

以新版《检测和校准实验室能力认可准则》 (CNAS-CL01: 2018)要求开展检测方法验证的问题 及解决方法

路桂芬^{1*}, 韩 深²

(1. 北京市产品质量监督检验院, 北京 100029; 2. 北京海关技术中心, 北京 100026)

摘 要: 检测实验室中检测结果的准确性至关重要, 对标准检测方法的验证是获得检测结果准确性的重要前提; 对申请 CNAS 认可的实验室而言, 如果方法验证不符合认可准则的要求, 将直接造成申请的技术能力不予认可。本文依据《检测和校准实验室能力认可准则》的要求, 以实际发生的案例为例, 通过分析问题产生原因, 从体系文件的控制、方法验证技术操作、记录的规范填写等 3 个方面, 对实验室开展方法验证的方法进行全面细致地讲解, 以期用于指导实验室有效地开展方法验证工作。

关键词: CNAS; 检测和校准实验室能力认可准则; 检测方法验证

Issues and solutions for verification of test methods with the requirement of new Guidelines for accreditation of testing and calibration laboratories (CNAS-CL01: 2018)

LU Gui-Fen^{1*}, HAN Shen²

(1. *Beijing Institute of Product quality Supervision and Inspection, Beijing 100029, China;*
2. *Beijing Customs Technology Center, Beijing 100026, China*)

ABSTRACT: The accuracy of the test results in the testing laboratory is crucial, and verification of the standard test method is an important prerequisite for obtaining the accuracy of the test results. For laboratories applying for CNAS accreditation, if the method verification does not meet the requirements of the accreditation criteria, the technical ability of the application will be directly rejected. This article took the actual occurrence of the case as an example, based on the requirements of the *Guidelines for accreditation of testing and calibration laboratories*. By analyzing the causes of the problems, from the three aspects of system file control, method verification technology operation, and record specification filling, the method of laboratory verification is fully and carefully explained, in order to guide the laboratory to effectively carry out method validation work.

KEY WORDS: CNAS; guidelines for accreditation of testing and calibration laboratories; test method validation

*通讯作者: 路桂芬, 高级工程师, 主要研究方向为实验室质量体系管理。E-mail: luguifen2002@aliyun.com

*Corresponding author: LU Gui-Fen, Senior Engineer, Beijing Institute of Product Quality Supervision and Inspection, No.3, Yuhui South Road, Chao Yang District, Beijing China 100029., E-mail: luguifen2002@aliyun.com

1 引言

《检测和校准实验室能力认可准则》(CNAS-CL01:2018)^[1]于2018年3月1日发布,2018年9月1日正式实施。新版准则中对方法验证的实施从岗位职责的设置,人员能力要求、人员授权,到技术能力的验证提出明确要求。然而很多实验室在实施方法验证过程中,由于对准则理解不透彻,对方法验证概念及技术操作的理解不全面,导致其在实施方法验证过程中存在很多不足,因而不能准确完成方法验证,无法满足认可准则的要求或检测标准方法的要求。

本文依据《检测和校准实验室能力认可准则》的要求,列举实际的案例,通过对案例产生原因的分析,从体系文件的控制、方法验证技术操作、记录的规范填写等三方面,对实验室如何开展方法的验证,进行全面细致的讲解,以期用于指导实验室有效开展方法验证工作。

2 实验室认可的相关要求

认可是指认可机构按照相关国际标准或国家标准,对从事认证、检测和检验等活动的合格评定机构实施评审,证实其满足相关标准要求,进一步证明其具有从事认证、检测和检验等活动的技术能力和管理能力。

对于检测实验室而言,其认可的评审依据主要包括《检测和校准实验室能力认可准则》(CNAS-CL01:2018);CNAS-CL01《检测和校准实验室能力认可准则》应用要求(CNAS-CL01-G001:2018)^[2];相关认可规则,以及相关检测领域的应用说明,以食品检测实验室为例,包括《检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明》(CNAS-CL01-A001:2018)^[3];《检测和校准实验室能力认可准则在化学检测领域的应用说明》(CNAS-CL01-A002:2018)^[4]等。

上述评审依据对实验室标准方法验证方面的主要要求有:

- (1) 实验室应对从事特定的实验室活动,包括开发、修改、验证和确认方法的人员授权^[1];
- (2) 实验室在引入方法前,应验证能够正确地运用该方法,以确保实现所需的方法性能。应保存验证记录。如果发布机构修订了方法,应在所需的程度上重新进行验证^[1];
- (3) 实验室应对首次采用的检测方法进行技术能力的验证,如检出限、回收率、正确度和精密度等;如果在验证过程中发现标准方法中未能详述但影响检测结果的环节,应将详细操作步骤编制成作业指导书,作为标准方法的补充;当检测标准发生变更涉及到检测方法原理、仪器设施、操作方法时,应通过技术验证重新证明正确运用新标准的能力^[4];
- (4) 在引入检测方法之前,实验室应对其能否正确运用这些标准方法的能力进行验证,验证不仅需要识别相应

的人员、设施和环境、设备等,还应通过试验证明结果的准确性和可靠性,如精密度、线性范围、检出限和定量限等方法特性指标,必要时应进行实验室间比对^[2]。

3 实验室实施方法验证存在的主要问题

多数实验室在实施方法验证过程中,由于对方法验证概念理解及技术操作的错误,导致其在实施方法验证过程中存在很多问题,不能正确实施方法验证工作,因此无法满足认可准则的要求或检测标准方法的要求。下面以认可现场评审中发现的典型案例分析实验室实施方法验证存在的主要问题。

3.1 现场评审中发现在方法验证方面不符合的典型案例分析

(1) 实验室在引入方法前,不能提供相关技术指标验证能够正确的运用该方法,以确保实现所需的方法性能。

典型案例:

①实验室未对首次采用的GB 22255-2014《食品安全国家标准 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》^[5]、SN/T 1928-2007《进出口动物源性食品中硝基咪唑残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》^[6]进行检出限和精密度技术指标的验证。

②实验室没有对首次采用的GB 5009.22-2016《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素B族和G族的测定》^[7]检测方法中第三法(高效液相色谱-柱后衍生法)进行检出限的技术验证。

(2) 实验室在引入方法前的验证记录,不能覆盖方法中所有的基质,以确保实现所需的方法性能。

典型案例:

①实验室提供的GB 5009.208-2016^[8]组胺方法证实记录中,未对水产品基质进行技术性验证;实验室对GB 5009.141-2016《食品安全国家标准 食品中诱惑红的测定》^[9]的方法验证中缺少糕点类样品的的方法验证记录。

②保健食品中维生素B₁₂的测定(GB/T 5009.217-2008)^[10]的方法验证中缺少片剂、功能饮料等不同基质的方法检出限、定量限的记录。

(3) 当实验室的引入方法发生变更时,未对该方法重新进行验证。

典型案例:

①实验室不能提供对变更方法GB 5009.92-2016《食品安全国家标准 食品中钙的测定》^[11]进行重新验证的记录。

②实验室提供的变更标准方法GB 5009.250-2016^[12](乙基麦芽酚)的证实记录中缺少增加的适用产品及质谱确证的内容;缺少对变更标准方法GB 5009.210-2016《食品安全国家标准食品中泛酸的测定》^[13]的重复性的验证。

(4) 实验室体系文件中缺少“开发、修改、验证和确认

方法”的岗位职能的能力要求,未对相关人员授权;授权从事“开发、修改、验证和确认方法”工作的人员学历或工作经历不满足要求。

典型案例:

①实验室未将“开发、修改、验证和确认方法”的岗位职能的能力要求形成文件。

②实验室授权 XXX 为“开发、修改、验证和确认方法”的人员,查其相关工作经历仅 1 年。

3.2 导致上述问题发生的主要原因

(1) 对《检测和校准实验室能力认可准则》及相关领域应用说明中有关方法验证的规定或要求不理解,许多实验室错误地认为标准方法不需要在实验室中做任何验证、证实或试验即可直接投入使用,因此缺少体系文件的相关规定和要求;缺少相关岗位设置及岗位职能的能力要求;缺少相关岗位的授权。

(2) 对《检测和校准实验室能力认可准则》及相关领域应用说明中有关方法验证的规定和要求有一定的理解,但对方法验证的概念只简单停留在:我有实验人员,有仪器设备,有固定场所,能够开展检测工作即可,而缺乏技术验证的概念。

(3) 对《检测和校准实验室能力认可准则》及相关领域应用说明中有关方法验证的规定和要求有一定的理解,在开展方法验证过程中除了人、机、料、法、环、溯的评价,也做了相关的技术验证,但技术验证的不全面,不能完全满足方法要求。

(4) 当标准方法的发布机构修订了方法,即方法发生变更时,实验室没有对变更的方法重新进行验证,而是直接使用,认为标准方法的验证只做一次即可。

4 实验室正确实施方法验证的途径

实验室有效实施方法验证工作,应该从体系文件的控制入手,按照《准则》、相关应用说明的要求及方法的要求,在体系文件中进行相关的规定和要求,在实际操作中按照体系文件的规定与要求,有效实施方法验证程序,形成客观完整的方法验证记录。

4.1 体系文件的控制

体系文件通常由《质量手册》、《程序文件》、《作业指导书》及记录表格构成。体系文件作为实验室法规性文件,是开展各项检测工作的依据,它对建立正常的工作秩序,确保检测工作规范化、制度化、程序化,具有十分重要的作用。为了有效开展方法验证工作,首先应在体系文件中做出相应的规定和要求,主要内容应包括:

(1) 总则:本实验室在检测过程中所使用的标准方法,在开展检测工作前必须加以验证,确保能够正确的使用该方法,以获得准确、可靠的检测结果。

(2) 职责:

①技术负责人负责组织标准方法的验证工作,批准允许使用的标准方法。

②质量体系保证部负责组织实施对标准检测方法的验证和结果评价,并对相关记录进行保存。

③具备方法验证资格的检测人员负责对标准检测方法的技术验证工作的具体实施。

④具体实施执行《检测标准方法验证程序》,并严格按照该程序开展方法验证工作。

(3) 在体系文件的岗位设置、职责要求、任职资格等环节均应设有实施方法验证的岗位(可兼职),明确其岗位职责及岗位任职条件。其中岗位任职条件至少包括:应具备相关专业大专以上学历,还应有 3 年以上本专业领域的检测经历,熟悉该项检测技术等。

(4) 对符合岗位任职资格的人员进行授权。定期(半年或一年)对授权人员的能力维持状况进行监控,以保证其持续具备相应能力,满足岗位职责要求。

(5) 应确保每一项方法验证的技术记录包含结果、报告和足够的信息,以便在可能时识别影响测量结果及其测量不确定度的因素,并确保能在尽可能接近原条件的情况下重复该项活动。记录的保存期通常不少于 6 年。

(6) 定期对体系文件进行审查和必要时进行修订,以确保持续适用和满足使用的要求。

4.2 方法验证的技术操作

(1) 总体要求

①在引入标准方法前,应对能否正确运用这些方法的能力进行验证。验证不仅需要识别相应的人员、设施和环境、设备等条件是否满足要求,还应通过试验获取的关键技术参数证明操作该方法满足标准要求。

②方法验证应从样品制备开始(必要时,包括抽样),包括提取、浓缩、净化,浓度的验证,结果的验证等,方法验证过程中关键技术参数的选择取决于方法的特性和要求,方法中有明确规定的则应对相应参数进行验证。

③通常通过实验室内比对试验完成方法的技术验证。必要时可参加能力验证或进行实验室间比对。

④如果标准方法发布机构修订了方法,当修订涉及到检测方法原理、仪器设施、操作方法、运算结果时应对该标准方法重新进行验证。

⑤必要时应制定相应作业指导书。

(2) 基本条件的确认

①人员配备、培训及考核情况;

②现有设备及检定/校准状态是否满足方法要求;

③标准物质及试剂是否满足方法中要求;

④样品制备及样品贮存是否满足方法中要求;

⑤设施和环境条件是否满足方法要求;

⑥原始记录格式、信息是否满足方法要求;

⑦报告格式是否满足方法要求。

(3) 样品基质与关键参数的选择

①应依据方法的适用范围,选择样品基质,并针对不同基质分别验证测试样品。选择基质的种类和类型:

i如果方法适用于多种基质,以食品为例,至少应选择5类食品(如高脂、高糖、高蛋白、高无机盐等),可能的情况下每类食品选择3种不同类型样品(如未加工食品、初加工食品、深加工食品等)进行测试;

ii如果方法只适用于某类基质,则只需对该类基质进行验证。

②通常情况下,定量分析和定性分析方法验证的参数选择可参见表1。

表1 典型方法验证参数的选择

Table 1 Typical methods validate the selection of parameters

分析方法	参数选择
定性分析	灵敏度、选择性、基质效应、精密度 (重复性和再现性)
定量分析	检出限、定量限、灵敏度、选择性、线性范围、 测量区间、基质效应、精密度 (重复性和再现性)、准确度、测量不确定度

(4) 验证过程要求

①对于适用于多种基质的检测方法,以食品为例,至少选择5类食品,其中每类食品选择3种不同类型样品分别进行回收率、线性范围、精密度、检出限、定量限、准确度、特异性、提取效率、耐用性等技术参数(可根据方法要求选择其中几个)的验证试验。

②对于只适用于某一类基质,则只需对该类基质进行所选技术参数的验证试验。

③关注检测方法的定量限与限量标准的适应性。一些检测方法的定量限不满足限量标准的要求(如GB 23200.8-2016^[14]中氟虫腈的定量限与GB 2763-2016^[15]中部分植物源性产品的限量不适应),在开展方法验证过程中,应对定量限进行进一步的验证,以确保满足限量标准的要求。

④保存验证全过程记录,记录应信息量充分,可追溯,可复现。

(5) 不确定度评定

按照CNAS-CL01-G003:2019《测量不确定度的要求》^[16]7.5的要求,检测实验室在采用新的检测方法时,应按照新方法评定测量不确定度。实验室在评定测量不确定度时,可以采用自下而上分量合成(Bottom-up)或是自上而下利用质量控制和方法确认数据(Top-down)等方式开展不确定度的评定。

测量不确定度评定和表示的通用规则可参考《测量不

确定度评定和表示》(GB/T 27418-2017)^[17]。

(6) 符合性评价

①当检测方法中有对相关技术参数要求时,依据检测方法要求进行评价;

②当检测方法中没有对相关技术参数要求时,依据相关的限量标准进行评价;

③当检测方法中技术参数的要求与限量标准不一致时,按照满足低值要求的原则进行评价;

④当检测方法及其限量标准中均无要求时,可参考GB/T 27404《实验室质量控制规范 食品理化检测》^[18]附录F进行评价。

4.3 方法验证记录

(1) 方法验证记录,通常包括以下内容:

- 1)方法验证项目的名称
- 2)范围和原理
- 3)人员
- 4)仪器设备
- 5)标准物质及试剂
- 6)样品
- 7)环境条件
- 8)方法验证试验步骤
- 9)方法验证报告(含原始的观察结果、数据和计算)
- 10)结论
- 11)操作人员、审核人员
- 12)日期
- 13)附件

(2) 记录应妥善保存,保存期限不少于6年。

4.4 审核及批准

由具备资格的授权人员对方法验证的过程、结果、记录,重点对验证过程进行审核,最后由技术负责人批准。

5 结论

实验室正确的实施方法验证,可有效控制方法使用过程中的各类风险,如来自样品基质选择不全面,关键技术参数未覆盖等等,进而有效控制检测结果准确性的风险。对于希望获得CNAS认可的实验室而言,正确的实施方法验证,满足认可准则的相关要求,使申请的技术能力得以获得认可^[19-25]。同时,实验室通过有效开展方法验证活动,可以对人员、设施和环境、设备、样品、记录、文件控制等多要素进行全面核查与验证,对实验室总体能力的提升和发展是强有力的保证手段。总之,实验室通过可靠的方法验证技术,提供客观证据证明满足检测方法规定的要求,确保获得稳定、可靠和准确的数据,确保满足新版《检测和校准实验室能力认可准则》的要求,从而实现检测能力的提升。

参考文献

- [1] CNAS-CL 01 2018 检测和校准实验室能力认可准则[Z].
CNAS-CL 01 2018 Accreditation criteria for the competence of testing and calibration laboratories [Z].
- [2] CNAS-CL 01-G001 2018 检测和校准实验室能力认可准则应用要求[Z].
CNAS-CL 01-G001 2018 accreditation criteria for the competency of testing and calibration laboratories [Z].
- [3] CNAS-CL 01-A001 2018 检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明[Z].
CNAS-CL 01-A001 2018 Guidance on the application of testing and calibration laboratory competence accreditation criteria in the field of microbiological testing [Z].
- [4] CNAS-CL 01-A002 2018 检测和校准实验室能力认可准则在化学检测领域的应用说明[Z].
CNAS-CL 01-A002 2018 Guidance on the application of testing and calibration laboratories competence accreditation criteria in the field of chemical testing [Z].
- [5] GB 22255-2014 食品安全国家标准 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定[S].
GB 22255-2014 National food safety standard-Determination of sucrose in food [S].
- [6] SN/T 1928-2007 进出口动物源性食品中硝基咪唑残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].
SN/T 1928-2007 Determination of nitroimidazoles residues in food stuffs of animal origin for import and export-LC-MS/MS method [S].
- [7] GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定[S].
GB 5009.22-2016 National food safety standard-Determination of aflatoxin B and G in Food [S].
- [8] GB 5009.208-2016 食品安全国家标准 食品中生物胺的测定[S].
GB 5009.208-2016 National food safety standard-Determination of biogenic amines in food [S].
- [9] GB 5009.141-2016 食品安全国家标准 食品中诱惑红的测定[S].
GB 5009.141-2016 National food safety standard-Determination of the seduction of the red in food [S].
- [10] GB/T 5009.217-2008 保健食品中维生素 B₁₂ 的测定[S].
GB/T 5009.217-2008 Determination of vitamin B₁₂ in health food [S].
- [11] GB 5009.92-2016 食品安全国家标准 食品中钙的测定[S].
GB 5009.92-2016 National food safety standard-Determination of calcium in food [S].
- [12] GB 5009.250-2016 食品安全国家标准 食品中乙基麦芽酚的测定[S].
GB 5009.250-2016 National food safety standard-Determination of ethyl maltol in food [S].
- [13] GB 5009.210-2016 食品安全国家标准 食品中泛酸的测定[S].
GB 5009.210-2016 National food safety standard-Determination of pantoic acid in food [S].
- [14] GB 23200.8—2016 食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
GB 23200.8—2016 National food safety standards—Determination of 500 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables Gas chromatography-mass spectrometry [S].
- [15] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [16] CNAS-CL 01-G003 2019 测量不确定度的要求[Z].
CNAS-CL 01-G003 2019 Requirements for measurement uncertainty [Z].
- [17] GB/T 27418-2017 测量不确定度评定和表示[S].
GB/T 27418-2017 Guide to the evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [18] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].
GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories—Chemical testing of food [S].
- [19] GB/T 27417-2017 合格评定 化学分析方法确认和验证指南[S].
GB/T 27417-2017 Conformity assessment—Guidance on validation and verification of chemical analytical methods [S].
- [20] 刘雪菲. 实验室质量管理体系[J]. 中国检验检疫, 2017, (4): 7.
Liu XF. Laboratory quality management system [J]. Chin Inspect Inspec, 2017, (4): 7.
- [21] Eurchem Guide. The fitness for purpose of analytical methods—a laboratory guide to method validation and related topics [J]. Intern J Anal Mass Spectrom Chromatogr, 2015, 3(3): 54–62.
- [22] AOAC. Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals [J]. Am J Anal Chem, 2012, 3(8): 503–511.
- [23] 叶世柏. 食品理化检测方法指南[M]. 北京: 北京大学出版社, 1991.
Ye SB. Guide to physical and chemical testing methods for food [M]. Beijing: Peking University Press, 1991.
- [24] 王叔淳. 食品分析质量保证与实验室认可[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
Wang SC. Quality assurance and laboratory accreditation of food analysis [M]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2004.
- [25] GB/T 6379.2-2004/ISO 5725-2:1994 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度)第 2 部分: 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法[S].
GB/T 6379.2-2004/ISO 5725-2:1994 Accuracy(trueness and precision)of measurement methods and results-Part2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method [S].

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介

路桂芬, 高级工程师, 主要研究方向为实验室质量管理体系。

E-mail: luguifen2002@aliyun.com