może zaakceptować po uwzględnieniu wdrożonych zabezpieczeń, środków kontroli w etapie postępowania z ryzykiem.

**Apetyt na ryzyko** – wielkość ryzyka, jaką organizacja jest gotowa w dowolnym czasie zaakceptować lub dopuścić (tj. poziom ryzyka uzasadniony i możliwy do zaakceptowania); wyrażony za pomocą serii limitów zatwierdzonych przez zarządzających. Apetyt na ryzyko jest określany dla całości zagrożeń, z uwzględnieniem ograniczonych zasobów i nie może być ustalany indywidualnie dla każdego źródła ryzyka.

## 3. ETAPY ZARZĄDZANIA RYZYKIEM

M.E. Whitman zwraca uwagę na wzajemną relację pomiędzy szacowaniem ryzyka a jego osłabieniem – co stanowi istotę zarządzania ryzykiem [3,5,8].

Wymienia następujące etapy zarządzania ryzykiem:

- 1) identyfikacja ryzyka,
- 2) oszacowanie wpływu na działalność,
- 3) oszacowanie słabych punktów i zagrożeń,
- 4) oszacowanie bieżących środków osłabienia ryzyka,
- 5) opracowanie i przegląd planu osłabienia ryzyka,
- 6) wdrożenie planu osłabienia ryzyka,
- 7) pomiar zgodności,
- 8) pomiar wpływu na działalność,
- 9) przegląd i monitorowanie.

Sama idea zarządzania ryzykiem jakości jest niezmiernie prosta i jej główne etapy to:

- planowanie zarządzania ryzykiem – określenie zasad dotyczących zarządzania ryzykiem,
- identyfikacja czynników ryzyka – określenie i dokumentowanie jakie zdarzenia mogą mieć wpływ na powodzenie realizacji badań/pomiarów,

- analiza jakościowa i ilościowa ryzyka – ocena ryzyka i określenie jaki wpływ mogą mieć na badania/pomiary wyodrębnione czynniki ryzyka,
- planowanie działań zapobiegawczych – ustalenie metod i technik, które mogą pomóc w uniknięciu lub zredukowaniu skutków związanych z wystąpieniem ryzyka w badaniach/pomiarach,
- kontrola ryzyka – ciągła obserwacja istniejących czynników ryzyka oraz identyfikacja nowych.

Te główne etapy zarządzania ryzykiem powinny być realizowane w oparciu o dwie podstawowe zasady zarządzania ryzykiem [3]:

- ocena ryzyka w jakości powinna uwzględniać podstawy naukowe w powiązaniu
- z bezpieczeństwem klienta,
- dokumentowanie procesu zarządzania ryzykiem powinno być współmierne do poziomu ryzyka.

Coraz częściej mówi się więc o podwójnym znaczeniu pojęcia ryzyka, jako zjawiska zawierającego w sobie zarówno możliwości, jak i niebezpieczeństwa. To samo zdarzenie może być odbierane przez dwie różne osoby jako szansa lub zagrożenie. Osoby przedsiębiorcze z optymizmem podejmują wyzwania, które ludzie o nastawieniu asekuracyjnym oceniają jako zbyt ryzykowne.

Według reguły Pareto, w każdej organizacji ok. 20% kluczowych czynników ryzyka odpowiada za 80% potencjalnych strat lub niewykorzystanie 80% możliwych szans. Dlatego powinniśmy skupić się na tych 20% scenariuszy, zarówno pozytywnych, polegających na wykorzystaniu możliwości, jak i negatywnych, związanych z materializacją zagrożeń [2].

Należy przy tym pamiętać, iż nadmierne sformalizowanie procesu zarządzania ryzykiem znacząco ogranicza jego skuteczność, ponieważ opór i brak zaangażowania pracowników utrudniają zintegrowanie mechanizmów zarządzania ryzykiem z funkcjonującymi procesami w organizacji (zarówno strategicznymi, jak i operacyjnymi).

Częstym błędem w zakresie zarządzania ryzykiem w organizacji jest ścisły podział na ryzyka:

- operacyjne,
- bezpieczeństwa informacji,
- ciągłości działania,
- typowo finansowe,
- BHP,
- środowiskowe
- i inne.

Kilka różnych zespołów analizuje, ocenia i zazwyczaj się ze sobą nie komunikuje. Każdy na własną rękę odpytuje tych samych pracowników o identyfikowanie ryzyka, zagrożenia, prawdopodobieństwa, ale za każdym razem w innym kontekście. Co już mniej zabawne, często otrzymując różne wyniki i wyciągając inne wnioski, a przecież zarządzanie ryzykiem ma służyć realizacji strategii, czyli celów organizacji.

### 3.1 Planowanie Zarządzania Ryzykiem

- Dlaczego? Znaczenie czynnika ryzyka oraz jego powiązania z celami laboratorium.
- Co i kiedy? Dokumenty, formularze.
- Kto i gdzie? Role, odpowiedzialności i organizacja.
- W jaki sposób? Prototypy, ankiety, modele, etc.
- Jak wiele? Zasoby (budżet, harmonogram, kluczowe osoby w laboratorium).

Plan Zarządzania Ryzykiem opisuje, m.in.:

- procesy, procedury, techniki i metody, które będą wykorzystywane do identyfikacji, analizowania i za-

- zarządzania ryzykiem zarówno na jego początku (podczas przygotowania), jak i w trakcie realizacji prac;
- wskazówki dotyczące dokumentowania czynników ryzyka oraz raportowania ich statusu oraz wzory niezbędnych dokumentów;
  - identyfikację i znaczenie wskazanych czynników ryzyka wraz z ich powiązaniem z procesami laboratorium;
  - harmonogramy, listy zadań i czynności wraz z powiązaniem;
  - role i odpowiedzialności za poszczególne zagadnienia związane z zarządzaniem ryzykiem wraz ze strukturą organizacyjną laboratorium;
  - zasoby i ludzie niezbędni do realizacji wymienionych wyżej działań.

**W trakcie oszacowania** ryzyka poszukujemy odpowiedzi na 3 pytania:

1. Co złego może się zdarzyć?
2. Jakie jest prawdopodobieństwo, że to się zdarzy?
3. Jakie są konsekwencje (zasięg)?

Etapy oszacowania ryzyka obejmują:

- identyfikację ryzyka
- analizę ryzyka
- ocenę ryzyka

### 3.2 Identyfikacja ryzyka

W fazie identyfikacji ryzyka szczególnie ważny jest zrozumiały i jednoznaczny opis ryzyka, umożliwiający ustalenie działań ograniczających wskazane ryzyko na późniejszych etapach.

Celem identyfikacji ryzyka jest opracowanie listy obejmującej 20% kluczowych czynników wpływających pozytywnie bądź negatywnie na realizację 80% celów strategicznych organizacji. Na etapie identyfikacji ryzyka istotne jest, aby nie skupiać się wyłącznie na negatywnej stronie ryzyka [1,2,3,4].

Nie jest to proste zadanie, jeżeli uświadomimy sobie, że już od momentu rejestracji każda próbka, przyjęta do laboratorium, powinna być ściśle nadzorowana. Ponadto wszystkie informacje jej dotyczące powinny być dostępne nawet po dłuższym czasie, gdyż w wypadku wystąpienia jakichkolwiek wątpliwości, konieczne jest sprawdzenie, jaki np. sprzęt i odczynniki zostały zastosowane oraz czy nie miało to wpływu na zaistniałą sytuację. W efekcie z każdą próbką powiązana jest ogromna baza danych, której przetwarzanie wymaga nakładu sił i czasu. Dodatkowo, aby wszystkie informacje w razie potrzeby mogły zostać wykorzystane, niezbędna jest wiedza o tym, z jaką konkretną próbką, sprzętem, powinny one zostać skojarzone, a więc konieczne jest stworzenie niezawodnego systemu identyfikacji danych. Rezultatem identyfikacji ryzyka jest np. „rejestr ryzyka”.

## 4. CZYNNIKI RYZYKA

Tom Gilb zaproponował, aby opisywać ryzyko za pomocą [3]:

- prawdopodobieństwa wystąpienia zdarzenia, które może wywrzeć wpływ na prawidłowy wynik badania,
- wpływu, czyli miary, w jakim stopniu wystąpienie danego czynnika ryzyka zaburzy planowany przebieg badania.

Dodatkowo, zaproponował, aby czynniki ryzyka podzielić na grupy, ze względu na ich naturę, to jest:

- przewidywalne, co do których nie mamy pewności, że wystąpią, ale prawdopodobieństwo jest wy-

starcząco wysokie, aby brać je pod uwagę podczas planowania przedsięwzięcia (np. znacząca podwyżka ceny odczynników),

- nieprzewidywalne, czyli czynniki ryzyka, których wcześniejsze przewidzenie nie jest możliwe: doskonałym przykładem nieprzewidywalnych czynników ryzyka są klęski żywiołowe, czy wypadki,
- znane i nieznanne czynniki ryzyka
- znane czynniki ryzyka
  - zidentyfikowane i przeanalizowane: dzięki temu możliwe jest zaplanowanie odpowiednich działań związanych z ich wystąpieniem i minimalizowaniem wpływu tzw. „znane nieznanne”,
  - nieznanne czynniki ryzyka nie mogą być zarządzane, chociaż możliwe jest przygotowanie się na nie poprzez przygotowanie tzw. rezerw w oparciu o doświadczenia z poprzednich działań tzw. „nieznane nieznanne”.

#### **Czynnik ryzyka:**

- wydarzenie lub warunek, którego wystąpienie nie jest pewne, a które posiada pozytywny lub negatywny wpływ na naszą pracę,
- posiada źródło w niepewności będącej stałym elementem każdego działania,
- może dotyczyć zarówno zagrożeń (wpływ negatywny), jak i potencjałów (wpływ pozytywny) usprawnienia naszych działań,
- posiada przyczynę.

W opisie ryzyka należy wskazać najbardziej prawdopodobne, bezpośrednio przyczyny oraz ewentualne głębsze powody opisanej sytuacji. To właśnie w nich często znajduje się klucz do zdefiniowania skutecznych działań obniżających poziom ryzyka, mechanizmów nadzoru oraz wskaźników ryzyka. W opisie można także spróbować skonkretyzować bezpośrednio (najbardziej prawdopodobne) efekty zagrożeń – może się to okazać przydatne przy szacowaniu ich skutków [1,2,3,4,5,8].

Opisując ryzyko, należy unikać krótkich zdań lub niewiele mówiących haseł jak również sformułowań powodujących szum informacyjny. W przypadku opisów zbyt ogólnych lub wielowątkowych, osobom podejmującym decyzje dotyczące danego ryzyka, trudno jest jednoznacznie zrozumieć występujące między nimi zależności. Może to prowadzić do nieporozumień, a w konsekwencji – do błędnych decyzji, wniosków i nieodpowiedniego przeznaczenia środków na zarządzanie ryzykiem.

## **5. ANALIZA I OCENA RYZYKA**

Kluczowym etapem w procesie zarządzania ryzykiem jest analiza ryzyka, która ma za zadanie zbadanie zidentyfikowanych wcześniej czynników. To właśnie na podstawie analizy ryzyka dokonuje się oceny ryzyka [1,5,8].

**Analiza ryzyka** to ilościowe lub jakościowe określenie prawdopodobieństwa wystąpienia ryzyka i jego znaczenia.

**Ocena ryzyka** z kolei to porównanie zidentyfikowanego i przeanalizowanego ryzyka do podanych kryteriów ryzyka.

Celem analizy ryzyka jest określenie prawdopodobieństwa i wpływu (konsekwencji) zidentyfikowanego ryzyka na cele strategiczne. Wynikiem tego etapu powinien być rejestr ryzyka. Należy pamiętać, że jeden rodzaj ryzyka może wpływać na kilka procesów laboratorium, zarówno finansowych, jak i pozafinansowych. Zgodnie z zasadą Pareto, źródeł ryzyka krytycznego nie może być za dużo, ponieważ w praktyce oznaczałoby to zagrożenie równowagi funkcjonalnej systemów i brak możliwości sterowania procesem [2].

Analiza ryzyka powinna obejmować:

- badanie inicjujące zdarzenia lub okoliczności,
- określenie przyczyn pierwotnych,
- kolejność i kombinację rozpatrywanych zdarzeń, możliwe scenariusze ryzyka,
- wszystkie okoliczności łagodzące charakter i zmniejszające częstość możliwych szkodliwych konsekwencji identyfikowanych zagrożeń.

W zależności od charakteru ryzyka i możliwości laboratorium do pomiaru ryzyka mogą być stosowane różne metody, od najprostszych opisowych (metoda jakościowa) do bardziej skomplikowanych wykorzystujących modele matematyczne i statystyczne (metoda ilościowa). Dobór metod analizy ryzyka zależy od wielu czynników, między innymi od: dostępnych danych, posiadanej wiedzy, doświadczenia, umiejętności oraz potrzeb. Zbyt duża liczba zastosowanych metod może spowodować rozproszenie danych lub ich utratę. Wybór jednej, może okazać się niewystarczający dla przedstawienia przejrzystego, pełnego i logicznego obrazu ryzyka [1,3,5,6,7,8].

Jedną z metod analizy ryzyka jest metoda jakościowa (kwalifikacyjna), zalecana głównie w procesie identyfikacji ryzyka. Polega ona na filtracji zidentyfikowanych wcześniej czynników ryzyka w celu ustalenia, które z nich mogą zostać zaakceptowane (znikome prawdopodobieństwo wystąpienia), a które powinny być przedmiotem dalszej analizy i planowania reakcji na ryzyko. Metoda jakościowa jest metodą szacunkową, gdzie ryzyko jest oceniane przez analityka na podstawie doświadczenia zawodowego. Podstawowymi metodami wykorzystywanymi w identyfikacji ryzyka jest „burza mózgów” i schemat blokowy. W szczególnych przypadkach koniecznym staje się zbieranie dodatkowych opinii lub tworzenie list pytań kontrolnych.

Na podstawie zidentyfikowanych i zmierzonych ryzyk dokonuje się oceny ryzyka.

Do oceny ryzyka jako pomocy przy jego szacowaniu używa się następujących przykładowych trzech pytań:

1. Co może się nie udać?
2. Jakie jest prawdopodobieństwo, że się nie uda?
3. Jakie mogą być tego konsekwencje (dotkliwość)?

Dokonując oceny ryzyka należy pamiętać o tym, że w procesie przy ocenie każdego ryzyka uwzględniane było zarówno prawdopodobieństwo jego wystąpienia, jak i jego oddziaływanie.

## 6. AKCEPTACJA I REDUKCJA RYZYKA

Przy planowaniu działań zapobiegawczych, czyli kolejnym etapie zarządzania ryzykiem przydatne przy podjęciu odpowiednich decyzji będą odpowiedzi na pytania:

- Czy ryzyko jest na poziomie akceptowalnym?
- Co możemy zrobić, aby obniżyć lub wyeliminować ryzyko?
- Jaki jest złoty środek – między zyskami biznesowymi, ryzykiem i dostępnymi zasobami?
- Czy dodatkowe środki kontroli nie wprowadzają dodatkowego ryzyka?

Po przeprowadzeniu analizy ryzyka dysponujemy przeglądem rodzajów ryzyka o różnym nasileniu. Usiłowanie zmniejszenia wszystkich nie byłoby ani efektywne ekonomicznie, ani praktyczne.

Zaleca się więc przyjęcie następującej hierarchii [5,8]:

- ryzyko najwyższego stopnia, często zwane krytycznym, należy redukować, wprowadzając odpowiednie działania zmniejszające potencjalne zagrożenie i / lub mechanizmy nadzoru,
- ryzyko istotne/znaczące należy monitorować, a ponadto trzeba uwzględnić działania redukujące potencjalne zagrożenie i / lub mechanizmy nadzoru,
- ryzyko znikome/nieznaczące nie wymaga redukcji.

Dysponując takim przeglądem ryzyka, powinno się rozważyć podjęcie kroków zmniejszających w pierwszej kolejności ryzyko w obszarach krytycznych.

A działania naprawcze związane z ryzykiem można określać m.in. według metody „4 T” [8]:

- Terminate (usuń) – eliminacja ryzyka (najlepsze rozwiązanie, choć nie zawsze możliwe),
- Treat (kontroluj) – kontrolowanie ryzyka (rozwiązanie proceduralne wymagające szkolenia i nadzoru),
- Tolerate (toleruj) – akceptacja ryzyka (na podstawie konkretnej decyzji),
- Transfer (przenieś) – przeniesienie ryzyka na innych (podwykonawcy, zleceniobiorcy).

**Akceptacja ryzyka** to formalna decyzja o akceptacji lub sprowadzenie ryzyka do poziomu akceptowalnego (wyznaczenie granicy akceptowalności) i decyzja o akceptacji ryzyka resztkowego (po przyjęciu środków jego kontroli).

#### **Redukując ryzyko:**

- obniżamy prawdopodobieństwo wystąpienia (zwiększenie wykrywalności zagrożeń),
- obniżamy krytyczności ryzyka,
- wprowadzamy dodatkowe kontrole (jeśli jest to konieczne) – celem redukcji ryzyka – może ona spowodować dodatkowe zagrożenia, których nie braliśmy pod uwagę podczas identyfikacji ryzyka. Celowym może być, po kroku redukcji ryzyka, powtórzyć oszacowanie

## **7. MONITOROWANIE RYZYKA**

Monitorowanie i przeglądy powinny wspierać realizację oceny efektywności środków kontroli, czynności kontrolnych, zabezpieczeń zarówno w zakresie ich projektowania, jak i operacyjnego działania oraz uzyskiwanie informacji w celu optymalizacji zarządzania ryzykiem. Dokonywanie przeglądów i analiza zdobytych doświadczeń z zaistniałych incydentów, pozwala na wykrywanie zmian w otoczeniu zewnętrznym i wewnętrznym, które mogą wpływać na kryteria hierarchizacji ryzyka, apetyt na ryzyko, wykrywanie sygnałów wczesnego ostrzegania oraz wykrywanie nadarżających się „szans”. Pozwala ustalić czy działania zapobiegawcze podejmowane w odpowiedzi na ryzyko przynoszą oczekiwane efekty, czy też wymagają przebudowy oraz czy wystąpiły symptomy realizacji zidentyfikowanych ryzyk. Ponadto celem monitorowania ryzyka jest stwierdzenie, czy wystąpiły ryzyka dotychczas niezidentyfikowane [2,5,8].

Monitorowanie ryzyka to m.in.:

- ustalenie, czy dane ryzyko rzeczywiście miało miejsce,
- aktualizacja analizy ryzyka, sprawdzenie czy jest w dalszym ciągu odpowiednia,
- wykonanie przeglądu, w celu określenia czy ryzyko uległo zmianie,
- zebranie doświadczeń na potrzeby przyszłych przedsięwzięć,
- ustalenie przyczyny (identyfikacja czynników ryzyka, które spowodowały problem.)

Mierniki związane z monitorowaniem i przeglądami ryzyka powinny stać się integralnym elementem kontroli pozostałych wskaźników zarządczych, a informacja o ryzyku powinna stać się częścią ogólnej informacji zarządczej.

#### **LITERATURA:**

- [1] Choma Agnieszka: Zarządzanie Ryzykiem, Uniwersytet Rzeszowski, THINK.
- [2] Gasiński Tomasz, Pijanowski Sławomir: Zarządzanie ryzykiem w procesie zrównoważonego rozwoju biznesu, Podręcznik dla dużych i średnich przedsiębiorstw.
- [3] Jasiński Michał, Ochodek Mirosław: Zarządzanie Ryzykiem, Uczelnia online.

- [4] Kleniewski Antoni: Ryzyko i zarządzanie ryzykiem, Klub POLSKIE FORUM ISO 9000 – Komisja Pełnomocników.
- [5] Klub POLSKIE FORUM ISO 9000: Zarządzanie Ryzykiem – 1. Ryzyko w działaniach biznesowych, Niepołomice k/Krakowa 14-16.09.2011r., materiały seminaryjne.
- [6] Łuczak Jacek: Metody szacowania ryzyka – kluczowy element systemu zarządzania bezpieczeństwem informacji ISO/IEC 27001, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Szczecinie 2009, 19(91) s. 63–70.
- [7] Sierotowicz Tomasz, Wójcik Katarzyna: Systemowy model zarządzania ryzykiem a jakość zarządzania.
- [8] III Konferencja Dobre praktyki doskonalenia zarządzania – zarządzanie ryzykiem: materiały konferencyjne 14.05.2012 r., Warszawa.

**Małgorzata Niziurska**  
Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych  
Oddział Szkła i Materiałów Budowlanych w Krakowie

## Dokładność i niepewność przedstawianych wyników a ocena zgodności na przykładzie badań wyrobów budowlanych

*W niniejszym referacie przedstawiono wytyczne dokumentu ILAC–G8:03:2009 oraz przykłady wpływu dokładności przedstawianych wyników i ich niepewności na stwierdzenie zgodności badanych próbek ze specyfikacją. Zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025 laboratoria badawcze powinny dostarczać klientom sprawozdania zawierające wyniki badań, ich niepewność oraz w razie konieczności również ocenę zgodności ze specyfikacją. Wartość niepewności przedstawianego wyniku ma więc istotne znaczenie dla stwierdzenia zgodności badanej próbki z wymaganiami specyfikacji technicznych, ale najczęściej nie jest uwzględniana przez odbiorców wyników badań przy deklarowaniu zgodności.*

*W referacie zwrócono również uwagę na znaczenie dokładności przedstawianych wyników, a co za tym idzie wielkości niepewności wyniku dla jego właściwej interpretacji.*

### 1. WSTĘP

Zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025 [1] laboratoria badawcze powinny dostarczać klientom sprawozdania zawierające wyniki badań, ich niepewność oraz w razie konieczności również ocenę zgodności ze specyfikacją. Laboratoria badawcze przy stwierdzaniu zgodności wyników badań ze specyfikacją mogą korzystać ze wskazówek zawartych w dokumencie ILAC–G8:03:2009 [2] „Wytyczne dotyczące przedstawiania zgodności ze specyfikacją”. Dokument ten określa zasady stwierdzania zgodności ze specyfikacją na podstawie przedstawionych wyników pomiarów wraz z niepewnością. Zgodnie z zapisami wytycznych [2] bardzo istotne jest przede wszystkim odniesienie przedziału niepewności rozszerzonej do określonego przedziału wyspecyfikowanych wymagań, jeśli taki istnieje.

W rzeczywistości, kiedy laboratoria w swoich sprawozdaniach nie przedstawiają stwierdzenia zgodności próbek ze specyfikacją, a ocena wyników jest dokonywana przez Zleceniodawcę lub inne organy kontrolujące, wyniki interpretowane są z pominięciem przedstawionych w dokumencie ILAC–G8:03/2009 [2] wytycznych.

W gamie wyrobów budowlanych można znaleźć materiały, których wprowadzenie do obrotu i stosowania w budownictwie możliwe jest na podstawie dokonania oceny zgodności z różnymi specyfikacjami technicznymi, określającymi ponadto wymagania na innym poziomie wartości. Jednocześnie z uwagi na dokładność przedstawianego wyniku niezastosowanie zasad opisanych w dokumencie ILAC–G8:03/2009 [2] powoduje uzyskiwanie zaskakujących wniosków w zakresie oceny zgodności.

W wielu przypadkach, gdy dokładność wyniku jest stosunkowo mała w odniesieniu do wartości bezwzględnej wyniku przedstawienie jego niepewności ma szczególne znaczenie dla oceny w zakresie zgodności z wymaganiami specyfikacji technicznych, a także w interpretowaniu badań biegłości.

## **2. WYMAGANIA AKREDYTACYJNE DLA LABORATORIÓW WYKONUJĄCYCH BADANIA W RAMACH OCENY ZGODNOŚCI WYROBÓW BUDOWLANYCH**

Z dniem 1 lipca br. ulegają zmianie przepisy Unii Europejskiej, na podstawie których producenci wprowadzają do obrotu wyroby budowlane. W związku z nowymi wymaganiami dla producentów wyrobów budowlanych, którzy odtąd nie będą deklarowali zgodności wyrobów z odpowiednimi specyfikacjami technicznymi a jedynie przedstawiali deklarację właściwości użytkowych zmienia się również rola laboratoriów badawczych w procesie wprowadzania do obrotu wyrobów budowlanych. Laboratoria badawcze uczestniczą w procesie wprowadzania wyrobów do obrotu w charakterze strony trzeciej w przypadku, jeżeli w specyfikacji technicznej został określony system oceny zgodności 3, co oznacza, że badania typu wyrobu muszą być przeprowadzone w laboratorium notyfikowanym. Wymaganiem niezbędnym dla notyfikacji jest akredytacja laboratorium w przedmiotowym zakresie, która może być udzielona, przez PCA pod warunkiem spełnienia wymagań określonych w dokumencie DAN-01 [3]. Zgodnie z wymaganiami Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (CPR) nr 305/11 z dnia 9 marca 2011 r. [4] uchylającego Dyrektywę Rady (CPD – Construction Products Directive) 89/106/EWG [5] na laboratoriach badawczych wykonujących badania zgodnie ze zharmonizowanymi z CPR specyfikacjami technicznymi spoczywa obowiązek ustalenia typu wyrobu, w zakresie zasadniczych charakterystyk, do badania i oceny których jest uprawnione. Ustalenie typu wyrobu wiąże jednoznacznie z koniecznością oceny wyników badań w zakresie spełnienia bądź niespełnienia wymagania specyfikacji technicznej, która ma stanowić podstawę wprowadzenia wyrobu do obrotu.

Akredytowane laboratoria badawcze uwzględniając wymagania normy PN-EN ISO/IEC 17025 [1] zobowiązane są do przedstawiania wyników badań zawierających niepewność w przypadku, gdy może ona mieć znaczenie dla spełnienia wyspecyfikowanych kryteriów dla danej cechy. Z powyższego zapisu wynika jednoznacznie, że zawarta w wyniku niepewność powinna być brana pod uwagę przy stwierdzaniu zgodności uzyskanego wyniku ze specyfikacją.

## **3. ZASADY OCENY WYNIKÓW W ODNIESIENIU DO WYMAGAŃ SPECYFIKACJI TECHNICZNYCH**

### **3.1 Wytyczne ogólne określone w dokumencie ILAC-G8:03/2009 [2]**

Wytyczne dokumentu ILAC-G9:03/2009 zawierają następujące wskazówki do oceny wyników w zakresie spełnienia wymagań specyfikacji technicznych:

- jeżeli w specyfikacji technicznej określono wymagania w postaci przedziału wartości zaleca się aby stwierdzenie zgodności bądź niezgodności ze specyfikacją było przedstawiane tylko wtedy gdy stosunek przedziału niepewności rozszerzonej do wyspecyfikowanego przedziału wymagań jest wystarczająco mały i odpowiedni do zastosowania. Tylko w takim przypadku laboratorium jest w stanie spełnić potrzeby klienta,
- w przypadku stwierdzenia zgodności ze specyfikacją zaleca się informowanie klienta o zastosowanym poziomie ufności dla niepewności rozszerzonej,
- w przypadku stwierdzenia zgodności ze specyfikacją zaleca się, aby klient został jednoznacznie poinformowany o zastosowanym poziomie ufności.

Zastosowanie, jak to miejsce w większości przypadków, poziomu ufności 95% oznacza, że prawdopodobieństwo uzyskania wyniku pomiaru niewykraczającego poza przedział wokół wyniku określony niepewnością rozszerzoną jest większe niż 95%.

Jeżeli laboratorium stosuje inny poziom ufności dla niepewności rozszerzonej zaleca się, aby było to uzgodnione pomiędzy laboratorium a klientem dopuszczone jest stosowanie większego poziomu ufności niż 95 % dla niepewności rozszerzonej, jednak zaleca się, aby unikać mniejszych wartości.

### 3.2 Ocena zgodności wyników zawierających niepewność wg wymagań ILAC-G8:03/2009

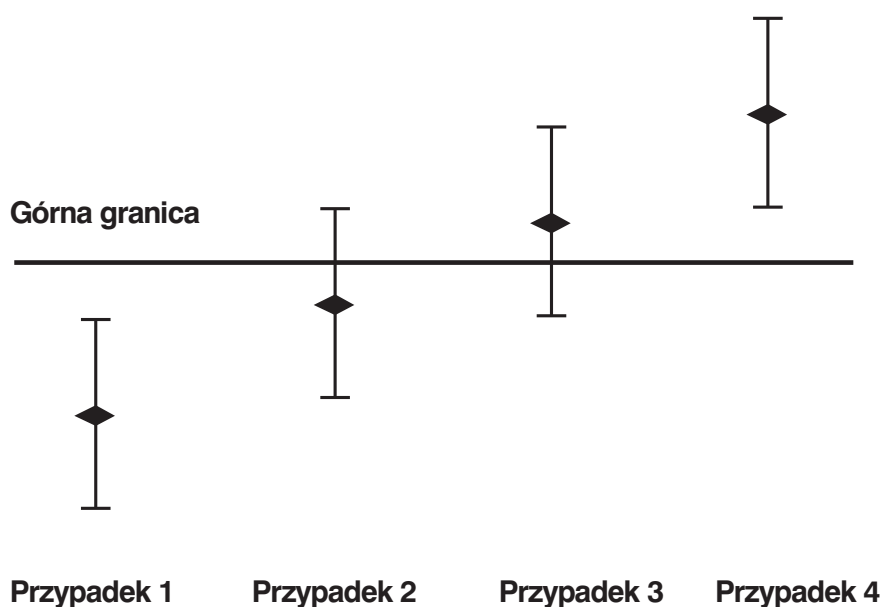
W przypadku stwierdzenia zgodności laboratorium może zastosować się do następujących zaleceń:

- jeżeli wynik pomiaru zwiększony o niepewność rozszerzoną przy poziomie ufności 95% nie przekracza granicy podanej w specyfikacji, wtedy można stwierdzić zgodność ze specyfikacją (patrz Przypadek 1, Rysunek 1). Może to być przedstawione w sprawozdaniu jako „Zgodność” lub „Zgodność – Wynik pomiaru z uwzględnieniem niepewności pomiaru znajduje się wewnątrz (lub poniżej) granicy podanej w specyfikacji.”

W przypadku stwierdzenia niezgodności laboratorium może zastosować się do następujących zaleceń:

- jeżeli wynik pomiaru zmniejszony o rozszerzoną niepewność przy poziomie ufności 95% przekracza granicę podaną w specyfikacji, wtedy można stwierdzić niezgodność ze specyfikacją (patrz Przypadek 4, Rysunek 1). Może to być przedstawione w sprawozdaniu jako „Niezdność” lub „Niezdność – Wynik pomiaru z uwzględnieniem niepewności pomiaru znajduje się na zewnątrz (lub powyżej) granicy podanej w specyfikacji”.

Jeżeli wynik pomiaru zwiększony/zmniejszony o niepewność rozszerzoną przy poziomie ufności 95% zachodzi na granicę (patrz Przypadek 2 oraz Przypadek 3, Rysunek 1), nie można stwierdzić ani zgodności, ani niezgodności. Zaleca się, aby w takiej sytuacji wyniki pomiarów oraz niepewność rozszerzona przy poziomie ufności 95% były przedstawione w sprawozdaniu razem ze stwierdzeniem, że nie można wykazać ani zgodności, ani niezgodności. Odpowiednie stwierdzenie uwzględniające te sytuacje może być następujące „Nie można stwierdzić zgodności”. W Przypadku 2, Rysunek 1, można wskazać, że pomiary są poniżej granicy, co można zrobić stosując podobne stwierdzenie „Nie jest możliwe stwierdzenie zgodności przy poziomie ufności 95 % dla niepewności rozszerzonej, chociaż wynik pomiaru znajduje się poniżej granicy”. Jeżeli podawane są krótsze stwierdzenia, nie powinny one sprawiać wrażenia, że wyniki są zgodne ze specyfikacją.



**Rysunek 1.** Zgodność z górną granicą podaną w specyfikacji [2]

Jednocześnie zapisy wytycznych ILAC G8:03/2009 zawierają zalecenie, aby stwierdzenie zgodności nie było podawane w sposób, który mógłby być mylony z inspekcją lub certyfikacją wyrobu. W tym celu można dodać uwagę następującej treści „W niniejszym sprawozdaniu wyniki badań i stwierdzenie

zgodności ze specyfikacją odnoszą się tylko do analizowanej/badanej próbki, a nie do próbki/obiektu, z którego próbka ta była pobrana”.

Jednocześnie należy zwrócić uwagę na istotny z punktu widzenia dopuszczenia do obrotu zapis mówiący, że: „Jeżeli krajowe lub inne przepisy wymagają podjęcia decyzji dotyczącej odrzucenia lub akceptacji, to Przypadek 2, Rysunek 1, może być przedstawiony jako zgodność, natomiast Przypadek 3, Rysunek 1, jako niezgodność z granicą podaną w specyfikacji.”

Jednocześnie w przypadku oceny zgodności ze specyfikacją obejmującej większą liczbę wielkości wg wytycznych [2], zaleca się, aby każda wartość pomiaru była oceniana niezależnie.

Ogólna ocena zgodności z wymaganiami lub specyfikacją może być sformułowana w jeden z następujących trzech sposobów, lub przez ich połączenie, oraz może być przedstawiona w sprawozdaniu dla klienta w formie podsumowania zgodnie z poniższym:

- „Wszystkie zmierzone wartości są zgodne z granicą podaną w specyfikacji” lub „Obiekt/próbka jest zgodna z wymaganiami.” Obejmuje to sytuacje, w których wszystkie pomiary są zgodne ze specyfikacją (Przypadek 1, Rysunek 1).
- „Nie jest możliwe stwierdzenie zgodności ze specyfikacją dla niektórych zmierzonych wartości”. Obejmuje to sytuacje, w których nie można wykazać ani zgodności, ani niezgodności ze specyfikacją (Przypadek 2 oraz Przypadek 3, Rysunek 1).
- „Niektóre zmierzone wartości nie są zgodne ze specyfikacją” lub „Obiekt/próbka nie jest zgodna z wymaganiami.” Obejmuje to sytuacje, w których jeden lub więcej pomiarów nie jest zgodnych ze specyfikacją (Przypadek 4, Rysunek 1).

Jeżeli dokonuje się ogólnej oceny, w wytycznych [2] zaleca się zamieszczenie stwierdzenia dotyczącego poziomu ufności dla niepewności rozszerzonej, takiego jak „Stwierdzenie(-a) zgodności ze specyfikacją (lub wymaganiami) jest(są) oparte na poziomie ufności 95% dla niepewności rozszerzonej wyników pomiarów, na których oparto decyzję dotyczącą zgodności.”

## 4. OCENA ZGODNOŚCI CEMENTOWYCH ZAPRAW KLEJOWYCH

### 4.1 Zaprawy klejowe do systemów ociepleń

Zaprawy klejowe do systemów ociepleń są jednym z niewielu specyficznych wyrobów, których wprowadzenie na rynek możliwe jest poprzez dokonanie oceny zgodności z dwoma różnymi specyfikacjami technicznymi. Są to aprobaty krajowe i europejskie, wydawane w oparciu o wytyczne zharmonizowane (ETAG) lub wytyczne krajowych jednostek aprobowanych (ZUAT).

Specyfikacje te określają wymagania dla zapraw klejowych, między innymi w zakresie przyczepności do materiału termoizolacyjnego, np. styropianu, na różnym poziomie wartości oraz są sprecyzowane z różną dokładnością.

We wszystkich przypadkach specyfikacje techniczne dla zapraw do systemów ociepleń nie określają zasad odrzucania wyników odbiegających od wartości średniej, a za wynik badania uznaje się średnią z pięciu wykonanych pomiarów bez odrzucania wyników.

Wymagania ETAG 004:2011 [6]

Przyczepność do styropianu:  $\geq 0,08$  MPa

Wymagania ZUAT-15/V.03/2003 [7]

Przyczepność do styropianu:  $\geq 0,1$  MPa

Jednocześnie z uwagi na zróżnicowaną metodykę badania w przypadku badań wg ETAG [6] uzyskuje się wyższe wartości przyczepności niż w przypadku badania wg ZUAT [7], co zobrazowano na rysunku 2.



**Rysunek 2.** Przyczepność zapraw klejowych do styropianu wg ZUAT-15/V.03/2003 i ETAG 004:20011

W związku z powyższym jeżeli wynik badania zostanie przedstawiony z dokładnością z jaką sprecyzowane jest wymaganie może dojść do sytuacji, w której ten sam wynik np. 0,07 MPa nie spełnia wymagania 0,08 MPa, a przedstawiony z dokładnością 0,1 MPa jest wynikiem zgodnym z wymaganiem 0,1 MPa. Sytuacja staje się znacznie bardziej czytelna w przypadku jeżeli laboratorium przedstawi wynik badania wraz z niepewnością. Stosując się do zasady, iż wynik badania i jego niepewność muszą być podane z taką samą dokładnością podanie wyniku 0,1 MPa wiązałoby się z koniecznością podania niepewności na tym samym poziomie co wymaganie czyli 0,1 MPa. Taki wynik badania staje się wynikiem całkowicie nieużytecznym dla klienta i niespełniającym jego wymagań.

#### 4.2 Zaprawy klejowe do płytek

Wprowadzenie do obrotu zapraw klejowych do płytek wiąże się z koniecznością dokonania oceny zgodności z wymaganiami normy zharmonizowanej PN-EN 12004.

W przypadku badań przyczepności do podłoża dla zapraw klejowych wynik badania jest średnią z 10 wyników pomiarów, przy czym w normie zostały ściśle określone zasady kwalifikowania wyników. Średnią wylicza się dla co najmniej pięciu wyników nie odbiegających więcej niż 20% od wartości średniej. Zapis ten wskazuje, że autorzy normy w trakcie jej opracowywania zdawali sobie sprawę z dużych rozrzutów wyników badań uzyskiwanych tą metodą. Norma narzuca jednocześnie, że wynik badania ma być podany z dokładnością do 0,1 MPa. Biorąc pod uwagę wymaganie normy ustanowione na poziomie 0,5 MPa, określoną wymaganą dokładność wyniku, a co za tym idzie minimalną niepewność jaką może zadeklarować laboratorium ocena zgodności wyników przedstawionych z niepewnością na podstawie wytycznych ILAC G-8:03/2009 może być niekorzystna dla Producentów wyrobów budowlanych.

Jest to bowiem specyficzny przypadek wyrobu budowlanego, dla którego określono bardzo wysoki poziom wymagań chociaż wartość bezwzględna wartości przyczepności jest bardzo mała. Duże znaczenie ma w tym przypadku jednostka miary, w której określone jest wymaganie.

## 5. PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej przypadki zwracają uwagę na znaczenie dokładnego określenia niepewności przedstawianych wyników badań oraz świadomość klienta o wartości niepewności, z jaką uzyskuje wyniki dane laboratorium. Jest to aspekt szczególnie ważny w obliczu zachodzących zmian w wymaganiach prawnych i ma istotne znaczenie dla oceny przedstawianych w sprawozdaniach wyników badań oraz przy ocenie badań biegłości. Z uwagi na specyfikę niektórych metod badawczych brak niepewności wyników w sprawozdaniach z badań biegłości może stanowić istotny czynnik uniemożliwiający poprawną ocenę wyników.

### LITERATURA:

- [1] PN-EN ISO/IEC 17025 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
- [2] ILAC-G8:03/2009 Wytyczne dotyczące przedstawiania zgodności ze specyfikacją.
- [3] DAN-01 Akredytacja jednostek biorących udział w procesie oceny i weryfikacji stałości właściwości użytkowych wyrobów budowlanych w odniesieniu do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) Nr 305/2011 (CPR).
- [4] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (CPR) nr 305/11 z dnia 9 marca 2011 r.
- [5] Dyrektywa Rady nr 89/106/EWG z dnia 21 grudnia 1988 r.
- [6] ETAG 004:2011 Złożone systemy izolacji cieplnej z wyprawami tynkarskimi (ETICS).
- [7] ZUAT-15/V.03/2003 „Zestawy wyrobów do wykonywania ociepleń z zastosowaniem styropianu jako materiału termoizolacyjnego i pocienionej wyprawy elewacyjnej”.

**Marzena Najduchowska**  
Instytut Szkła i Materiałów Budowlanych  
Oddział Szkła i Materiałów Budowlanych w Krakowie

## Wpływ przygotowania próbek betonu na placu budowy na otrzymywane wyniki wytrzymałości na ściskanie

*W referacie przedstawiono wpływ transportu świeżo zaformowanych próbek betonu, warunków transportu stwardniałych próbek betonu w warunkach letnich i zimowych do laboratorium oraz warunków przechowywania próbek wykonanych z betonu prawidłowo zaprojektowanego i dostarczonego na plac budowy, na wytrzymałość na ściskanie stwardniałego betonu. Otrzymane wyniki badań wytrzymałości próbek przechowywanych i transportowanych w różnych warunkach atmosferycznych porównano z wynikami uzyskanymi dla próbek przygotowanych zgodnie z wytycznymi normy PN-EN 12390-2:2011. Zastosowano sześć wariantów sezonowania próbek betonowych. Podczas dojrzewania próbek była monitorowana temperatura otoczenia, po 28 dniach dojrzewania próbki poddawano badaniom wytrzymałości wg normy PN-EN 12390-3:2011.*

### 1. WSTĘP

Problemy wynikające z niewłaściwego przygotowania i pielęgnacji betonu są dość powszechnie znane [1, 2]. Dotyczy to zarówno betonu rozumianego jako świeża mieszanka betonowa, jak i betonu stwardniałego. Niejednokrotnie przygotowanie próbek na miejscu budowy do badań właściwości betonu jak i ich późniejsza pielęgnacja jest traktowana bardzo liberalnie. Bardzo często się zdarza, że próbki są wykonywane w formach tylko zbliżonych kształtem do form spełniających wymagania normy PN-EN 12390-1:2011, PN-EN 12390-1:2001/AC:2004 [3], próbki są wykonywane przez osoby przypadkowe bez jakiegokolwiek przygotowania teoretycznego czy praktycznego, a na dodatek próbki są składowane w miejscach zupełnie do tego nie przygotowanych.

Właściwe przygotowanie próbek ma bardzo duży wpływ na uzyskane wyniki badań. Powszechnie wiadomo, że beton nawet bardzo dobrze zaprojektowany i wykonany można „zepsuć” zarówno przez niewłaściwy transport jak i niewłaściwą jego pielęgnację.

Pobieranie próbek świeżego betonu przez laboratoria czy też pracowników budowy ma, między innymi na celu sprawdzenie poprawności receptur i oceny zgodności betonu dostarczonego na budowę z projektowaną klasą wytrzymałości, jego mrozoodporności czy też wodoszczelności.

W referacie przedstawiono przykłady niewłaściwego przygotowania próbek betonu oraz ich niewłaściwej pielęgnacji wykonanych z betonu prawidłowo zaprojektowanego i dostarczonego na plac budowy, na podstawowy parametr stwardniałego betonu jakim jest wytrzymałość na ściskanie. Otrzymane wyniki badań próbek przechowywanych i transportowanych w różnych warunkach atmosferycznych porównano z wynikami uzyskanymi dla próbek przygotowanych zgodnie z wytycznymi normy PN-EN 12390-2:2011 [4].

### 2. KSZTAŁT I WYMARY PRÓBEK DO BADAŃ WYTRZYMAŁOŚCI NA ŚCISKANIE

Norma PN-EN 12390-1:2011, PN-EN 12390-1:2001/AC:2004 [3] dopuszcza dwa alternatywne sposoby uzyskania próbek o prawidłowych wymiarach i kształtach do badania wytrzymałości na ściskanie:

- Wykonywanie próbek w formach precyzyjnych o tolerancjach wymiarów wyższych niż wymagane są dla próbek,
- Wykonywanie próbek w formach dla których czas użytkowania jest ograniczony.

W praktyce laboratoria zajmujące się badaniem wytrzymałości próbek betonowych mają odczynienie z obydwoma przypadkami. Norma PN-EN 12390-1:2011, PN-EN 12390-1:2001/AC:2004 [3] mówi, że z pierwszym przypadkiem mamy odczynienie wtedy gdy dostępna jest dokumentacja, z której wynika, że próbki zostały wykonane w precyzyjnych formach. Jednakże w praktyce wygląda to tak, że laboratorium ma pewność, że próbki zostały przygotowane w formach precyzyjnych, wtedy gdy pracownicy laboratorium pobierają osobiście próbki na placu budowy i formują je w swoich nadzorowanych formach lub jeżeli laboratorium wypożycza nadzorowane przez siebie formy budowie. W tym przypadku kontrola wymiarów próbek do badań jest łagodniejsza i ogranicza się do pomiarów wymiarów pomiędzy powierzchniami uzyskanymi w formie, wymiaru pomiędzy górną zagładzoną powierzchnią, a dolną powierzchnią uzyskaną z formy dla próbek sześciennych. Dla próbek walcowych do pomiaru średnicy, płaskości powierzchni, na które przekazywane jest obciążenie oraz wysokości próbki. W przypadku gdy nie ma dokumentacji odnośnie precyzji form (przypadek drugi) próbki należy poddać dodatkowo pomiarom płaskości powierzchni, na które przekazywane jest obciążenie oraz prostopadłości płaszczyzn bocznych, w odniesieniu do podstawy dla próbek sześciennych, dla walcowych prostopadłości poboczniczy, w odniesieniu do płaszczyzn podstaw próbki. Z przypadkiem drugim laboratoria spotykają się wtedy gdy budowa sama pobiera i wykonuje próbki do badań a laboratorium wykonuje tylko badanie wytrzymałości na ściskanie DLA DOSTARCZONYCH PRÓBEK.

Przed wykonaniem badania wytrzymałości na ściskanie próbek, otrzymane wyniki pomiarów należy porównać z podanymi w normie dopuszczalnymi tolerancjami. W przypadku niespełnienia wymagań istnieje możliwość dostosowania próbek do badań. Metody dostosowania próbek podaje norma PN-EN 12390-3:2011, PN-EN 12390-3:2011/AC:2012 [5].

### 3. WPŁYW WARUNKÓW DOJRZEWANIA NA WYTRZYMAŁOŚĆ NA ŚCISKANIE

Niejednokrotnie w przypadku pobierania i przygotowywania próbek betonu na budowie zachowanie warunków normowych jest trudne do zrealizowania i występuje wiele nieprawidłowości podczas ich przechowywania i pielęgnacji. Często próbki są przechowywane w przypadkowych, ogólnie dostępnych miejscach, narażone są na silne nasłonecznienie, wysychanie lub przemarzanie. Następnie na podstawie tak przechowywanych i pielęgnowanych próbek oceniana jest zgodność betonu z wymaganą klasą wytrzymałości lub innymi właściwościami betonu, w wyniku czego dochodzi niejednokrotnie do sytuacji spornych.

Poniżej przedstawiono wyniki badań wytrzymałości na ściskanie próbek po 28 dniach dojrzewania w różnych warunkach (tablica 1). Temperatura otoczenia była monitorowana przez okres od września do grudnia z zapisem co godzinę, w miejscu składowania prób. Przedmiotem badań wg dokumentów WZ był beton klasy C25/30.

Na rysunku 1 przedstawiono porównanie wytrzymałości na ściskanie próbek betonu dojrzewających zgodnie z zaleceniami normy [4, 6] z próbkami przechowywanymi w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie.

Tablica 1. Wytrzymałość na ściskanie próbek betonu

Lp.	Oznaczenie prób	Data pobrania	Data badania	Wytrzymałość na ściskanie [MPa]			Średnia wytrzymałość na ściskanie [MPa]
1	156/204/N	27.09.2012	25.10.2012	35,9	35,3	36,5	35,9
	156/204/P			30,5	30,9	31,5	31,0
	156/204/C			27,4	30,3	31,2	29,6
	156/204/T			34,0	35,0	34,5	34,5
2	156/206/N	28.09.2012	26.10.2012	42,1	42,3	41,9	42,1
	156/206/P			40,5	41,0	41,3	40,9
	156/206/C			41,3	40,9	41,0	41,1
	156/206/T			38,2	39,8	38,4	38,8
3	156/207/N	01.10.2012	29.10.2012	38,6	38,4	37,1	38,0
	156/207/P			39,7	39,0	39,0	39,2
	156/207/C			42,2	39,9	40,6	40,9
	156/207/T			35,3	35,7	35,0	35,3
4	156/211/N	04.10.2012	31.10.2012	37,3	36,2	36,5	36,7
	156/211/P			27,1	29,1	28,7	28,3
	156/211/C			34,0	31,4	33,3	32,9
	156/211/T			37,7	37,4	36,5	37,2
5	156/214/N	08.10.2012	05.11.2012	37,3	35,5	35,4	36,1
	156/214/P			29,0	29,8	29,4	29,4
	156/214/C			30,3	28,6	30,8	29,9
	156/214/T			35,0	35,4	35,2	35,2
6	156/218/N	11.10.2012	08.11.2012	33,8	34,6	34,1	34,2
	156/218/P			31,5	30,1	31,1	30,9
	156/218/C			32,4	32,2	33,8	32,8
	156/218/T			32,4	33,3	33,3	33,0
7	156/225/N	18.10.2012	15.11.2012	36,9	38,9	37,8	37,9
	156/225/P			35,7	35,6	34,1	35,1
	156/225/C			36,7	34,9	34,3	35,3
	156/225/T			36,4	36,2	35,1	35,9
8	406/34/N	22.11.2012	20.12.2012	44,8	44,6	44,1	44,5
	406/34/P			31,5	31,8	31,5	31,6
	406/34/C			38,5	37,0	37,9	37,8
	406/34/T			42,6	42,9	43,6	43,0

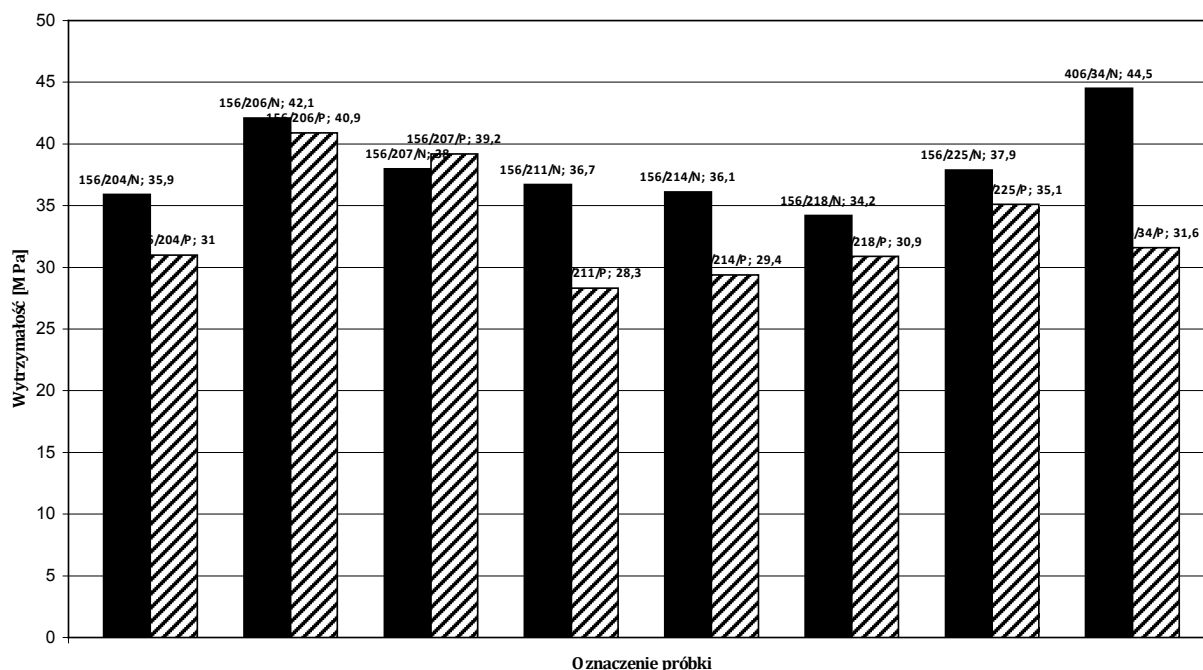
Oznaczenia: Próbki przygotowane zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011:

**N:** Przechowywane wg normy PN-EN 12390-2:2011

**P:** Przechowywane w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie

**C:** Przechowywane w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}\pm 5$

**T:** Próbki świeżego betonu transportowane do laboratorium w formach normowych ( $15\times 15\times 15$  cm) gdzie dojrzewały w warunkach normowych zgodnie z normą PN-EN 12390-2:2011



**Rysunek 1.** Wytrzymałość na ściskanie próbek betonu dojrzewających zgodnie z zaleceniami normy i przechowywanych w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie

**Tabela 2.** Spadek wytrzymałości próbek dojrzewających w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie w porównaniu do próbek dojrzewających normowo

LP.	Oznaczenie prób	Średnia wytrzymałość na ściskanie [MP]	Średnia gęstość stwardniałego betonu [kg/m <sup>3</sup> ]	Różnica wytrzymałości [%]
1	156/204/N	35,9	2350	13,6
	156/204/P	31	2280	
2	156/206/N	42,1	2340	2,9
	156/206/P	40,9	2300	
3	156/207/N	38	2300	-3,2
	156/207/P	39,2	2250	
4	156/211/N	36,7	2320	22,9
	156/211/P	28,3	2280	
5	156/214/N	36,1	2310	18,6
	156/214/P	29,4	2270	
6	156/218/N	34,2	2330	9,6
	156/218/P	30,9	2280	
7	156/225/N	37,9	2340	7,4
	156/225/P	35,1	2310	
8	406/34/N	44,5	2270	29,0
	406/34/P	31,6	2270	

Oznaczenia:

Próbki przygotowane zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011:

**N:** Przechowywane wg normy PN-EN 12390-2:2011

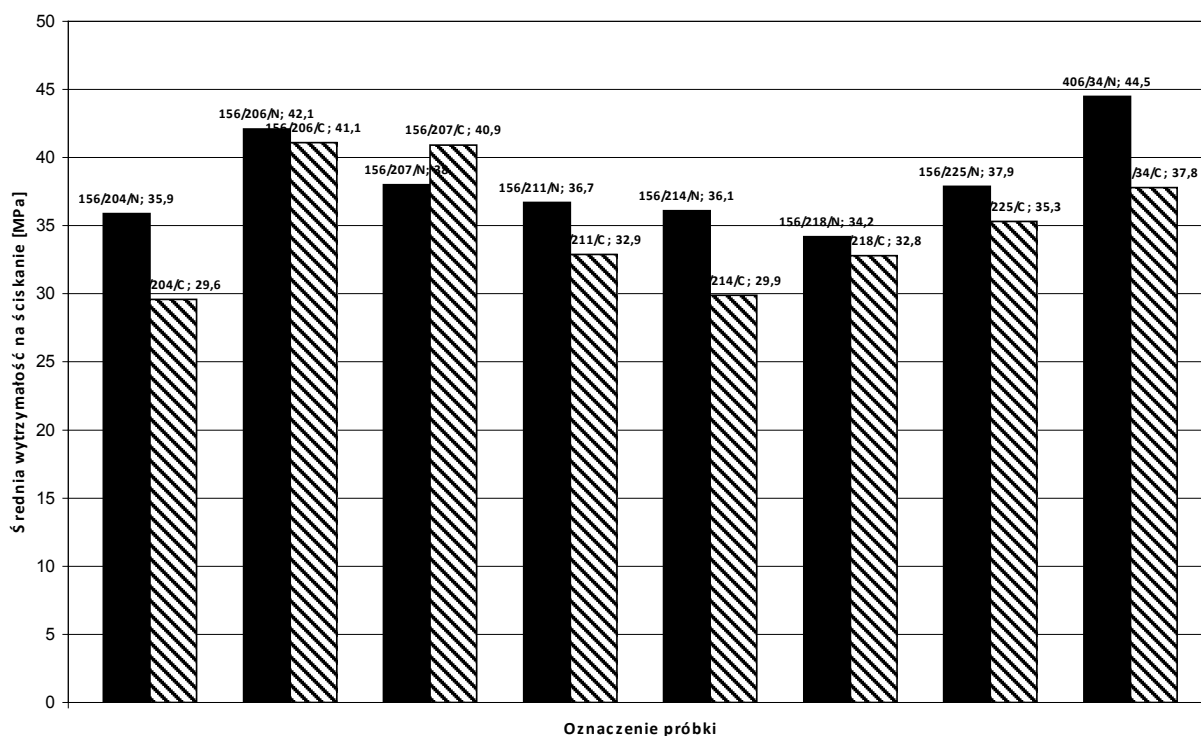
**P:** Przechowywane w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie

W przypadku próbek przechowywanych w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie bez żadnej pielęgnacji wilgotnościowej i temperaturowej można zaobserwować wyraźny spadek wytrzymałości w stosunku do prób wykonanych i pielęgnowanych normowo. Różnica pomiędzy uzyskanymi wytrzymałościami, wyrażona w procentach spadku wytrzymałości wahała się pomiędzy 2,9% a 22,9% w okresie jesiennym, w okresie zimowym wyniosła 29% (tablica 2).

W okresie jesiennym temperatury średnie, maksymalne i minimalne były zbliżone dla próbek oznaczonych nr 156 i wahały się od około  $-0,5^{\circ}\text{C}$  do około  $37,2^{\circ}\text{C}$ . W okresie zimowym (próbka opisana nr 406) temperatura średnia wynosiła  $3,8^{\circ}\text{C}$ , maksymalna  $10,6^{\circ}\text{C}$ , natomiast minimalna  $-4,1^{\circ}\text{C}$ . W tym przypadku otrzymano najwyższy spadek wytrzymałości próbek w porównaniu z analogicznymi próbkami dojrzewającymi normowo wynoszący 29%.

W warunkach budowy bardzo często próbki przechowuje się w pomieszczeniach zamkniętych w warunkach powietrzno-suchych.

Na rysunku 2 przedstawiono porównanie wytrzymałości na ściskanie próbek betonu dojrzewających zgodnie z zaleceniami normy z próbkami przechowywanymi w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym.



**Rysunek 2.** Wytrzymałości na ściskanie próbek betonu dojrzewających zgodnie z zaleceniami normy i przechowywanych w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym

Z przedstawionych wyników widać, że w tym przypadku również uzyskane wyniki badań wytrzymałości na ściskanie próbek w stosunku do próbek przechowywanych normowo mają niższe wartości. W tablicy 3 zamieszczono różnicę wytrzymałości wyrażoną jako procentowy spadek wytrzymałości. Dla próbek przechowywanych w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym spadek wytrzymałości wahał się od około 2% do 15%, średni spadek wytrzymałości wyniósł 8,2 %.

Zarejestrowana temperatura średnia w pomieszczeniu wynosiła  $21,3^{\circ}\text{C}$ , minimalna  $11,4^{\circ}\text{C}$ , natomiast maksymalna  $32,2^{\circ}\text{C}$ .

**Tabela 3.** Spadek wytrzymałości próbek dojrzewających w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym w porównaniu do próbek dojrzewających normowo

LP.	Oznaczenie prób	Średnia wytrzymałość na ściskanie [MP]	Średnia gęstość betonu [kg/m <sup>3</sup> ]	Różnica wytrzymałości [%]
1	156/204/N	35,9	2350	17,5
	156/204/C	29,6	2260	
2	156/206/N	42,1	2340	2,4
	156/206/C	41,1	2290	
3	156/207/N	38	2300	-7,6
	156/207/C	40,9	2260	
4	156/211/N	36,7	2320	10,3
	156/211/C	32,9	2250	
5	156/214/N	36,1	2310	17,2
	156/214/C	29,9	2270	
6	156/218/N	34,2	2330	4,1
	156/218/C	32,8	2260	
7	156/225/N	37,9	2340	6,9
	156/225/C	35,3	2260	
8	406/34/N	44,5	2270	15
	406/34/C	37,8	2190	

Oznaczenia:

Próbki przygotowane zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011:

**N:** Przechowywane wg normy PN-EN 12390-2:2011

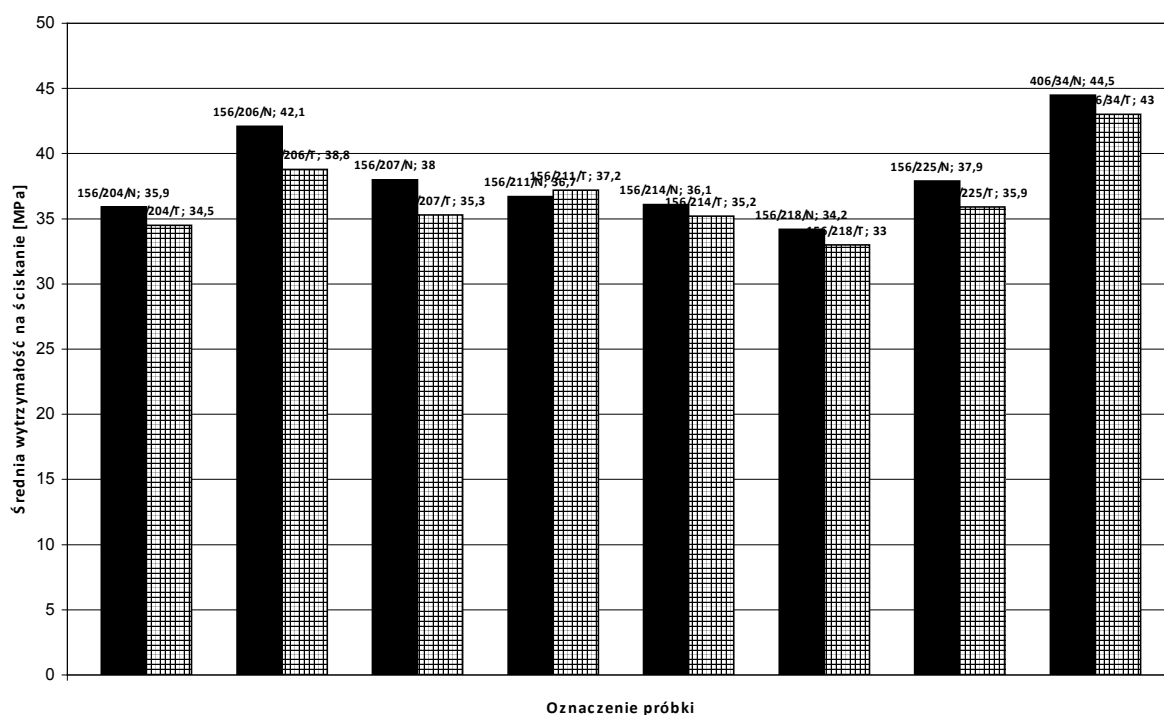
**C:** Przechowywane w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym

#### 4. WPŁYW WARUNKÓW TRANSPORTU PRÓBEK DO LABORATORIUM NA WYTRZYMAŁOŚĆ NA ŚCISKANIE

##### 4.1 Wpływ transportu świeżego betonu na wytrzymałość próbek

W praktyce niektórych laboratoriów zauważa się, że z uwagi na brak czasu wymaganego na prawidłowe pobranie i przygotowanie prób, świeża mieszanka betonowa zostaje umieszczona w formach normowych a następnie próbki świeżo zaformowane są transportowane do laboratorium. Norma PN-EN 12390-2:2011 [4] wyraźnie mówi, że próbki należy zabezpieczyć przed wstrząsami i drganiem oraz pozostawić je w formach co najmniej 16 godzin.

Na rysunku 3 przedstawiono porównanie wytrzymałości na ściskanie po 28 dniach próbek betonu przygotowanych, transportowanych oraz dojrzewających zgodnie z zaleceniem normy [4] z próbkami, które zostały transportowane do laboratorium bezpośrednio po zaformowaniu w formach normowych (150×150×150) mm, gdzie następnie dojrzewały w warunkach normowych.



**Rysunek 3.** Wytrzymałości na ściskanie próbek betonu transportowanych zgodnie z zaleceniami norm i transportowanych bezpośrednio po zaformowaniu

**Tabela 4.** Spadek wytrzymałości próbek transportowanych bezpośrednio po zaformowaniu w porównaniu do próbek dojrzewających normowo

LP.	Oznaczenie prób	Średnia wytrzymałość na ściskanie [MP]	Średnia gęstość betonu [kg/m <sup>3</sup> ]	Różnica wytrzymałości [%]
1	156/204/N	35,9	2350	3,9
	156/204/T	34,5	2350	
2	156/206/N	42,1	2340	7,8
	156/206/T	38,8	2360	
3	156/207/N	38	2300	7,1
	156/207/T	35,3	2300	
4	156/211/N	36,7	2320	-1,4
	156/211/T	37,2	2360	
5	156/214/N	36,1	2310	2,5
	156/214/T	35,2	2320	
6	156/218/N	34,2	2330	3,5
	156/218/T	33	2340	
7	156/225/N	37,9	2340	5,3
	156/225/T	35,9	2350	
8	406/34/N	44,5	2270	3,4
	406/34/T	43	2280	

Oznaczenia:

Próbki przygotowane zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011:

**N:** Transportowane zgodnie z normą

**T:** transportowanych bezpośrednio po zaformowaniu

W tabeli 4 zamieszczono różnicę wytrzymałości wyrażoną jako procentowy spadek wytrzymałości. Z przedstawionych danych wynika, że transport świeżo zaformowanych próbek betonu ma wpływ na otrzymane wyniki wytrzymałości na ściskanie.

Maksymalny spadek wytrzymałości wynosi 7,8%, w przypadku próbek oznaczonych 156/206 i 156/206/T. Nie zauważono wzrostu gęstości próbek transportowanych bezpośrednio po zaformowaniu. W przypadku próbek, które były transportowane w postaci świeżego betonu bardzo duże znaczenie na uzyskiwane wyniki ma m.in. segregacja składników świeżej mieszanki betonowej oraz czas wiązania cementu.

#### 4.2 Wpływ temperatury transportu stwardniałych próbek na wytrzymałość na ściskanie

W celu określenia wpływu temperatury podczas transportu próbek w okresie letnim i zimowym z placu budowy samochodem, który nie ma klimatyzacji do laboratorium, próbki przygotowano w następujący sposób:

##### Symulacja warunków letnich

Próbki wykonano i przechowywano zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011 i PN-EN 12390-2:2011 [4, 6], następnie po trzech dniach próbki zostały umieszczone w temperaturze 50°C na 5 godzin. Podczas przechowywania w temperaturze 50°C próbki owinięto w wilgotną tkaninę. Po okresie 5 godzin (założony maksymalny czas transportu próbek do laboratorium) próbki przechowywano zgodnie z normą wg normy PN-EN 12390-2:2011 [4].

##### Symulacja warunków zimowych

Próbki wykonano i przechowywano zgodnie z normą PN-EN 12350-1:2011 i PN-EN 12390-2:2011 [4, 6], następnie po trzech dniach próbki umieszczono w pojemniku izolowanym styropianem o grubości 2 cm, który przeniesiono do temperatury -10°C na 5 godzin. Po okresie 5 godzin próbki przechowywano zgodnie z normą wg normy PN-EN 12390-2:2011 [4].

Otrzymane wyniki wytrzymałości na ściskanie próbek sezonowanych w ww. warunkach porównano z analogicznymi próbkami, które dojrzewały zgodnie z wytycznymi normy. Uzyskane wyniki przedstawiono w tablicy 5.

Tabela 5. Wytrzymałość na ściskanie próbek

LP.	Sposób przechowywania prób	Średnia wytrzymałość na ściskanie [MP]	Średnia gęstość betonu [kg/m <sup>3</sup> ]	Różnica wytrzymałości [%]
1	Warunki normowe	52,6	2290	
2	Symulacja warunków letnich	50,7	2290	-3,6
3	Symulacja warunków zimowych:	53,6	2310	1,9

Z przedstawionych danych wynika, że dla próbek przewożonych z placu budowy do laboratorium, zabezpieczonych w opisany powyżej sposób na wyniki wytrzymałości nie mają znaczącego wpływu. W przypadku symulacji warunków letnich otrzymano wyniki badań wytrzymałości o około 4% niższe niż dla próbek przechowywanych normowo. W przypadku symulacji warunków zimowych pomimo

otrzymano wytrzymałość o około 2% wyższą niż dla próbek przechowywanych normowo. Wartości te niejednokrotnie mieszczą się w oszacowanej przez laboratoria niepewności badania wytrzymałości betonu na ściskanie.

## 5. PODSUMOWANIE

Na placach budowy często zdarza się, że próbki betonów przeznaczone do badań wytrzymałości na ściskanie przechowywane są w sposób nieprawidłowy. Budowy często nie przykładają należytej wagi do wilgotności oraz temperatury przechowywania próbek. Próbki są przechowywane w przypadkowych miejscach nierzadko narażonych na pełne oddziaływanie środowiska, tj. nasłonecznienie, wiatr, deszcz czy mróz. Dzieje się tak zarówno z próbkami świeżego betonu jak i z próbkami betonu już stwardniałego. Dlatego też laboratoria otrzymując próbki do badań przechowywane w takich warunkach muszą być świadome, że otrzymane wyniki mogą różnić się od wyników jakie otrzymano by w przypadku przechowywania próbek zgodnie z wytycznymi normy. Bardzo jest to ważne przy ocenie klasy wytrzymałości betonu. W referacie przedstawiono wyniki badań które obrazują jak otrzymane wyniki mogą różnić się między sobą w zależności od warunków sezonowania próbek.

Na podstawie uzyskanych wyników badań wytrzymałości na ściskanie dla próbek normowych i próbek przechowywanych w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie można powiedzieć, że wytrzymałość próbek przebywających w warunkach naturalnych może być o 1 klasę wytrzymałości niższa niż próbek normowych w okresie jesiennym. Dla próbek przechowywanych w naturalnych warunkach atmosferycznych na budowie w okresie zimowym uzyskano wytrzymałości na ściskanie o 2 klasy wytrzymałości niższe w porównaniu z analogicznymi próbkami przechowywanymi normowo. Dla próbek przechowywanych w warunkach powietrzno-suchych w pomieszczeniu zamkniętym otrzymano również wytrzymałości o 1 klasę niższe niż dla próbek normowych.

Transport świeżo zaformowanych próbek betonu również ma wpływ na otrzymane wyniki wytrzymałości na ściskanie.

Wpływ niewłaściwego obchodzenia się z próbkami na otrzymywane wyniki badań potwierdził jak ważne jest ich przygotowanie oraz pielęgnacja. W każdym z rozważanych przypadków uzyskano rozbieżności wyników w stosunku do próbek przygotowanych i pielęgnowanych normowo dlatego też laboratoria powinny bezwzględnie stosować się do zaleceń odpowiednich norm a w przypadku badań stwardniałych próbek betonu przygotowywanych przez budowę czy też przez wytwórców betonu powinny zwracać uwagę na to jak dostarczane próbki do badań powinny być przygotowywane i pielęgnowane w celu uzyskania poprawnych wyników badań.

### LITERATURA:

- [1] Jamróży Z. – Beton i jego technologie; PWN, Warszawa 2008.
- [2] Neville A.E. – Właściwości betonu, Polskie Cement, Kraków 2000.
- [3] PN-EN 12390-1:2001, PN-EN 12390-1:2001/AC:2004 „Badania betonu. Część 1: Kształt, wymiary i inne wymagania dotyczące próbek do badania i form.
- [4] PN-EN 12390-2: 2011 „Badanie betonu. Część 2: Wykonywanie i pielęgnacja próbek do badań wytrzymałościowych”.
- [5] PN-EN 12390-3:2011, PN-EN 12390-3:2011/AC:2012 „Badania betonu. Część 3: Wytrzymałość na ściskanie próbek do badań.
- [6] PN-EN 12350-1:2011 „Badania mieszanki betonowej – Część 1: Pobieranie próbek”.



**Żanetta Makowska**  
Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji

## Wyniki badań genetycznych – analiza statystyczna i sprawozdanie z badań

*Dynamiczny rozwój badań genetycznych w ostatnich latach stwarza konieczność stałego dostosowywania narzędzi biologii molekularnej do istniejących potrzeb w identyfikacji sprawców przestępstw. Duży nacisk kładziony jest na standaryzację badań, która wymusza opracowanie jednolitych procedur postępowania podczas wykonywania badań w laboratoriach badawczych i wzorcujących. Zapewnienie jakości uzyskiwanych wyników badań genetycznych w laboratorium jest realizowane poprzez zastosowanie współcześnie dostępnych narzędzi biologii molekularnej, precyzyjną aparaturę pozwalającą z wysoką czułością wykonać pomiary, metod analizy pomiarów, wykorzystanie metod analizy statystycznej. W niniejszej prezentacji przedstawione zostaną metody stosowane w badaniach genetycznych mające na celu identyfikację osobniczą oraz oparte na nich sposoby prezentacji wyników badań przy użyciu narzędzi statystycznych.*

### 1. WSTĘP

W dobie zapotrzebowania wymiaru sprawiedliwości na uzyskanie mocnego środka dowodowego w procesie sądowym, duży nacisk kładziony jest na uzyskanie rzetelnej opinii kryminalistycznej w dziedzinie badań biologicznych. Dzisiejsza genetyka dysponuje szeregiem metod i technik pozwalających precyzyjnie przeprowadzić proces dowodzenia podczas wykonywania ekspertyz kryminalistycznych. Referencyjne, międzynarodowe ośrodki wykonujące badania w dziedzinie nauk sądowych sformułowały kryteria i wymagania, jakie powinny zostać spełnione podczas wykonywania ekspertyz sądowych. Wymagania te dotyczą zarówno procedur badawczych, jak i kompetencji biegłego. Ogromne i nieocenione zasługi w tym zakresie posiada Europejska Sieć Instytutów Nauk Sądowych (ENFSI). Organizacja ta zrzesza największe europejskie instytuty i laboratoria kryminalistyczne. Obecnie liczy ona 64 członków z 36 krajów. Swoim zasięgiem merytorycznym obejmuje prace ponad 6000 ekspertów z różnych dziedzin kryminalistyki. Jej głównym zadaniem jest propagowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej oraz międzynarodowych standardów gwarantujących najwyższą jakość badań i kompetencji personelu wykonującego te badania. W ramach ENFSI funkcjonują grupy robocze zajmujące się poszczególnymi dyscyplinami kryminalistyki. Grupa robocza ds. DNA działająca przy ENFSI zajmuje się jest propagowaniem rozwoju badań genetycznych w Europie, wymianą danych genetycznych na poziomie międzynarodowym, opracowywaniem procedur obowiązujących podczas wykonywania tych badań oraz organizowaniem międzylaboratoryjnych testów biegłości. Do standaryzacji badań przyczyniają się także organizacje takie jak: CENELEC, CEN, PKN poprzez opracowywanie norm zawierających wymagania, kierowanych do laboratoriów badawczych. Standaryzacja badań jest ważnym elementem zapewnienia jakości, rzetelności oraz wiarygodności wyników badań. Świadczy tym samym o organizacji, która dzięki zapewnieniu przejrzystości swojej struktury staje się konkurencyjna na

rynku świadczonych przez nią usług. Policyjne laboratoria kryminalistyczne podjęły wysiłki, by wdrożyć obowiązujące standardy do praktyki badawczej czego wynikiem jest uzyskanie przez nie akredytacji. Akredytacja jest obiektywnym potwierdzeniem kompetencji laboratorium. Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji jako jedno z pierwszych policyjnych laboratoriów kryminalistycznych w Polsce otrzymało akredytację na zgodność z normą PN EN ISO/IEC 17025:2005 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących”, w której zawarte są zalecenia kierowane do laboratoriów badawczych. Konsekwencją akredytacji badań biologicznych są procedury i instrukcje badawcze opisujące w sposób szczegółowy proces badawczy od momentu nadesłania zlecenia do momentu opracowania sprawozdania z badań. Opracowane przez CLKP procedury dotyczą także kompetencji personelu badawczego oraz wyposażenia wykorzystywanego w badaniach. Dzięki stałemu doskonaleniu Systemu Zarządzania Jakością, opinie z zakresu badań biologicznych są rzetelnym dokumentem, który stanowi cenny dowód z badań w sądzie. Wyniki badań biologicznych często są jedynym dowodem w procesie, na podstawie którego sąd orzeka o winie i dokonuje wymiaru kary. Dlatego też dbałość, zapewnienie jakości i kompetencje personelu podczas wykonywania ekspertyzy kryminalistycznej są bardzo istotnymi elementami w postępowaniu biegłego.

## **2. PRZEDMIOT BADAŃ**

Przedmiotem badań biologicznych są ślady pochodzenia ludzkiego: ślady krwi, śliny, nasienia, ślady wydaliny organizmu ludzkiego, włosy oraz fragmenty tkanek miękkich i twardych. Należą też do nich niewidoczne gołym okiem ślady kontaktowe, powstałe podczas dotykania różnego rodzaju przedmiotów. Ślady biologiczne zabezpieczone na miejscu zdarzenia poprzez zebranie ich z podłożem lub zebrane z niego stanowią materiał dowodowy. W celach porównawczych, jeśli to możliwe, zabezpieczany jest także materiał biologiczny porównawczy w postaci wymazu ze śluzówki policzków lub włosów. Przekazany do laboratorium materiał biologiczny jest zabezpieczony zgodnie z obowiązującymi przepisami zarówno technicznie, jak i procesowo. Sposób zabezpieczenia nadesłanego materiału każdorazowo podlega sprawdzeniu i ocenie przez eksperta. Nieprawidłowo zabezpieczony materiał odsyłany jest zlecającemu. Każdemu obiektowi badań nadawane jest w laboratorium indywidualne oznaczenie w postaci kodu paskowego, gwarantującego jego jednoznaczną identyfikację podczas procesu badawczego. Materiał poddawany jest następnie oględzinom. Przy użyciu testów wstępnych mniej lub bardziej specyficznych identyfikowany jest rodzaj substancji obecnej w materiale biologicznym. Wyselekcjonowane przez eksperta próbki poddawane są badaniom genetycznym.

## **3. METODY BADAŃ**

Norma PN EN ISO/IEC 17025:2005 nakłada na laboratoria akredytowane obowiązek wykonywania badań zgodnie z opisanymi przez laboratorium procedurami. Pociąga to za sobą konieczność opisanie w nich całego procesu badawczego. Wszelkie czynności badawcze wykonywane z pobranymi w laboratorium próbkami są odpowiednio udokumentowane, aby umożliwić stałe ich monitorowanie podczas wykonywania badań. Każda nowa metoda wdrażana do rutynowej pracy jest uprzednio sprawdzana podczas doświadczeń walidacyjnych. Ma to na celu potwierdzenie jej użyteczności i skuteczności w badaniach. Wyniki walidacji dokumentowane są w raporcie i przedstawiane personelowi do zapoznania przed jej wdrożeniem. W kryminalistycznych badaniach biologicznych wykorzystywane są zestawy do identyfikacji osobniczej, zawierające piętnaście identyfikacyjnych markerów genetycznych oraz marker płci.

### 3.1 Izolacja DNA

Pobrane z materiału dowodowego czy porównawczego próbki do badań poddawane są procesowi izolacji DNA. Ma ona na celu uzyskanie oczyszczonego materiału genetycznego. W laboratorium stosowane są różnego rodzaju metody izolacji, a ich zastosowanie i wybór uzależniony jest od rodzaju materiału biologicznego.

### 3.2 Oznaczenie ilości DNA

W celu oznaczenia ilości DNA wykorzystywana jest metoda Real-Time PCR polegająca na pomiarze fluorescencyjnym DNA z zastosowaniem hybrydujących sond znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi. Jest to metoda specyficzna dla ludzkiego DNA, która z dużą precyzją określa jego ilość.

### 3.3 Amplifikacja DNA

Uzyskany DNA wymaga namnożenia, tj. jego powielenia. W tym celu wykorzystywana jest metoda multipleksowej amplifikacji DNA (reakcja PCR), polegająca na powieleniu ilości DNA przy zastosowaniu zestawów odczynników do identyfikacji osobniczej. Nowe metody amplifikacji w multipleksowych systemach STR umożliwiają powielenie wielu układów w jednej reakcji. Skraca to czas, w jakim zachodzi reakcja amplifikacji. Biologia molekularna dysponuje dzisiaj szeregiem takich zestawów, charakteryzujących się dokładnością, powtarzalnością i specyficznością. W kryminalistycznych badaniach biologicznych wykorzystywane są różnego rodzaju zestawy komercyjne. Jedne z nich służą do identyfikacji krótkich, powtarzalnych polimorficznych fragmentów autosomalnego DNA jądrowego oraz takie, które wykorzystywane są do identyfikacji DNA obecnego na chromosomach płci. Rodzaj zastosowanego zestawu uzależniony jest od rodzaju zdarzenia i materiału biologicznego.

### 3.4 Elektroforeza

Namnożone produkty reakcji PCR rozdzielane są w procesie elektroforezy przy zastosowaniu wysoce specjalistycznego sprzętu tj. w analizatorach genetycznych. Proces ten zachodzi w obecności standardu wewnętrznego oraz przy zastosowaniu wzorca w postaci drabiny allelicznej. Obraz, jaki uzyskuje się w wyniku elektroforezy zostaje poddany analizie i interpretacji przez eksperta przy zastosowaniu opisanych w procedurach zasad.

## 4. ANALIZA STATYSTYCZNA WYNIKÓW BADAŃ

Wyniki badań genetycznych w postaci profili DNA poddawane są analizie przy użyciu specjalistycznego oprogramowania. Podczas takiej analizy obowiązują ściśle określone procedury. Są w nich zawarte zasady interpretacji wyników badań zgodne z międzynarodowymi standardami. W zależności od uzyskanego wyniku badań, w analizie i interpretacji wykorzystywane są wzory statystyczne służące do oszacowania wyniku badań. Są to najczęściej:

### 4.1 Prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności

Metoda ta oparta jest na hipotezie odnoszącej się do pochodzenia DNA w badanym śladzie. Prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności obliczane jest wtedy, gdy podczas analizy wyniku z badań DNA zakłada się hipotezę, że DNA uzyskany z materiału dowodowego nie pochodzi od osoby podejrzanej, mimo zgodności wszystkich alleli w badanych układach, tylko może pochodzić od przypadkowej niespokrewnionej z podejrzanym osoby z populacji. Wyraża się ono we wzorze:

$$P_r(E/H_0) = 2p_A p_B \text{ (heterozygota)} \quad (1)$$

lub

$$P_r(E/H_0) = (p_C)^2 \text{ (homozygota)} \quad (2)$$

gdzie:

$P_r$  – oznacza prawdopodobieństwo,

$E$  – oznacza dowód z badań DNA,

$H_0$  – założona hipoteza,

$p_A$  i  $p_B$  – oznaczają częstości występowania alleli A i B w populacji,

$p_C$  – oznacza częstość występowania allela C w populacji.

Końcowa wartość oznacza, jakie jest prawdopodobieństwo, że przypadkowa niespokrewniona z podejrzanym osoba z populacji mogłaby mieć taki sam profil genetyczny.

## 4.2 Prawdopodobieństwo wykluczenia

Określa ono, z jakim prawdopodobieństwem przypadkowa osoba z populacji może być wykluczona jako źródło DNA w badanym śladzie. Wyraża się ono we wzorze:

$$P_{ex.} = 1 - 2p_A p_B \text{ (heterozygota)} \quad (3)$$

lub

$$P_{ex.} = 1 - (p_C)^2 \text{ (homozygota)} \quad (4)$$

gdzie:

$P_{ex.}$  – oznacza prawdopodobieństwo wykluczenia

Końcowa wartość oznacza, jakie jest prawdopodobieństwo, że przypadkowa niespokrewniona z podejrzanym osoba z populacji mogłaby być wykluczona jako źródło DNA w badanym śladzie.

## 4.3 Iloraz wiarygodności LR (ang. *Likelihood Ratio*)

Wartość LR wyraża siłę dowodu z badań DNA przy założeniu dwóch alternatywnych hipotez odnoszących się co do pochodzenia DNA w badanym śladzie, stawianych najczęściej przez oskarżyciela i obrońcę.

Hipoteza oskarżyciela ( $H_p$ ) zakłada, że badany ślad biologiczny pochodzi od podejrzanego, o czym świadczy zgodność profili DNA dla materiału dowodowego i porównawczego.

Hipoteza obrony ( $H_d$ ) zakłada, że DNA w badanym śladzie pochodzi od przypadkowej niespokrewnionej osoby z populacji, mimo zgodności profili DNA.

$$LR = P_r(E/H_p) : P_r(E/H_d) \quad (5)$$

gdzie:

$E$  – oznacza dowód z badań,

$H_p$  – oznacza hipotezę oskarżyciela,

$H_d$  – oznacza hipotezę obrony.

## 5. ANALIZA I INTERPRETACJA WYNIKÓW BADAŃ – WNIOSKI

W badaniach biologicznych możliwe są następujące rodzaje wnioskowania:

1. Otrzymano czysty pełny profil osoby.
2. Otrzymano niepełny profil osoby.

### 3. Otrzymano mieszaninę DNA

- od dwóch osób,
- od kilku osób.

### 4. Otrzymano śladową ilość DNA.

### 5. Nie otrzymano produktów amplifikacji DNA.

Każdemu wynikowi przypisywana jest konkluzja słowna w postaci wniosku, która zawarta jest w opinii z badań.

## 6. SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI WYNIKÓW BADAŃ

Wykorzystywana w laboratorium metoda badań DNA jest metodą jakościową, która uniemożliwia ściśle, metrologiczne szacowanie niepewności pomiarów. W celu potwierdzenia prawidłowego przebiegu procesu oraz powtarzalności wyników badań, laboratorium zidentyfikowało czynniki wpływające na wyniki badań. Należą do nich między innymi: precyzja i kompetencje personelu oraz wyposażenie do badań.

## 7. ZAPEWNIENIE JAKOŚCI WYNIKÓW BADAŃ

W trosce o dobro klienta oraz zapewnienie wiarygodnego i miarodajnego wyniku badań genetycznych, w każdym akredytowanym laboratorium powinny być opracowane procedury zapewnienia jakości uzyskiwanych wyników badań. Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji posiada takie procedury. Dotyczą one zarówno stosowanej procedury badawczej, stosowanego w badaniach wyposażenia, a także kompetencji personelu badawczego. Zapewnienie jakości wyników badań na poziomie procedury polega na włączaniu do rutynowej pracy przy każdym etapie badań, kontroli pozytywnej tj. profilu o znanym genotypie, dla której pozytywny wynik wskazuje na poprawność przeprowadzonego badania oraz kontroli negatywnej, dla której pozytywny wynik świadczy o czystości procesu. Zapewnienie jakości wyników badań na poziomie wyposażenia polega na systematycznym jego sprawdzaniu i serwisowaniu. Każde urządzenie w laboratorium mające wpływ na wyniki badań jest oznaczone etykietą, zawierającą informacje o statusie nadzoru metrologicznego. Personel wykonujący badania uczestniczy ponadto w badaniach międzylaboratoryjnych oraz badaniach biegłości organizowanych przez zewnętrzne renomowane jednostki. Z badań tych laboratorium otrzymuje każdorazowo certyfikaty uczestnictwa potwierdzające kompetencje laboratorium w dziedzinie badań biologicznych.

## 8. KOMPETENCJE PERSONELU

Zlecone badania biologiczne prowadzone są przez eksperta posiadającego uprawnienia do samodzielnego wydawania opinii w policyjnych laboratoriach kryminalistycznych. Uprawnienia takie nadaje Dyrektor Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego po pozytywnie zakończonym procesie szkolenia oraz zdany egzaminie. Ponadto personel uczestniczy w szkoleniach doskonalących i w sposób ciągły podnosi swoje kwalifikacje. Wszelkie upoważnienia do wykonywania poszczególnych etapów badań są udokumentowane w kartach kompetencji personelu badawczego oraz pomocniczego i technicznego.

## 9. WYPOSAŻENIE DO BADAŃ

Wyposażenie wykorzystywane w badaniach mające bezpośredni wpływ na wyniki badań objęte jest stałym nadzorem metrologicznym. Nadzór ten zapewniony jest w głównej mierze poprzez okresowe

sprawdzenia przez autoryzowany serwis. Rodzaj nadzoru oraz jego częstotliwość zawarte są w harmonogramie wzorcowania/sprawdzania/przebiegów na każdy rok. Ponadto pomiędzy regularnym serwisem wyposażenie podlega sprawdzeniu bieżącemu lub przed każdym użyciem. Sprawdzenia takiego dokonują osoby do tego uprawnione, posiadające stosowne upoważnienia.

## 10. SPRAWOZDANIE Z BADAŃ

Proces badawczy oraz prezentowanie wyników badań biologicznych szczegółowo przedstawiane jest w postaci dokumentu zwanego opinią. Opinia z zakresu badań biologicznych sporządzana jest przez eksperta i zawiera elementy wymagane przez Kodeks Postępowania Karnego, jako główny dokument dla biegłego sądowego. W opinii z badań prezentowany jest oprócz wymogów formalnych, szczegółowy opis nadesłanego do badań materiału oraz wszystkich czynności badawczych, jakim poddany by on podczas wykonywania ekspertyzy kryminalistycznej. Ponadto każdemu otrzymanemu wynikowi przypisywana jest konkluzja słowna, która określa siłę dowodu z badań i wyraża się ona we wnioskach do opinii.

### LITERATURA:

- [1] Buckleton J., Triggs C.M., Walsh S.J. Forensic DNA Evidence Interpretation, CRC Press, London, 2005.
- [2] Butler J.M., Forensic DNA Typing, Elsevier Academic Press, second edition, 2005.
- [3] Wójcikiewicz J.: Ekspertyza sądowa, Zakamycze, Kraków, 2002.
- [4] Dąbrowska J., Makowska Ż., Spólnicka M., Szablowska-Gnap E., Teoretyczne podstawy analizy mieszanin DNA w multipleksowych systemach STR, Problemy Kryminalistyki, w druku.

## **Profilowanie jako sposób grupowania i ustalania podobieństwa pomiędzy wynikami pomiarów analitycznych na przykładzie badań siarczanu amfetaminy**

*W referacie przedstawiono zarys sposobu porównywania próbek pod względem składu chemicznego zanieczyszczeń amfetaminy na przykładzie badań tej substancji metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Scharakteryzowany został sposób transformacji wyników badań do postaci umożliwiającej ich opracowanie statystyczne, przedstawione zostały miary odległości wraz ze sposobem grupowania wyników, a także omówiona została rola profilowania amfetaminy w badaniach kryminalistycznych.*

### **1. WPROWADZENIE**

Specyfika badań wykonywanych przez kryminalistyczne laboratoria analityczne określona jest poprzez zadania jakie stoją przed kryminalistyką jako nauką. Zadania te to przede wszystkim pomoc w ustaleniu czy fakt popełnienia przestępstwa rzeczywiście miał miejsce, odtworzenie przebiegu zdarzenia, identyfikacja sprawcy przestępstwa oraz wspieranie procesu zapobiegania tego typu zjawiskom w przyszłości. W wielu przypadkach rola analityka kończy się na pierwszym zadaniu i wówczas sprowadza się ona do identyfikacji substancji, której posiadanie jest zabronione, np. narkotyków syntetycznych takich jak amfetamina. Aby móc pójść krok dalej i określić źródło próbki narkotyku oraz jego związek z próbkami przebadanymi wcześniej, koniecznym jest posiadanie odpowiedniego narzędzia, które umożliwia grupowanie i ustalanie podobieństwa pomiędzy wynikami pomiarów analitycznych. Profilowanie jest takim narzędziem i może być wykorzystane także do zastosowań nie związanych z kryminalistyką.

### **2. PROFILOWANIE**

Poprzez analogię do genetyki, profilowanie polega na określeniu chemicznej charakterystyki – profilu badanej próbki. W przypadku amfetaminy, która w postaci siarczanu jest najczęściej występującym w Polsce narkotykiem syntetycznym, charakterystyka polega na określeniu chemicznego składu zanieczyszczeń występujących równolegle wraz z głównym składnikiem. Obecność oraz rodzaj zanieczyszczeń zależy od zastosowanej metody syntezy, co skutkuje obecnością określonych charakterystycznych dla tej metody śladów prekursorów użytych do reakcji, produktów reakcji ubocznych oraz zanieczyszczeń pochodzących od substratów bądź rozpuszczalników. Ponadto, na każdym etapie produkcji bądź dystrybucji mogą zostać dodane związki mające za zadanie zwiększenie masy narkotyku bądź zintensyfikowanie działania substancji czynnej, które również mają wpływ na profil danej próbki narkotyku.

### 3. WYBÓR MARKERÓW

Pierwszym krokiem do opracowania metody profilowania jest stworzenie katalogu zanieczyszczeń związków chemicznych stanowiących markery występujące w próbkach rzeczywistych. Taki katalog może powstać w wyniku samodzielnej syntezy głównego składnika w laboratorium, a następnie identyfikacji zanieczyszczeń, bądź też może opierać się o dane literaturowe lub informacje zgromadzone w toku wcześniejszych analiz. Wybór markerów nie jest sprawą prostą, gdyż muszą one zostać tak dobrane, aby były charakterystyczne dla danej próbki pod względem takich cech jak np. metoda syntezy, pochodzenia substratu, a jednocześnie ich stężenie musi zmieniać się w zależności od warunków reakcji, procesów oczyszczania i wydzielania związku głównego. Poza tym, prawidłowo wybrany marker musi być stabilny i jego stężenie nie powinno zmieniać się wraz z upływem czasu. W przypadku amfetaminy, zidentyfikowanych zostało 51 różnych zanieczyszczeń, z których do budowy modelu wybrano 33 markery, a w wyniku dalszej analizy statystycznej ich liczba została ograniczona do 26 markerów [1].

### 4. NUMERYCZNE OPRACOWANIE WYNIKÓW

W profilowaniu amfetaminy wykorzystywana jest chromatografia gazowa z detektorem mas. Z uwagi na ramy niniejszego opracowania, sposób przygotowania próbek, optymalizacja metody oraz parametry analizy zostaną pominięte a nacisk zostanie położony na ewaluację danych. Warunkiem koniecznym do budowy modelu jest odpowiednia prezentacja wyników. Uzyskiwane chromatogramy eksportowane są w postaci plików zawierających między innymi czasy retencji i wartości pól powierzchni pod pikami markerów, a także kod pozwalający na indywidualizację próbki. Następnie tworzony jest wektor w  $n$ -wymiarowej przestrzeni euklidesowskiej, w taki sposób, że każda ze współrzędnych odpowiada polu powierzchni pod pikiem danego markera.

$$x = (x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (1)$$

Tak powstały wektor wymaga dalszych przekształceń matematycznych, tak aby uniknąć sytuacji, gdy intensywność którejś ze współrzędnych zdominuje końcowy wynik obliczeń. Przekształcenia te mają również na celu uwzględnienie zmienności poszczególnych współrzędnych niezależnie od ich wartości. Spośród spotykanych w literaturze przekształceń wymienić należy:

- normalizację, która polega na podzieleniu każdej ze współrzędnych przez sumę wszystkich współrzędnych;
- standaryzację, która polega na odjęciu od danej współrzędnej wartości średniej i podzieleniu uzyskanego wyniku przez odchylenie standardowe, przy czym wartość średnia i odchylenie standardowe są obliczane dla danej współrzędnej na podstawie wszystkich rekordów;
- metodę logarytmu dziesiętnego, która polega na obliczeniu logarytmu dziesiętnego z każdej współrzędnej, pod warunkiem, że nie jest ona równa zero;
- metodę pierwiastka, która polega na obliczeniu pierwiastka czwartego stopnia z wartości każdej współrzędnej.

Każda z powyższych procedur ma swoje zalety i wady. Na przykład standaryzacja pozwala na zrównanie wkładu markerów o dużym i małym polu powierzchni pod pikiem. Ponadto wszystkie współrzędne przyjmują wówczas wartości z przedziału od  $-1$  do  $1$ , sumaryczna średnia wynosi  $0$  a odchylenie standardowe  $1$ . Wadą standaryzacji jest przyznawanie zbyt dużego wkładu markerom o małej intensywności piku oraz konieczność obliczania średniej i odchylenia standardowego z dużej serii danych. Ważną kwestią przy opracowywaniu wyników jest również sposób radzenia sobie ze współrzędnymi, których wartość jest równa zero. Możliwe są dwa rozwiązania: współrzędne takie są pomijane w obliczeniach bądź też zero zastępowane jest przez wartość, która równa jest połowie limitu detekcji metody.

W wyniku przeprowadzonych przekształceń uzyskuje się macierz wyników o wymiarach  $m \times n$ , w której wiersze odpowiadają kolejnym obserwacjom natomiast kolumny to współrzędne wybranego wektora.

## 5. MIARY ODLEGŁOŚCI

Kolejnym zabiegiem wymaganym do uporządkowania zbioru danych w grupy z elementami o zbliżonych cechach jest zdefiniowanie odległości pomiędzy dwoma wektorami. Odległość ta jest traktowana jako wyznaczniki podobieństwa pomiędzy dwoma wektorami. Najczęściej spotykanymi miarami odległości są:

- odległość euklidesowska (2),

$$d(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2} \quad (2)$$

- odległość mierzona współczynnikiem korelacji Pearsona  $r_{xy}$  (3),

$$d(x, y) = 1 - r_{xy} \quad (3)$$

- odległość mierzona kwadratem współczynnika korelacji Pearsona  $r_{xy}$  (4),

$$d(x, y) = \sqrt{1 - r_{xy}^2} \quad (4)$$

- odległość Canberra (5),

$$d(x, y) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|x_i - y_i|}{|x_i + y_i|} \quad (5)$$

- odległość Czybyszewa (6),

$$d(x, y) = \max(|x_i - y_i|) \quad (6)$$

- odległość Manhattan (7),

$$d(x, y) = \sum_{i=1}^n |x_i - y_i| \quad (7)$$

W celu porównania między sobą efektywności poszczególnych miar uzyskiwane odległości powinny być znormalizowane.

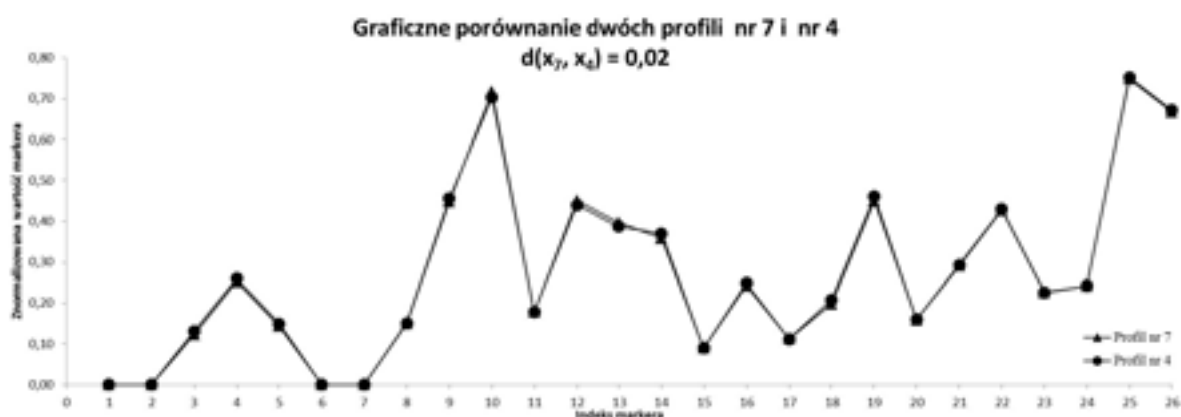
### 5.1 Miary odległości wykorzystywane w Centralnym Laboratorium Kryminalistycznym Policji

W 1993 roku, kiedy rozpoczęto profilowanie amfetaminy w ówczesnym CLK KGP profilowaniem objęto 15 markerów, charakterystycznych dla najbardziej popularnej w Polsce metody syntezy amfetaminy – metody Leuckarta, a analizy wykonywane były z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo – jonizacyjnym (FID). Profile siarczanu amfetaminy budowane były w ten sposób, że chromatogramy poddawano standaryzacji, natomiast miarą podobieństwa była odległość mierzona kwadratem współczynnika korelacji Pearsona [2]. W 2008 roku po zakończeniu roku projektu TEACH MSD grupa markerów została rozszerzona do 26 związków, tak aby uwzględnić zanieczyszczenia charakterystyczne również dla rzadziej spotykanych metod syntezy: redukcyjnego aminowania oraz nitrostyrenowej. Rutynowo rozpoczęto wykorzystywanie chromatografii gazowej z detektorem mas. Oba

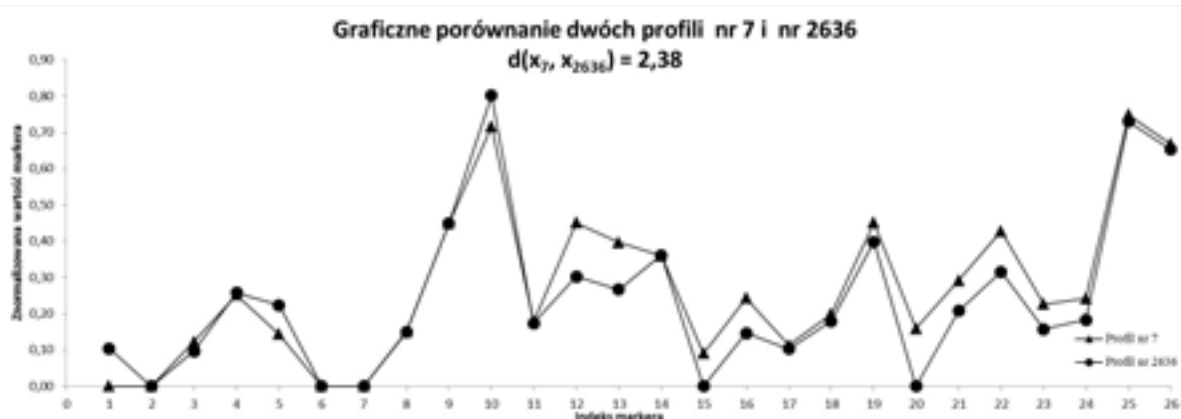
te elementy wymusiły zmianę metody transformacji uzyskiwanych chromatogramów, które od tego momentu poddawano normalizacji, a następnie z wartości każdej ze współrzędnych obliczano pierwiastek czwartego stopnia. Ponadto, przed normalizacją, każda ze współrzędnych, która był równa zero została zastąpiona wartością 200, odpowiadającą połowie limitu detekcji detektora mas. Dotychczas stosowana miara podobieństwa uległa zastąpieniu przez znormalizowaną odległość mierzoną współczynnikiem korelacji Pearsona (8).

$$d(x, y) = \frac{1 - r_{xy}}{2} * 100 \quad (8)$$

Podobieństwo pomiędzy dwoma profilami wzrasta wraz ze zmniejszaniem się wartości odległości wyrażonej wzorem (8) i wówczas wykresy profili praktycznie pokrywają się (Rysunek 1). W przypadku różnych profili (Rysunek 2) widoczne są istotne różnice w przebiegu wykresów, co ma również odzwierciedlenie w wartości  $d(x_7, x_{2636})$ .



Rysunek 1. Graficzne porównanie dwóch podobnych profili.



Rysunek 2. Graficzne porównanie dwóch różnych profili.

Ponadto po zakończeniu projektu zmienione zostały również progi definiujące uzyskiwane modele prawdopodobieństwa pomiędzy dwoma profilami [3]. Progi te zestawiono w Tabeli 1.

**Tabela 1.** Stosowane modele podobieństwa próbek.

<b>d(x,y)</b>	<b>Opis podobieństwa</b>
0,0 ÷ 0,5	Próbki pochodzą z tej samej partii, bądź z tego samego laboratorium wykorzystującego jedną recepturę.
0,5 ÷ 1,0	Próbki pochodzą z tego samego laboratorium i nie wykluczone, że mogą pochodzić z tej samej partii.
1,0 ÷ 2,0	Próbki najprawdopodobniej pochodzą z tego samego laboratorium lub laboratorium, które wykorzystuje identyczną recepturę.
> 2,0	Próbki pochodzą z różnych źródeł.

Wartości przedstawione w Tabeli 1 mają za zadanie pomóc w organizacji danych gromadzonych w zbiorze danych i powinny być traktowane jako wytyczne. Końcowa ocena podobieństwa pomiędzy dwoma chromatogramami powinna być poparta dokładną analizą różnic i podobieństw surowych chromatogramów i odpowiadających im widm masowych.

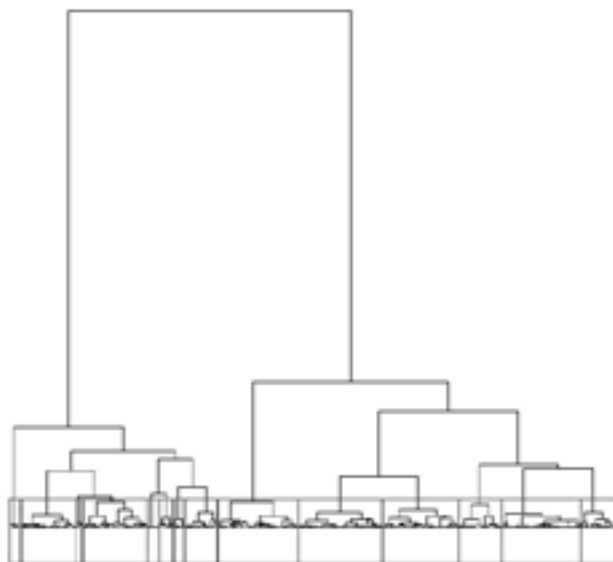
Projekt TEACH MSD zaowocował również wdrożeniem nowego ujednoczonego oprogramowania, służącego do gromadzenia danych i umożliwiającego wymianę informacji pomiędzy europejskimi laboratoriami kryminalistycznymi.

## 6. GRUPOWANIE WYNIKÓW BADAŃ

W profilowaniu amfetaminy do analizy zbioru danych wykorzystywane są najczęściej dwie metody: analiza składowych głównych oraz analiza skupień. Analiza składowych głównych polega na poszukiwaniu wyjaśnienia struktury zbioru za pomocą liniowych kombinacji pierwotnych zmiennych, w taki sposób aby zredukować liczbę zmiennych bez znaczącej utraty informacji [4]. Te liniowe kombinacje są nazywane składowymi głównymi i obliczane są na podstawie wartości i wektorów własnych macierzy kowariancji pierwotnego zbioru danych. Każda ze składowych głównych wyjaśnia część zmienności zbioru, która jest równa wartości własnej dzielonej przez początkową liczbę zmiennych. Istotną kwestią jest ustalenie liczby składowych głównych. W tym celu stosowane są różne kryteria, najczęściej spotykane to kryterium wartości własnej oraz kryterium części wariancji wyjaśnianej przez składowe główne. Zgodnie z pierwszym kryterium należy pozostawić te składowe, dla których wartość własna jest większa od 1. Kryterium części wariancji wyjaśnianej przez składowe główne bazuje na arbitralnym założeniu, jaki procent zmienności ma zostać wyjaśniona. Zmniejszenie ilości wymiarów upraszcza analizę modelu, ułatwia dalsze badanie zbioru, wskazuje na korelacje pomiędzy zmiennymi oraz może ułatwić decyzję o usunięciu pierwotnych zmiennych – markerów. Wyniki analizy składowych głównych przedstawiane są zwykle graficznie za pomocą wykresu rozwiązań (ang. *score plot*) i wykresu współczynników (ang. *loading plot*). Próbki, które leżą blisko siebie na wykresie rozwiązań, są podobne i ich podobieństwo może oznaczać w przypadku profilowania amfetaminy np. wspólną metodę syntezy. Wykres współczynników przedstawia zależności pomiędzy pierwotnymi zmiennymi. Punkty leżące blisko siebie są dodatnio skorelowane natomiast, te które leżą naprzeciwko względem początku układu współrzędnych są skorelowane ujemnie. Korelacja pomiędzy poszczególnymi zmiennymi ma również związek z zastosowaną metodą syntezy.

Do analizy skupień wykorzystywana jest metoda hierarchiczna. W metodzie tej nie jest znana docelowa ilość klastrów a w wyniku jej realizacji powstaje wykres w postaci dendrogramu. Budowa dendrogramu rozpoczyna się od przypisania wszystkich rekordów do jednoelementowych klastrów. Następnie tworzona jest macierz par rekordów, dla których wzajemna odległość  $d(x,y)$  jest najmniejsza. Każda z par tworzy kolejny klaster. W dalszym etapie obliczana jest odległość pomiędzy nowopowstałymi klastra-

mi, do czego stosuje się różne metody wyznaczania odległości np. metodę środka ciężkości, metodę najdalszego bądź najbliższego sąsiadami lub metodę Warda bazująca na analizie wariancji. Iteracja kończy się, gdy wszystkie dane połączone zostaną w jeden klastrowy. Liczbę klastrowy można ustalić poprzez odcięcie gałęzi dendrogramu na żądanej wysokości. Na Rysunku nr 3 przedstawiono w postaci dendrogramu 620 profili amfetaminy zarejestrowanych w Centralnym Laboratorium Kryminalistycznym Policji w 2012 roku. Dendrogram sporządzono stosując odległość mierzona współczynnikiem korelacji Pearsona oraz wykorzystując metodę grupowania Warda. Prostokątami zaznaczono przykładowe odcięcie, w wyniku którego powstało 14 klastrowy o następującej liczności profili: 81, 34, 86, 66, 56, 36, 83, 45, 77, 13, 14, 11, 11 i 7.



**Rysunek 3.** Profile amfetaminy zarejestrowane w 2012 roku przedstawione w postaci dendrogramu.

Analiza skupień wspomaga proces tworzenia klastrowy, które zwykle generowane są na podstawie odległość mierzona współczynnikiem korelacji Pearsona zgodnie z wytycznymi przywołanymi w Tabeli nr 1 i wskazują na próbki, które pochodzą z tego samego laboratorium.

## 7. WSPÓŁPRACA MIĘDZYNARODOWA

Laboratoria kryminalistyczne krajów europejskich zrzeszają się w tzw. Europejskiej Sieci Instytutów Nauk Sądowych (ang. *ENFSI*), której zadaniem jest między innymi zapewnienie wysokiej jakości prowadzonych badań. W ramach realizacji tego zadania organizowane są: wspólne badania biegłości poprzez porównania międzylaboratoryjne, opracowane są procedury oraz metodyki badawcze, a także prowadzone są bazy danych. Podczas europejskiego projektu AGIS w latach 2003–2007 prowadzone były badania nad harmonizacją metody profilowania amfetaminy. Początkowo Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji uczestniczyło jako obserwator w projekcie CHEDDAR, a następnie już jako aktywny członek w kontynuacji projektu pod nazwą TEACH MSD. Polscy eksperci odpowiedzialni za wdrożenie programu TEACH MSD ukończyli szkolenie w fińskim laboratorium kryminalistycznym oraz uzyskali stosowne certyfikaty potwierdzające kompetencje pracowników. Należy podkreślić, że wszyscy europejscy uczestnicy projektu zakupili identyczne chromatografy gazowe z detektorem mas oraz wdrożyli te same procedury analityczne. Warunkiem pełnego uczestnictwa w programie było uży-

skanie pozytywnego wyniku z testu kompetencyjnego, który składał się z sześciu etapów i polegał na:

- wyznaczeniu względnej powtarzalności i odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej wyników w oparciu o wzorcową mieszaninę kontrolną estrów i alkanów tak, aby średnia wartość nie przekraczała 1,5%;
- sprawdzeniu liniowości metody;
- wyznaczeniu powtarzalności i odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej wyników w oparciu o analizę wzorcowych próbek amfetaminy otrzymanych w drodze syntezy metodą Leuckarta i metodą redukcyjnego aminowania, tak aby średnia wartość odległości zdefiniowanej za pomocą współczynnika korelacji Pearsona (8) nie przekraczała odpowiednio wartości 0,01 oraz 0,02 w przypadku analiz prowadzonych w tym samym dniu oraz 0,07 i 0,10 w przypadku analiz prowadzonych w różnych dniach;
- prawidłowej integracji dwudziestu chromatogramów próbek amfetaminy nadesłanych przez lidera projektu, tak aby różnice w odległościach zdefiniowanych z pomocą współczynnika korelacji Pearsona (8) uzyskane przez lidera oraz przez laboratorium poddane testowi nie były większe niż 0,1;
- nadesłaniu do laboratorium lidera projektu dziesięciu różnych próbek amfetaminy wraz z wynikami i interpretacją w celu ich weryfikacji w laboratorium lidera projektu.

Ponadto, potwierdzenie kompetencji Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego Policji zostało wykazane w 2005 roku poprzez uzyskanie akredytacji na zgodność z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2005 w obszarze procedury badań siarczanu amfetaminy. Zaliczenie testu pozwoliło na przyłączenie laboratorium do europejskiej bazy, w której kolekcjonowane są profile amfetaminy wszystkich współpracujących państw. W ramach grupy, dwa razy do roku organizowane są również testy biegłości poprzez porównania międzylaboratoryjne, które polegają na analizie i interpretacji wyników trzech próbek amfetaminy. W każdym cyklu testów próbki przygotowywane są przez kolejnego uczestnika programu, na którym spoczywa również obowiązek opracowania zbiorczego raportu z porównań międzylaboratoryjnych.

## 8. PODSUMOWANIE

Postęp oraz dostępność aparatury o coraz lepszych możliwościach badawczych sprawia, że w nowoczesnym laboratorium generowana jest coraz większa ilość wyników analitycznych. Obfitość danych ułatwia tworzenie baz danych, a klasyczne metody chemometryczne, do jakich zalicza się profilowanie, umożliwiają porządkowanie, klasyfikowanie oraz wyszukiwanie związków pomiędzy danymi. Rozwój technik informatycznych a także dostępność komercyjnych oraz otwartych statystycznych programów komputerowych ułatwia również eksplorację danych. Wyniki profilowania amfetaminy umożliwiają ustalenie metody syntezy narkotyku, a także dają podstawy do oceny aktywności produkcyjnej nielegalnego laboratorium narkotykowego. Ma to ogromne znaczenie w pracy operacyjnej Policji ponieważ ułatwia monitoring prekursorów i odczynników wykorzystywanych w syntezie oraz usprawnia proces rozpracowywania sieci dystrybucji narkotyków.

### LITERATURA:

- [1] Andersson K, Lock E. i inni, Development of a harmonised method for the profiling of amphetamines VI. Evaluation of methods for comparison of amphetamine, *Forensic Science International*, 169 (2007) 86–99.
- [2] Krawczyk W. S, Profilowanie narkotyków, Wydawnictwo Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP, Warszawa 1998.
- [3] Lock E., Development of a harmonised method for the profiling of amphetamine, praca doktorska, Uniwersytet w Lozannie, 2005.
- [4] Larose D. T, Metody i modele eksploracji danych, PWN, Warszawa 2008.



## Zarządzanie wynikami pomiarów właściwości fizyko-mechanicznych w kontekście zróżnicowanej metodyki pomiarowej

*Akredytowane laboratoria badawcze niezależnie od profilu swojej działalności zobligowane są do prowadzenia badań, zbierania wyników badań oraz ich prezentacji zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2005+AC:2007 oraz odpowiednimi dokumentami Polskiego Centrum Akredytacji. Specyfika pomiarów wielkości włókienniczych i sposobu uzyskania wyniku pomiaru związana jest z ogromną różnorodnością obiektów włókienniczych, a także z charakterystycznymi cechami tych obiektów. W referacie prezentowany będzie podział przykładowych właściwości wyrobów włókienniczych wyznaczanych w laboratorium pod kątem metody uzyskiwania wyników pomiarów. W zależności od sposobu uzyskania wyniku: pomiar bezpośredni i pośredni, pomiar na drodze oceny organoleptycznej w oparciu o kryteria i pomiar w oparciu o wiedzę osoby wykonującej badanie, wartości składowe jego niepewności mogą być szacowane z zastosowaniem metody typu A – obliczania niepewności drogą analizy statystycznej serii pojedynczych obserwacji, typu B – obliczania niepewności sposobami innymi niż analiza serii obserwacji bądź obu typów metod. Dla każdego z wymienionych sposobów pozyskania wyniku pomiaru podano przykładowy cykl pomiaru – od przygotowania próbki do uzyskania wyniku końcowego pomiaru wraz z oszacowaniem jego niepewności.*

### 1. WPROWADZENIE

Specyfiką wyrobów włókienniczych jest różnorodność cech i właściwości, które mogą zostać zmierzone, a ich określenie jest konieczne w celu wyznaczenia parametrów istotnych z punktu widzenia użytkownika oraz spełnienia wymagań norm np. w przypadków odzieży ochronnej. Ponadto wyroby włókiennicze cechuje szeroki zakres zastosowania. Oprócz płaskich wyrobów włókienniczych stosowanych w konfekcjonowaniu wielu asortymentów wyrobów odzieżowych można wymienić takie wyroby jak:

- liniowe: włókna, przędza, nitki,
- meblowe i obiciowe,
- włókiennicze pokrycia podłogowe,
- wyroby stanowiące wyposażenie pojazdów bądź wnętrza pojazdów,
- geotekstylika, stosowane w budownictwie drogowym,
- agrotekstylika, stosowane w rolnictwie,
- wyroby techniczne, stosowane w przemyśle maszynowym (np. pasy transmisyjne).

W związku z tak szeroką różnorodnością zastosowań konieczne jest prowadzenie badań i wyznaczanie wartości wielkości niezbędnych do oceny a także klasyfikacji wyrobów w ramach poszczególnych aplikacji. Wiele z wyrobów włókienniczych należących do wymienionych powyżej grup podlega surowym

wymaganiom z uwagi na takie cechy jak wytrzymałość mechaniczna, odporność na przenoszenie naprężeń, odporność na przebicie w warunkach statycznych i dynamicznych, wodoszczelność, odporność na zapalenie i rozprzestrzenianie płomienia czy ocena właściwości elektrostatycznych. Wyniki pomiarów wartości wielkości charakteryzujących wspomniane cechy wyrobów powinny charakteryzować się odpowiednią jakością, zaś cały proces pozyskiwania wyniku powinien zapewniać, że jego przedział rozszerzenia zawierać będzie wartości prawdziwe wielkości mierzonej – menzurandu.

## 2. METODY BADAWCZE A SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI WYNIKU POMIARU

### 2.1 Podstawy szacowania niepewności i akty znormalizowane

Wyznaczanie niepewności pomiaru oparte jest o wytyczne zawarte w Przewodniku GUM Wyrażanie Niepewności Pomiaru (ang. *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement – GUM, ISO, 1993; popr. 1995*) [1]. Przewodnik ten jest podstawowym dokumentem dotyczącym szacowania (wyznaczenia) niepewności pomiaru. Zgodnie z treścią Przewodnika GUM tam gdzie jest to możliwe, wymaga się, aby w procesie pomiarowym szacowana była i przedstawiana niepewność związana z wynikami ilościowymi. Podstawowym wymaganie GUM jest stosowanie modelu dotyczącego wyznaczania niepewności. Model ten powinien obejmować wszystkie składowe, które mogą wpływać na niepewność związaną z wynikiem badania. Laboratoria akredytowane przez Polskiego Centrum Akredytacji (PCA) na zgodność systemu zarządzania z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2005+AC:2007 [2] są zobowiązane do zapewnienia jakości wyników pomiarów poprzez szereg czynności i procedur mających na celu wykazanie, że wynik ten obciążony jest jak najmniejszą wartością niepewności złożonej i dołożeniem starań, aby zmniejszona została standardowa niepewność pomiaru.

W powyższej normie określono także w jakich przypadkach konieczne jest podawanie wartości oszacowanej niepewności pomiaru. Odnosi się to głównie do sytuacji, gdy podania niepewności wymagają wytyczne klienta lub gdy niepewność ma znaczenie dla zgodności z wyspecyfikowanymi wymaganiami. Obszar zagadnień związanych z szacowaniem i podawaniem wartości niepewności pomiaru oraz pozyskiwaniem danych do szacowania niepewności podejmuje także dokument EA-04/16 [3] odwołujący się do Przewodnika GUM oraz normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005+AC:2007 [4]. Opisuje on między innymi wykorzystanie danych z walidacji i parametrów metody do wyznaczania niepewności związanej z wynikami pomiaru.

### 2.2 Sposób pozyskania wyniku pomiaru a szacowanie jego niepewności

Proces obliczania niepewności złożonej pomiaru jest uzależniony od specyfiki metody badawczej i sposobu pozyskania wyniku pomiaru. Na przykładzie metod badawczych realizowanych w laboratorium o profilu badań właściwości fizyko-mechanicznych wyrobów włókienniczych przeprowadzony został podział na metody w których:

- pomiar ma charakter bezpośredni, jest dokonywany przy zastosowaniu odpowiedniego przyrządu (np. maszyny wytrzymałościowej, wahadła balistycznego, grubościomierza, przyrządu do badania wodoszczelności). Przykładami pomiarów bezpośrednich są siły: maksymalna przy rozciąganiu, rozwarstwiania, rozdzierania oraz grubość, wodoszczelność,
- pomiar ma charakter pośredni – występuje połączenie pomiaru bezpośredniego i obliczeń, np. masa powierzchniowa, wartości współczynnika tarcia statycznego i kinetycznego,
- pomiar odbywa się na drodze oceny organoleptycznej w oparciu o kryteria. Do pomiarów tej grupy należą m.in. odporność na ścieranie oraz na pilling i mechacenie, odporność na zwilżanie powierzchniowe,
- pomiar odbywa się w oparciu o wiedzę osoby wykonującej badanie, np. określanie rodzaju surowca włókienniczego metodą mikroskopową na podstawie widoku wzdłużnego i przekroju poprzecznego włókna.

Szczególnie w dwóch ostatnich przypadkach szacowanie niepewności pomiaru jest trudne z uwagi na niewymierność jakościowych metod badawczych (wynik badania podawany jest w skali porządkowej) bądź nie istnieje żadna skala pomiarowa.

Przykładem pomiaru bezpośredniego jest metoda wyznaczania siły maksymalnej przy zerwaniu płaskiego wyrobu włókienniczego. Pomiar ten prowadzony jest z użyciem maszyny wytrzymałościowej o stałym przyroście wydłużenia CRE (ang. *constant rate extension*). Przygotowana wg PN-EN ISO 13934-1:2002 [4] próbka mocowana jest w zaciskach maszyny wytrzymałościowej pod obciążeniem wstępnym. Proces pomiaru polega na rozciąganiu wzdłużnym próbki aż do chwili jej zerwania.

Cząstkowy wynik pomiaru odczytywany jest przez program sterujący maszyną wytrzymałościową, zgodnie z ustalonym kryterium spadku siły. Wynikiem pomiaru jest średnia arytmetyczna wyników cząstkowych podawana wraz z niepewnością pomiaru. W przypadku pomiaru bezpośredniego czynnikami wpływającymi na wielkość niepewności szacowanej metodą A mogą być:

- cechy obiektu badania (np. wynikające ze sposobu tkania bądź wykończenia),
- przygotowania próbek do badania (np. niedokładne przygotowanie próbki o odpowiednich wymiarach),
- sposób zachowania się próbki podczas badania (np. zrywy przyszcękowe).

Wymienione cechy mogą wpływać na parametry rozrzutu wyników pomiarów wokół wartości średniej. W odniesieniu do wartości niepewności szacowanej metodą B, a pochodzącej od przyrządu pomiarowego zakłada się prostokątny rozkład błędów wskazania przetwornika siły w danym zakresie.

Niepewność złożona wyniku pomiaru wartości siły maksymalnej  $F$  w przypadku pomiaru bezpośredniego jest szacowana z równania propagacji mającego postać:

$$u(F) = \sqrt{s_F^2 + \frac{(\Delta X)^2}{3}} \quad (1)$$

W równaniu tym uwzględniono niepewność szacowaną obiema metodami, przyjmując maksymalną niepewność pochodzącą od przyrządu –  $\Delta X$  o rozkładzie prostokątnym.

Przykładem pomiaru pośredniego – łączącego wartości uzyskane w wyniku odczytu z urządzenia oraz wartości obliczeniowe jest wyznaczanie współczynnika tarcia statycznego i kinetycznego. Badanie polega na przesunięciu karetki z próbką (o określonych wymiarach) po stoliku pokrytym tą samą próbką z zadaną prędkością i na podanej odległości. Obliczane są wartości współczynnika tarcia statycznego i kinetycznego. Wynik pomiaru współczynnika tarcia jest funkcją zarówno siły tarcia jak i siły normalnej. W badaniu wartości siły normalnej nie ulegają zmianie (stała masa karetki, różnice w masie poszczególnych próbek są pomijane). W związku z powyższym wartość siły normalnej traktowana jest jako stała do dalszych przeliczeń. Źródłami niepewności szacowanej metodą A mogą być w związku z tym np.:

- charakter i stan powierzchni badanej próbki (jej niejednorodność, obecność zagnieceń, załamań, fałd),
- sposób zamocowania próbki na karetkce i stoliku,
- odchylenia biegu karetki pod linii prostej podczas badania (nieznaczne, trudne do zaobserwowania przez osobę wykonującą badanie).

Wymienione cechy mogą wpływać na parametry rozrzutu wyników pomiarów wokół wartości średniej. W odniesieniu do wartości niepewności szacowanej metodą B, dotyczy ona udziału aparatury pomiarowej (maszyna wytrzymałościowa) w procesie uzyskiwania wyniku pomiaru.

Niepewność złożona wyniku pomiaru współczynnika tarcia szacowana jest z uwzględnieniem niepewności standardowej obliczanej metodą A (odchylenie standardowe eksperymentalne wartości siły  $S_{F_x}$ ) oraz niepewności szacowanej metodą B (związanej z wartością maksymalnej wartości niepewności

$\Delta X$  dla danego zakresu przetwornika siły). Równanie propagacji przyjmuje w tym przypadku postać:

$$u_c(\mu_s) = \sqrt{\left(\frac{1}{N}\right)^2 u^2(F_s)} \quad \text{gdzie} \quad u(F_s) = \sqrt{s_{F_s}^2 + \frac{(\Delta X)^2}{3}} \quad (2)$$

Kolejnym przykładem wyniku pomiaru jest wynik uzyskany na drodze oceny organoleptycznej w oparciu o ustalone kryteria. Kryteriami powyższymi mogą być: opisy słowne zawarte w dokumentach (normach, procedurach), stopnie oceny (skala porządkowa gdzie wartości stopni odpowiadają określonej zmianie stanu próbki) bądź wzorce fotograficzne stopni oceny obrazujące intensywność zmian próbki w zależności od danej wartości stopnia. Przykładem metody badania reprezentującej tą grupę jest np. odporność wyrobu na zwilżanie powierzchniowe (spray test). Próbka o określonych wymiarach wg PN-EN 24920:1997 [5] umieszczana są na przyrządzie w taki sposób, aby prawa jej strona poddawana była działaniu spadającego strumienia wody. Następnie próbka poddawana jest ocenie zgodnie z wzorcami fotograficznymi stopni zwilżenia.

Wynik pomiaru stanowi wartość stopnia 1 do 5 (brak zwilżalności powierzchni próbki), przyznaną przez osobę dokonującą oceny. Wynik ten zależny jest od następujących czynników, które stanowią jednocześnie źródła niepewności tego pomiaru:

- charakterystyka badanego materiału (struktura powierzchni, barwa),
- wpływ osoby wykonującej pomiar (percepcja wzrokowa, doświadczenie w analizie i porównywaniu obrazów wzorców z próbkami rzeczywistymi),
- jakość wzorców fotograficznych stosowanych do oceny.

Wynik pomiaru podawany jest bez szacowania jego niepewności. Rzeczywista różnica pomiędzy wynikami może wynosić od jednego stopnia, gdyż taka jest rozdzielczość metody pomiarowej. W związku z tym nie jest zasadne szacowanie niepewności pomiaru, której wartości (przy założeniu rozkładu prostokątnego) będą znaczenie niższe niż wartość wynikająca z rozdzielczości metody.

Pomiar w ostatniej z omawianych grup metod badawczych oparty jest na wiedzy osoby wykonującej badanie. Do grupy tych metod należy m.in. określanie rodzaju surowca włókienniczego metodą mikroskopową na podstawie widoku wzdłużnego i przekroju poprzecznego włókna. Kryterium prowadzenia oceny i uzyskania wyniku pomiaru jest wiedza osoby wykonującej pomiar. Pomocniczo mogą być stosowane dane literaturowe zawierające np. obrazy widoków wzdłużnych i przekroi poprzecznych włókien. Wynikiem pomiaru w tej grupie metod jest opis rozpoznania surowca (nazwa włókna). W zakresie szacowania niepewności pomiaru wyznaczania składu surowcowego można dokonać analizy jedynie pod kątem jego poprawności, włókno zostało zidentyfikowane prawidłowo bądź błędnie. Wynik pomiaru w grupie metod opartych na wiedzy osoby wykonującej badanie jest silnie zależny od takich czynników jak:

- zmienność cech wśród materiału badawczego (ten sam rodzaj włókna o innym wyglądzie widoku wzdłużnego bądź przekroju poprzecznego),
- wiedza i umiejętności oceny osoby wykonującej badanie.

Wynik pomiaru podawany jest bez szacowania niepewności, w formie opisu rozpoznania surowca włókienniczego.

Problematyka szacowania niepewności pomiaru w obszarze badań wyrobów włókienniczych przedstawiona została szczegółowo w referacie [6].

### 3. PODSUMOWANIE

Szacowanie niepewności pomiaru jest jednym z elementów funkcjonowania systemu zarządzania laboratorium. Wynik pomiaru wraz z wartością niepewności stanowi dla klienta pełną informację o wartości wielkości mierzonej, tak więc jest dla niego użyteczny.

Specyficzne cechy obiektów włókienniczych i różnorodna metodyka badawcza obejmująca metody bezpośrednie, pośrednie (połączenie metod bezpośredniego odczytu i obliczeń) oraz subiektywnej oceny organoleptycznej zgodnie z kryteriami bądź oparte na wiedzy wymaga zastosowania niestandardowego podejścia do problematyki podawania wyników pomiarów i szacowania niepewności pomiaru. Wartość prawdziwa wielkości mierzonej, do której dąży wynik pomiaru określana jest nie tylko przez obliczoną liczbową wartość tego wyniku i niepewności lecz także w wielu przypadkach poprzez szereg czynników zachodzących przed i w trakcie pomiaru a także zakłócenia generowane w procedurze pomiaru przez sam obiekt.

#### LITERATURA:

- [1] Przewodnik. Wyrażanie niepewności pomiaru, Główny Urząd Miar, Wydanie polskie pod redakcją prof. dr hab. inż. Janusza M. Jaworskiego, 1999 r. (*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, GUM, ISO, 1993; popr. 1995).
- [2] Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005+AC:2007 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
- [3] Dokument EA-04/16 Wytoczne EA dotyczące wyrażania niepewności w badaniach ilościowych (tłumaczenie polskie, grudzień 2003).
- [4] Norma PN-EN ISO 13934-1:2002 Tekstylnia. Właściwości płaskich wyrobów przy rozciąganiu. Część 1: Wyznaczanie maksymalnej siły i wydłużenia względnego przy maksymalnej sile metodą paska.
- [5] Norma PN-EN 24920:1997 Tekstylnia. Wyznaczanie odporności wyrobów na zwilżanie powierzchniowe (spray test).
- [6] Witkowska, B. Problematyka szacowania niepewności pomiaru i subiektywne metody oceny na przykładzie badań wyrobów włókienniczych; XVII Sympozjum Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych – wymagania techniczne normy PN-EN ISO/IEC 17025 w praktyce laboratoryjnej – 3 Walidacja, Kołobrzeg/Krynica Zdrój, 2011, ISBN 83-923010-4-8, str. 67-78.







**Sekretariat Klubu POLLAB**

**ul. Kłobucka 23 A**

**02-699 Warszawa**

**[www.pollab.pl](http://www.pollab.pl)**

**e-mail: [sekretariat@pollab.pl](mailto:sekretariat@pollab.pl)**

**tel.: 22 464 55 03**

**faks: 22 464 55 56**