

METODY STATYSTYCZNE W WALIDACJI PROCESÓW TECHNOLOGICZNYCH

Michał Iwaniec, StatSoft Polska Sp. z o.o., ul. Kraszewskiego 36, 30-110 Kraków

Marek Skowronek, PLIVA Kraków S.A., ul. Mogilska 80, 31-546 Kraków

Artykuł jest poświęcony metodom statystycznym wykorzystywanym podczas walidacji procesów technologicznych w przemyśle farmaceutycznym. Przed wprowadzeniem produktu leczniczego do sprzedaży, wymagane jest, aby stosowane procesy wytwarzania produktów leczniczych były zwalidowane. W ocenie zdolności procesu do spełnienia założonych kryteriów zalecane jest stosowanie statystycznych metod analizy danych, jednak przepisy nie precyzują, jakiego rodzaju metody należy zastosować podczas walidacji procesu. Artykuł ma na celu zaproponowanie odpowiednich metod statystycznych oraz przykładów ich użycia. W celu poprawnego przeprowadzenia procesu walidacji, należy postępować według odpowiedniego schematu. W artykule zostały wyszczególnione i opisane poszczególne etapy walidacji, w których niezbędne jest użycie metod statystycznych oraz opisane zostały zależności pomiędzy poszczególnymi etapami.

The article is devoted to statistical methods used in pharmaceutical process validation. Process validation is demanded as the means of ensuring and providing documentary evidence that processes (within their specified parameters) are capable of consistency producing a finished product of the required quality. In judging of process capability to meet criterions it is recommended to use statistical methods of data analysis, but it is not specified, what the statistical methods should be. The article proposes appropriate methods and examples of their use. To carry out the validation process properly it should be done in a right pattern. The article describes individual stages of the validation process, in which using statistical method is essential. There are also described dependences between individual stages.

Słowa kluczowe: Walidacja – Profil uwalniania – Stabilność procesu – Normalność zbioru danych – Autokorelacja – Zdolność procesu

I. Wstęp

Organy państwowe sprawujące nadzór nad produkcją leków wymagają, aby procesy wytwarzania produktów leczniczych były zwalidowane. Zakład farmaceutyczny zobowiązany jest dostarczyć władzom odpowiednie dane, które pochodzą z walidacji procesu w celu uzyskania zgody na dopuszczenie danego produktu leczniczego do obrotu. Ogólne zasady przeprowadzania walidacji procesu zostały określone w wytycznych do przepisów Dobrej Praktyki Wytwarzania. Regulacje te definiują walidację procesu jako dostarczenie udokumentowanych dowodów na to, że proces prowadzony jest w ustalonym zakresie parametrów, przebiega skutecznie i w sposób powtarzalny oraz umożliwia wytwarzanie produktu leczniczego spełniającego z góry ustalone wymagania specyfikacji. W ocenie zdolności procesu do spełnienia założonych kryteriów zalecane jest stosowanie statystycznych metod analizy danych, jednak przepisy nie precyzują, jakiego rodzaju metody należy zastosować. Artykuł ten ma na celu zaproponowanie odpowiednich metod statystycznych oraz rozwiązań informatycznych, które pozwalają na sprawną walidację procesów technologicznych.

II. Ogólne założenia walidacji procesów technologicznych

Walidacja powinna zostać przeprowadzona dla nowych procesów lub dla procesów, które były zwalidowane niemniej zostały zmodyfikowane. Walidacja powinna być zakończona przed rozpoczęciem dystrybucji i sprzedaży produktu leczniczego (walidacja prospektywna – walidacja przeprowadzana przed uruchomieniem rutynowego wytwarzania produktów leczniczych przeznaczonych do sprzedaży). W wyjątkowych sytuacjach, gdy nie jest to możliwe, dokonuje się zwalidowania procesu podczas rutynowej produkcji (walidacja równoczesna). Walidacja powinna obejmować wszystkie etapy wytwarzania od momentu opracowania technologii, aż do fazy przekazania procesu do rutynowej produkcji. Pomieszczenia, urządzenia i media powinny być poddane kwalifikacji a metody badań analitycznych zwalidowane przed przystąpieniem do walidacji procesu. Pracownicy uczestniczący w pracach walidacyjnych powinni być odpowiednio przeszkoleni. Przygotowanie i wykonanie walidacji powinno przebiegać zgodnie z opracowanym do tego celu planem, zawierającym wyraźnie zdefiniowany cel każdego testu, schemat próbkowania, odpowiedzialność za pobór próbek i wykonanie

analiz. Plan powinien zawierać również wyraźnie określone kryteria akceptacji. Walidacja prospektywna procesu powinna być wykonana dla co najmniej trzech kolejnych serii w skali produkcyjnej w ostatecznie ustalonych warunkach.

Walidacja procesów technologicznych powinna przebiegać według następującego schematu:

- 1) Analiza krytyczności procesu
- 2) Analiza założeń procesu
- 3) Analiza stabilności procesu
- 4) Analiza zdolności procesu

Przejście do kolejnego etapu procesu walidacji powinno być poprzedzone pomyślnym zakończeniem poprzedniego etapu, w przeciwnym przypadku najprawdopodobniej nie będą spełnione odpowiednie założenia, których wymagają stosowane procedury statystyczne.

Rezultaty walidacji powinny być ujęte w zwięzłym raporcie końcowym, zawierającym podsumowanie analiz oraz wnioski i zalecenia dotyczące procesu.

III. Analiza krytyczności procesu

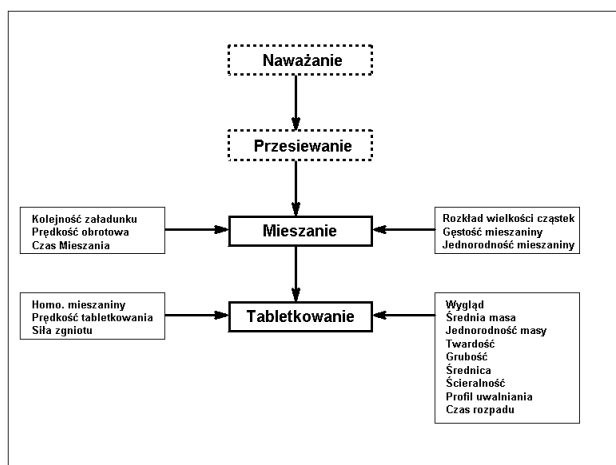
Przed rozpoczęciem prac walidacyjnych niezbędne jest przeprowadzenie analizy krytyczności procesu, której celem jest wyznaczenie etapów procesu technologicznego, które mają potencjalnie największy wpływ na jakość produktu leczniczego. W przypadku nowych procesów, krytyczne operacje jednostkowe oraz kluczowe parametry procesu identyfikowane są w ramach prac badawczo-rozwojowych prowadzonych w skali laboratoryjnej. Doświadczenia laboratoryjne powinny umożliwić zbudowanie modelu podstawowych zależności pomiędzy parametrami wejściowymi (zmiennymi procesu) a parametrami wyjściowymi (odpowiedzią procesu) oraz określenie optymalnych wartości nominalnych i dozwolonego zakresu tolerancji. Na podstawie badań rozwojowych zakład powinien wykazać, że proces został zoptymalizowany, że zostały zidentyfikowane jego punkty krytyczne i że został opracowany protokół walidacji, którego celem jest potwierdzenie stabilności i zdolności procesu do spełnienia założonych kryteriów akceptacji w skali produkcyjnej. Analiza krytyczności procesu może być zilustrowana za pomocą prostych narzędzi graficznych takich jak schemat blokowy czy diagram przyczynowo skutkowy (zwany też diagramem ryby lub diagramem Ishikawy).

1. Przykład oceny krytyczności procesu

Poniższy przykład przedstawia proces wytwarzania tabletek metodą bezpośredniej kompresji, który składa się z następujących operacji:

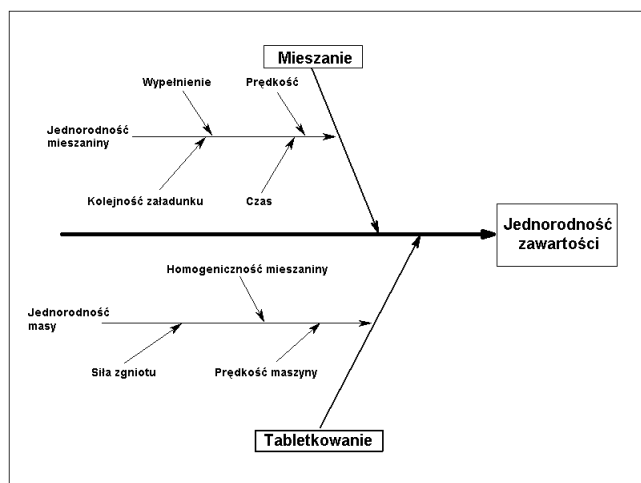
- ◆ Naważania
- ◆ Przesiewania
- ◆ Mieszania
- ◆ Tabletkowania

Jednym z głównych celów prac rozwojowych było takie zaprojektowanie procesu mieszania, który nie spowoduje segregacji cząstek podczas transferu mieszaniny do fazy tabletkowania i zapewni otrzymanie produktu końcowego o akceptowalnej jednorodności zawartości substancji czynnej. Na etapie prac badawczo-rozwojowych określone zostały krytyczne etapy, parametry procesu oraz podstawowe zależności pomiędzy zmiennymi procesu a odpowiedzią procesu. Wygodnym sposobem zilustrowania ogólnego modelu procesu wraz z zaznaczonymi krytycznymi parametrami wejściowymi i wyjściowymi jest schemat blokowy (Rys. 1).



Rys. 1. Schemat blokowy procesu tabletkowania.

Relacje pomiędzy parametrami wejściowymi a wybranym parametrem odpowiedzi procesu ilustruje przykład jednorodności zawartości substancji czynnej w finalnej formie produktu leczniczego (Rys. 2).



Rys. 2. Diagram Ishikawy dla jednorodności zawartości.

Operacjami krytycznymi w tym procesie są operacje mieszania i tabletkowania. Celem operacji mieszania substancji wejściowych jest otrzymanie homogennej mieszaniny z jednorodnym rozkładem substancji czynnej. Operacja tabletkowania jest natomiast odpowiedzialna za zawartość substancji czynnej w jednostce produktu leczniczego. Bezpośredni wpływ na zawartość substancji czynnej w jednostce produktu leczniczego ma jednorodność mieszaniny, która z kolei zależy od następujących zmiennych procesowych: kolejności załadunku surowców, wypełnienia bina, czasu oraz prędkości mieszania. Jednorodność zawartości substancji czynnej w tabletkach zależy od masy tabletek, która jest kontrolowana poprzez utrzymanie stałej siły zgniotu, poprzez regulowanie ilości dozowanej mieszaniny. Czynniki wpływającymi na zachowanie stałej masy są również prędkość tabletkowania oraz własności fizyczne mieszaniny: gęstość, czas zsypania, rozkład cząstek.

IV. Analiza założeń procesu

Po przeprowadzeniu analizy krytyczności niezbędna jest weryfikacja założeń, jakim powinny podlegać zbiory danych zebrane dla poszczególnych parametrów wyjściowych. Podstawowym założeniem, które musi być spełnione aby móc użyć większości analiz statystycznych przytoczonych w następnych rozdziałach, jest by dane generowane przez proces podlegały rozkładowi normalnemu o wartości oczekiwanej μ i zmienności σ . Zakłada się, że zarówno μ jak i σ są stałe lecz nieznanne. Najlepszym przybliżeniem μ jest wartość średnia \bar{x} definiowana wzorem:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Najlepszym przybliżeniem σ jest natomiast odchylenie standardowe wyrażane wzorem:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Ponadto dane generowane przez proces nie mogą być od siebie zależne. Można więc powiedzieć, że jeżeli proces jest ustabilizowany to zmienność parametru wyjściowego w czasie t , może być reprezentowana przez następujący model:

$$x_t = \mu + \varepsilon_t \quad t = 1, 2, \dots$$

gdzie: realizacja składnika losowego ε_t podlega rozkładowi normalnemu (z brakiem korelacji pomiędzy poszczególnymi składnikami) o wartości oczekiwanej równej zero i odchyleniu standardowym s . Model ten jest często nazywany **modelem Shewarta** procesu.

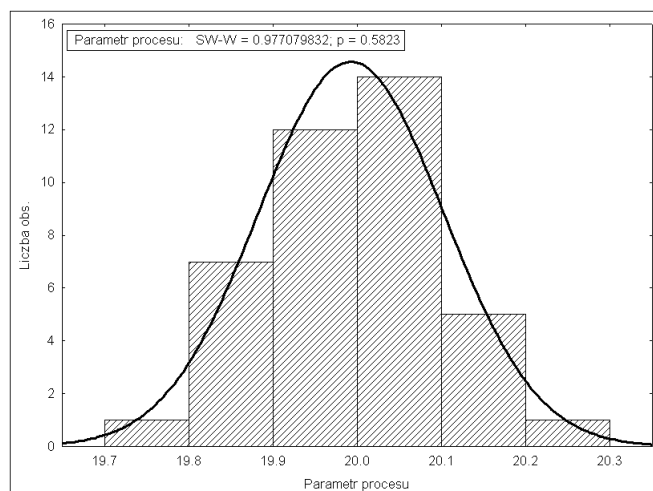
Zatem w celu weryfikacji czy odpowiedź procesu spełnia założenia modelu Shewarta, sprawdzić trzeba czy zbiór danych wygenerowany przez dany parametr procesu spełnia następujące założenia:

- ◆ Normalność – składnik losowy ε_t powinien podlegać rozkładowi normalnemu
- ◆ Niezależność – dane nie powinny być wzajemnie ze sobą skorelowane

Weryfikacja powyższych założeń powinna być przeprowadzona dla każdego parametru procesu, który będzie podlegał ocenie statystycznej w ramach walidacji procesu.

1. Weryfikacja założenia normalności

Przystępując do statystycznej oceny jakiegokolwiek parametru najlepiej jest zacząć od wizualizacji danych, która pozwoli wstępnie ocenić analizowany zbiór danych. W przypadku oceny normalności dobrą metodą wizualizacji jest histogram (Rys. 3).



Rys. 3. Histogram dla parametru procesu.

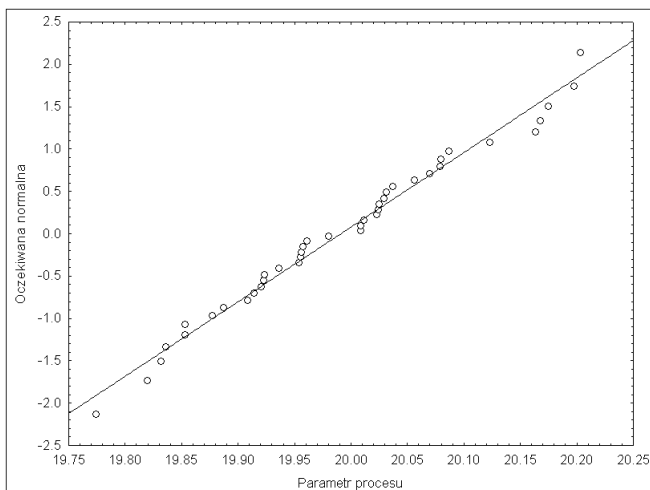
Do wizualnej oceny normalności rozkładu zbioru danych bardzo przydatne jest dopasowanie do histogramu teoretycznej krzywej rozkładu normalnego. Parametry teoretycznego rozkładu normalnego (μ oraz σ) zostały obliczone na podstawie zbioru danych. Warto zauważyć, że w przypadku oceny normalności nie jest ważne uporządkowanie zbioru. W celu weryfikacji hipotezy o normalności rozkładu często stosuje się testy statystyczne, których rezultatem jest pojedyncza wartość liczbową, w oparciu o którą można przyjąć bądź odrzucić stawianą hipotezę. Najczęściej stosowanym testem normalności rozkładu jest test Shapiro-Wilka. Parametrem, który ocenia normalność rozkładu w tym przypadku jest parametr W . Jeżeli wartość p odpowiadająca otrzymanemu W jest większa od 0,05, wtedy nie ma podstaw aby odrzucić hipotezę o normalności rozkładu (Rys. 3).

Inną graficzną metodą oceny normalności zbioru danych jest wykres normalności, który otrzymywany jest w następujący sposób. Najpierw wszystkie wartości zmiennej porządkowane są w kolejności rosnącej i przyporządkowane są im rangi (ranga – kolejny numer obserwacji, uzyskany po uporządkowaniu obserwacji według ich wartości). Następnie dla kolejnych rang obliczane są odpowiadające im wartości Z (według standaryzowanego rozkładu normalnego). Mówiąc dokładniej, wartość normalna z_j dla j -tej wartości ustawionej w kolejności rosnącej (rangi), zmiennej o sumarycznej liczbie obserwacji równej n , obliczana jest według wzoru:

$$z_j = \Phi^{-1}\left(\frac{j - \frac{1}{3}}{n + \frac{1}{3}}\right)$$

gdzie Φ^{-1} jest funkcją odwrotną do dystrybuanty rozkładu normalnego (przekształcającą prawdopodobieństwo p w wartość zmiennej Z).

Tak otrzymane wartości Z odkładane są na osi pionowej wykresu (oczekiwana normalna). Jeżeli wartości obserwacji (odkładane na osi poziomej) podlegają rozkładowi normalnemu, to otrzymane punkty powinny układać się mniej więcej na linii prostej (Rys. 4). Znaczące odchylenia od prostej wskazują, że analizowana zmienna podlega rozkładowi innemu niż normalny.



Rys. 4. Wykres normalności dla parametru procesu.

Następną metodą oceny normalności, która dostarcza konkretnych informacji o rozkładzie, jest metoda polegająca na obliczeniu wartości skośności i kurtozy. Poniżej (Rys. 5), przedstawione są przykładowe statystyki opisowe dla parametru procesu z włączoną skośnością i kurtozą.

Data: Statystyki_opisowe*						
Statystyki opisowe (Parametr procesu)						
Zmienna	Średnia	Odch.Std.	Skośność	Bł. std. Skośność	Kurtoza	Bł. std. Kurtoza
Parametr procesu	19.99089	0.109520	0.172768	0.373783	-0.564152	0.732600

Rys. 5. Statystyki opisowe parametru procesu.

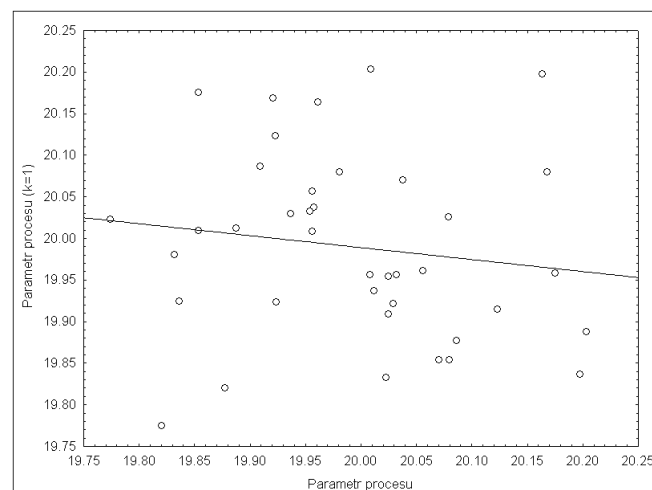
Jeżeli wartości skośności lub kurtozy są różne od zera, wtedy są podstawy aby twierdzić, że analizowany zbiór danych nie podlega rozkładowi normalnemu. Bardzo istotne jest, żeby zwrócić uwagę na to czy otrzymane wartości kurtozy i skośności są istotne statystycznie, czy też są wynikiem naturalnej zmienności wewnątrz danych. W przypadku rozważanego parametru procesu (Rys. 5), wartości błędów standardowych zarówno dla skośności jak i kurtozy są większe od wartości tych parametrów. Zatem można stwierdzić, że rozkład analizowanego zbioru danych nie posiada skośności ani kurtozy, tak więc nie ma podstaw do stwierdzenia odstępstw od normalności.

2. Weryfikacja niezależności składnika losowego

Drugim bardzo ważnym założeniem dla zbioru danych jest brak autokorelacji składnika losowego w analizowanym zbiorze danych. Autokorelacja jest to korelacja szeregu danych z nim samym, przesuniętym o określoną liczbę obserwacji (oznaczoną przez k i nazywaną opóźnieniem). W tym przypadku kluczowe jest

aby zbiór danych był uszeregowany względem czasu.

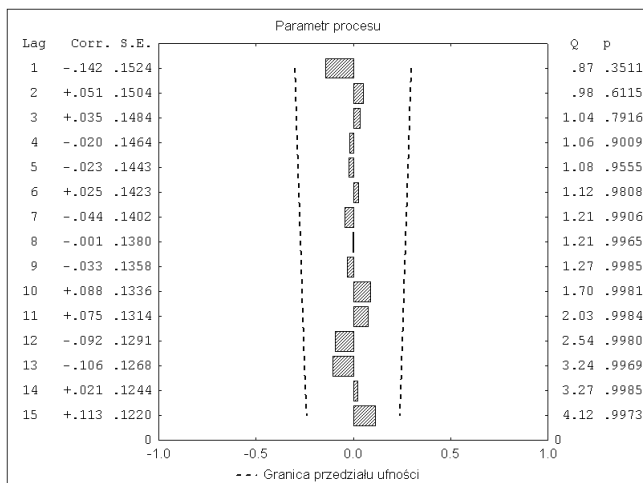
Bardzo prostym sposobem sprawdzenia autokorelacji, jest policzenie współczynnika korelacji pomiędzy analizowanym szeregiem danych a tym samym szeregiem przesuniętym o jedną wartość ($k = 1$). Jeżeli otrzymany współczynnik korelacji będzie miał dużą wartość wtedy jest to równoważne autokorelacji pomiędzy i a $i-1$ elementem szeregu. Niestety współczynnik korelacji jest statystyką bardzo czułą na wartości odstające i w przypadku badania korelacji pomiędzy różnymi zbiorami danych, należy zwrócić uwagę, czy na wykresie rozrzutu nie ma wartości odstających. Na szczęście w przypadku oceny autokorelacji (Rys. 6), taka sytuacja nie wystąpi, gdyż tak naprawdę badany jest jeden zestaw danych.



Rys. 6. Wykres rozrzutu

Wadą tej metody oceny autokorelacji jest to, że bardzo mało mówi o procesie jako o całości, gdyż pozwala na obliczenie korelacji tylko dla jednej wartości opóźnienia. Może się zdarzyć np. tak, że dla opóźnienia równego 1 współczynnik korelacji będzie bardzo mały, natomiast dla innych opóźnień korelacja może być duża.

Statystyką, która podsumowuje całą autokorelację szeregu jest współczynnik autokorelacji (Rys. 7), pozwalający na szybką ocenę autokorelacji dla różnych opóźnień. Wartość autokorelacji dla danego opóźnienia jest istotna statystycznie, jeżeli odpowiadająca mu wartość korelacji (reprezentowana słupkiem) jest większa od przedziału ufności zaznaczonego linią przerywaną. W przypadku wyraźniej autokorelacji statystyka ta pozwala także ocenić jej naturę (np. okresowość).

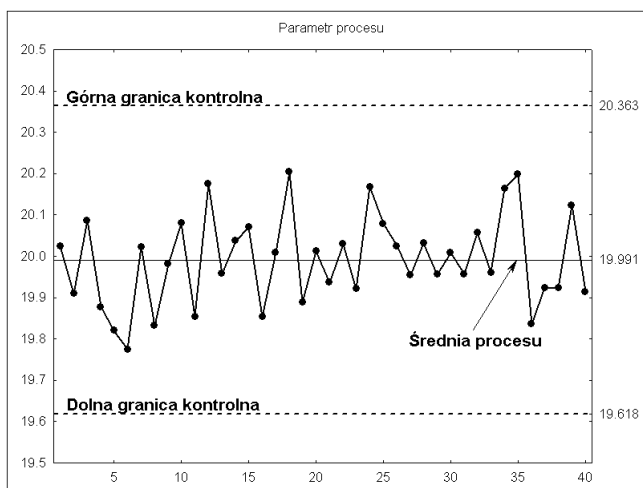


Rys. 7. Wykres autokorelacji dla parametru procesu, brak istotnych autokorelacji.

V. Analiza stabilności procesu

Niezbędnym warunkiem przekazania procesu technologicznego do rutynowej produkcji jest potwierdzenie jego stabilności. Celem analizy stabilności parametrów wyjściowych procesu jest ocena czy ich parametry (μ i σ), są stałe w czasie.

W przypadku gdy pomiary parametru wyjściowego dokonywane są pojedynczo, ocena stabilności może być przeprowadzona za pomocą standardowej karty kontrolnej dla pojedynczych obserwacji (Rys. 8).



Rys. 8. Karta kontrolna dla przykładowego parametru wyjściowego procesu.

Aby można było zastosować tradycyjne karty kontrolne, zbiór danych musi podlegać rozkładowi normalnemu (jeżeli ten warunek nie jest spełniony należy użyć bardziej zaawansowanych kart kontrolnych, których dostarcza *STATISTICA*) oraz kolejne jego

elementy nie mogą być ze sobą skorelowane. Karta kontrolna jest wykresem przebiegu z naniesioną wartością średnią oraz liniami kontrolnymi. Linie kontrolne dobrane są tak, że pomiędzy nimi powinny zawierać się „prawie wszystkie” pomiary, jeżeli proces jest stabilny. Dla rozkładu normalnego przyjęte jest że linie kontrolne znajdują się w odległości $\pm 3\sigma$ od średniej parametru wyjściowego, wtedy w granicach kontrolnych zawierać się będzie ok. 99,73% wszystkich wartości. Należy zauważyć, że przy takich założeniach raz na około 370 wartości jedna wartość znajdzie się poza liniami kontrolnymi pomimo tego, że proces jest stabilny.

W przypadku karty kontrolnej pojedynczych obserwacji, σ procesu obliczana jest inaczej niż było to opisane wcześniej. Do oszacowania zmienności wykorzystywany jest ruchomy rozstęp pomiędzy dwoma następującymi po sobie obserwacjami (pomiarami). Ruchomy rozstęp definiowany jest w następujący sposób:

$$MR_i = |x_i - x_{i-1}|$$

gdzie: MR_i - ruchomy rozstęp (ang: *moving range*), x_i - i-ty pomiar.

Zmienność procesu σ jest obliczana wg wzoru:

$$\frac{\overline{MR}}{d_2}$$

gdzie: \overline{MR} - średnia z ruchomych rozstępów, d_2 - stała ($d_2=1,128$).

Jeżeli na karcie kontrolnej znajduje się dużo (wyraźnie więcej niż 1 na 370) punktów poza liniami kontrolnymi, może to oznaczać, że parametry odpowiedzi procesu (przede wszystkim μ , być może również σ), nie są stałe w czasie. Zazwyczaj analiza karty kontrolnej pozwala na identyfikację, który z tych parametrów nie jest stały. W fazie analizowania odpowiedzi procesu parametry karty kontrolnej (wartość średnia, dolna i górna linia kontrolna) powinny być aktualne (obliczone na podstawie wszystkich pomiarów znajdujących się na karcie), co pomaga w identyfikacji ewentualnej zmienności μ i σ . Aby proces mógł zostać uznany za stabilny, wszystkie nie losowe zakłócenia powinny zostać wyeliminowane (przydatna tu będzie przeprowadzona wcześniej analiza krytyczności procesu). Karta kontrolna przebiegu procesu nie powinna również

wykazywać mało prawdopodobnych konfiguracji punktów np. trendu rosnącego, może się bowiem zdarzyć tak, że pomimo zawierania się pomiarów w granicach kontrolnych, na proces może oddziaływać nielosowy czynnik.

VI. Analiza zdolności procesu

Dotychczas opisane kroki walidacji parametru procesu technologicznego, miały na celu weryfikację głównych jego założeń – normalności rozkładu, braku autokorelacji, stabilności w czasie. Jeżeli badany parametr procesu spełnia wszystkie te założenia, wtedy można przystąpić do weryfikacji na ile mieści się on w zadanych granicach tolerancji. W większości przypadków tolerancja parametru procesu wyznaczana jest przez dwie wartości nazywane górną granicą specyfikacji (*USL – Upper Specification Limit*) oraz dolną granicą specyfikacji (*LSL - Lower Specification Limit*). Możliwość spełnienia przez parametr procesu założeń narzuconych przez specyfikację nazywamy jego zdolnością. Ogólnie stosowaną miarą zdolności jest stosunek pola tolerancji do szerokości procesu (wskaźnik P_p). Szerokość tolerancji T wyznaczana jest następująco:

$$T = USL - LSL$$

Natomiast szerokość procesu zdefiniowana jest jako 6σ (gdzie σ jest obliczona jako odchylenie standardowe s analizowanego zbioru danych). Zatem wskaźnik zdolności procesu zdefiniowany jest w następujący sposób:

$$P_p = \frac{T}{6\sigma}$$

W przypadku, gdy szerokość procesu jest równa szerokości specyfikacji wtedy $P_p=1$. Przyjmuje się, że wartość wskaźnika P_p jest zadowalająca, jeżeli jest większa od wartości 1,33. Jest to sytuacja, kiedy szerokość tolerancji jest większe od szerokości procesu o 2σ . W takim przypadku prawdopodobieństwo tego, że wartość parametru procesu znajdzie się poza granicami specyfikacji wynosi 0,00006, czyli jest bardzo małe (przekroczenie granic specyfikacji nastąpi średnio co 17000 obserwacji). Powyższe stwierdzenie jest prawdziwe, jeżeli spełnione jest założenie, że średnia parametru procesu pokrywa się ze środkiem przedziału tolerancji.

Jeżeli warunek ten nie jest spełniony należy dokonać korekty wskaźnika P_p . Norma PN-ISO 3534-2, przewiduje w takiej sytuacji postępowanie dwuetapowe. Pierwszym krokiem jest obliczenie współczynnika korekcyjnego k według wzoru:

$$k = \frac{|NOM - \mu|}{\min\{(USL - NOM), (NOM - LSL)\}}$$

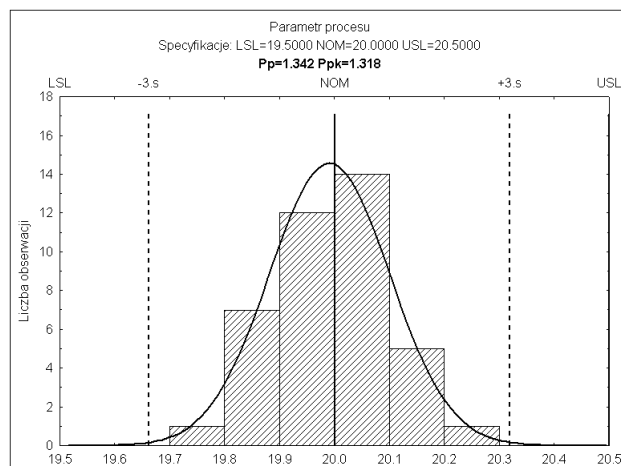
gdzie: NOM jest wartością nominalną leżącą pośrodku przedziału specyfikacji, U jest górną granicą specyfikacji, natomiast L jest dolną granicą specyfikacji.

Skorygowany wskaźnik P_p nazywany jest wskaźnikiem P_{pk} i obliczany jest ze wzoru:

$$P_{pk} = P_p (1 - k)$$

W związku z tym, że warunek równości średniej i środka przedziału tolerancji zazwyczaj nie jest spełniony, powinien być używany wskaźnik P_{pk} . W przypadku kiedy granice tolerancji nie są symetryczne powinniśmy posługiwać się obydwoma wskaźnikami.

W ogólnym podejściu do oceny zdolności przydatny jest histogram zdolności procesu (Rys. 9). Wykres może dostarczyć wielu informacji, których nie dostarczą „surowe” liczby, np. w którą stronę przesuwają się średnia procesu.



Rys. 9. Histogram zdolności dla przykładowego parametru procesu.

VII. Analiza równoważności między seriami

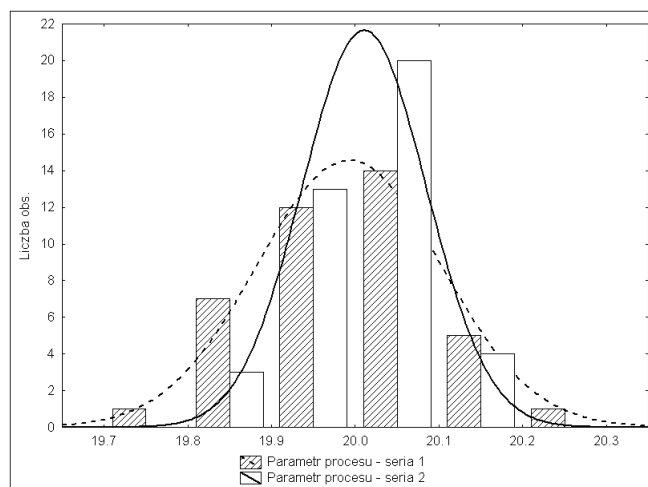
Analiza równoważności poszczególnych serii produkcyjnych powinna obejmować:

- ◆ Porównanie rozkładów
- ◆ Porównanie profili uwalniania

Pozwoli to stwierdzić czy proces zachowuje się odpowiednio w poszczególnych seriach produkcyjnych a nie tylko wewnątrz pojedynczej serii.

1. Porównanie rozkładów

Tak jak w przypadku większości analiz statystycznych, najlepiej jest rozpocząć od weryfikacji badanego założenia przy pomocy narzędzi graficznych. W tym przypadku można użyć histogramu wielokrotnego (Rys. 10), gdzie do poszczególnych zbiorów danych dopasowane są krzywe założonego wcześniej rozkładu teoretycznego (w tym przypadku jest to rozkład normalny).



Rys. 10. Histogram wielokrotny porównujący rozkłady dwóch przykładowych parametrów.

Graficzne porównanie rozkładów dwóch zmiennych na jednym rysunku pozwala wstępnie ocenić, czy kształty rozkładów są podobne, oraz czy parametry takie jak średnia obu zbiorów danych są w przybliżeniu równe. Należy zwrócić uwagę, że wykres tego typu może być niedokładny – zwłaszcza przy małej liczbie obserwacji. Zatem weryfikacja zgodności rozkładów, powinna być uzupełniona odpowiednim testem statystycznym. Odpowiednim narzędziem do tego celu jest test Kołmogorowa-Smirnowa. Test ten służy do weryfikacji hipotezy, że dwie próby zostały pobrane z tej samej populacji. Test ten jest wrażliwy na różnice ogólnych kształtów rozkładów w dwóch próbach (tj. różnice dyspersji, skośności itp.). Przykładowy test Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch zbiorów danych (Rys. 11), nie daje podstaw do odrzucenia hipotezy o równości rozkładów, czyli można przyjąć że rozkłady te nie różnią się w sposób istotny statystycznie.

Maks Ujemna Różnica	Maks Dodatnia Różnica	Poziom p	Średnia Seria 1	Średnia Seria 2	Odchylenie standardowe Seria 1	Odchylenie standardowe Seria 2
-0.100000	0.225000	p > .10	20.00885	19.99089	0.073684	0.109520

Rys. 11. Wyniki testu Kołmogorowa-Smirnowa dla przykładowego parametru procesu.

Aby można było przyjąć, że porównywane rozkłady się różnią, wartość p powinna być mniejsza od 0,05.

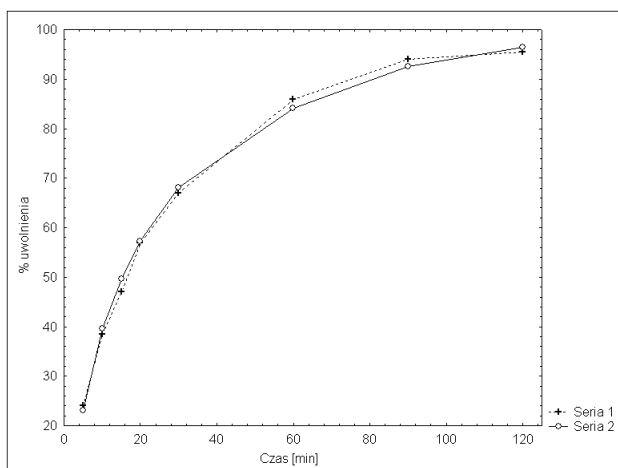
2. Porównanie profili uwalniania

Profile uwalniania są uznawane za ważny element w rozwoju produktów leczniczych. Mogą one określić prędkość oraz stopień uwalniania substancji. W celu porównania profili uwalniania dla dwóch produktów leczniczych można użyć wielu metod, z których tu wymienione zostały tylko niektóre. Ze względu na naturę procedur statystycznych można je podzielić na dwie grupy:

- 1) Niezależne od modelu:
 - ◆ Współczynnik podobieństwa
 - ◆ Analiza wielowymiarowa
 - ◆ Dwu-czynnikowa ANOVA
 - ◆ ANCOVA
 - ◆ Analiza split-plot
- 2) Zależne od modelu:
 - ◆ Weibulla
 - ◆ Gompertza
 - ◆ Logistycznego

Ze względu na dużą liczbę metod, które można zastosować, dalej zostanie opisana jedna metoda z każdej grupy.

Weryfikacja podobieństwa profili uwalniania powinna być poprzedzona porównaniem na wykresie profili uwalniania dla zbioru testowego i referencyjnego (Rys. 12). Kształt profili uwalniania, szczególnie w przypadku metod zależnych od modelu, należy wstępnie zweryfikować, co pozwoli ocenić czy nie występują znaczące różnice pomiędzy kształtem założonej funkcji a rzeczywistym kształtem rozkładu przebiegu. Sytuacja taka może bowiem w pewnych przypadkach doprowadzić do błędnego porównania profili uwalniania.



Rys. 12. Wykres średnich – porównanie dwóch profili uwalniania.

2.1. Metoda współczynnika podobieństwa

Najprostszą do zastosowania metodą porównania profili uwalniania, z grupy metod niezależnych od modelu, jest metoda współczynnika podobieństwa. Współczynnik podobieństwa f_2 jest zdefiniowany w następujący sposób:

$$f_2 = 50 \log_{10} \left\{ 100 \left[1 + \frac{1}{t} \sum_{j=1}^t (R_j - T_j)^2 \right]^{-0.5} \right\}$$

gdzie: R_j oraz T_j reprezentują średni procent uwolnienia w czasie j , odpowiednio dla próby referencyjnej i testowej; t jest liczbą testowanych punktów w czasie. Wartość f_2 może przyjmować wartości z zakresu $(-\infty, 100)$. Jeżeli średni procent uwalniania jest identyczny dla każdego z dwóch odpowiadających sobie punktów ze zbiorów R i T , wtedy $f_2 = 100$. Przyjmuje się że podobieństwo między zbiorami: testowym i odniesienia jest wystarczające jeżeli $f_2 > 50$.

2.2. Metody dopasowania funkcji

W przypadku metod zależnych od modelu zakłada się że do danego profilu uwalniania może być dopasowana krzywa opisywana odpowiednią funkcją. Pierwszym etapem w metodach tego typu, jest dopasowanie odpowiedniej krzywej do odpowiedzi eksperymentu i obliczenie parametrów modeli dla zbioru testowego oraz referencyjnego. Następnym krokiem jest porównanie parametrów uzyskanych dla obydwóch modeli. W tego typu metodach wybór odpowiedniej krzywej jest czynnikiem krytycznym. Jeżeli ogólny model dla krzywych został niepoprawnie wybrany, zazwyczaj będzie to prowadzić do błędnych wyników.

Jedną z używanych do dopasowania krzywych, jest krzywa opisana funkcją Weibulla:

$$m = m_{\infty} \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{t_d}\right)^{\beta}} \right)$$

gdzie: $m_{\infty} = 100$, t oznacza punkt w czasie, t_d jest parametrem skali, natomiast β jest parametrem kształtu. Następnie funkcja jest doprowadzana do postaci liniowej $y = ax + b$ wyrażonej wzorem:

$$\ln\left(-\ln\left(1 - \frac{m}{m_{\infty}}\right)\right) = \beta \ln(t) - \beta \ln(t_d)$$

Dla tak przekształconej funkcji może zostać dopasowana prosta metodą regresji liniowej. Wymagane jest, aby współczynnik korelacji dopasowania prostej regresji był większy od 0,99. Otrzymana w ten sposób wartość a będzie odpowiadała parametrowi β , natomiast parametr kształtu można obliczyć ze wzoru:

$$t_d = e^{-\frac{b}{\beta}}$$

Następnie należy porównać otrzymane w ten sposób parametry t_d dla próby testowej oraz dla próby referencyjnej. Można je porównać za pomocą analizy ANOVA. Jeżeli ANOVA nie wykaże znaczącego wpływu poszczególnych czynników, które mogą oddziaływać na kształt profilu, oznacza to, że nie ma znaczących różnic pomiędzy badanymi profilami uwalniania.

VIII. Monitorowanie procesu

Zgodnie z wytycznym Dobrej Praktyki Wytwarzania procesy powinny być okresowo oceniane w celu potwierdzenia wyników walidacji (walidacja retrospektywna – walidacja procesu wytwarzania produktu, który znajduje się w sprzedaży, przeprowadzoną na podstawie zebranych danych dotyczących produkcji, badania i kontroli serii). Niemniej walidacja retrospektywna jest dopuszczalna tylko dla dobrze znanych procesów i nie można jej stosować, jeżeli wprowadzone zostały zmiany w składzie produktu, procedurach operacyjnych lub urządzeniach.

Zalecane jest ponadto prowadzenie kart kontrolnych do monitorowania rutynowego procesu produkcyjnego, co pozwala na porównanie aktualnego stanu procesu ze stanem przeszłym oraz pozwala na szybkie wykrycie niepokojących sygnałów, które mogą wskazywać na rozregulowanie procesu (pogorszenie jakości). Monitorowanie procesu powinno być także uzupełnione okresową weryfikacją zdolności procesu. Wyznaczone w procesie walidacji granice kontrolne dla poszczególnych parametrów procesu nie powinny być zmieniane w trakcie rutynowego monitorowania, gdyż stanowią one naturalną granicę parametru

procesu i przekroczenie ich zazwyczaj wskazuje na brak jego stabilności w czasie.

Warto zwrócić uwagę, że sprawny i wydajny przebieg procesu monitorowania jak i całego procesu walidacji zależy od zastosowania odpowiednich narzędzi do: zbierania danych, przechowywania danych oraz do ich analizowania i raportowania wyników. Oczywiście pomiędzy tymi elementami powinien być zapewniony przepływ informacji, co znacznie zwiększa wydajność systemu walidacyjnego. Wyjątkowo wydajnymi narzędziami które posiadają wspomnianą funkcjonalność są programy z rodziny *STATISTICA* a w szczególności system *SEWSS* (*STATISTICA* Enterprise-Wide SPC System), który integruje wszystkie cechy nowoczesnego systemu do walidacji procesów technologicznych. *SEWSS* oferuje wszystkie, nawet najbardziej zaawansowane, analizy statystyczne wykorzystywane w walidacji, a dzięki temu, że został zaprojektowany również do statystycznego sterowania procesami w skali całego przedsiębiorstwa, jest idealnym narzędziem do monitorowania procesów na bieżąco. Używając tego systemu można w prosty sposób gromadzić pomiary w bazie danych a następnie odpowiednie zestawy danych wydobyć w celu ich przeanalizowania. W przypadku rutynowych działań system pozwala na zdefiniowanie szablonów analiz i raportów, do których użytkownik systemu ma bardzo szybki dostęp. Dzięki temu, że wszystkie informacje gromadzone są w bazie danych, łatwo jest nimi zarządzać a prawdopodobieństwo przypadkowej utraty danych jest praktycznie równe zero.

Walidacja wymaga zarządzania i przechowywania dużej liczby dokumentów, co w przypadku przechowywania ich w formie papierowej przysparza wielu problemów. Problemy te w naturalny sposób rozwiązuje *STATISTICA Document Management System (SDMS)*, który jest najbardziej efektywnym sposobem poprawy jakości i zwiększenia wydajności systemów do zarządzania dokumentami, dzięki przejściu na elektroniczną formę dokumentów. System *SDMS* został tak zaprojektowany, aby spełnić wymagania FDA (*Code of Federal Regulations Title 21 Part 11*) w zakresie zarządzania dokumentami w formie elektronicznej.

Literatura

1. Marek Skowronek, Statystyczna kontrola jakości danych w walidacji procesów technologicznych, II konferencja Chemometria Metody i zastosowania, Zakopane 16-19.10.2003 Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych ISBN 83-87425-12-5
2. Tomasz Greber, 2000, Statystyczne sterowanie procesami – doskonalenie jakości z pakietem *STATISTICA*, StatSoft Polska Sp. z o.o.
3. Montgomery D. C., 1997, Introduction to Statistical Quality Control, wyd. III, John Wiley & Sons, Inc.
4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 3 grudnia 2002 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania.
5. Huey Lin Ju, Shu-Jean Liaw, On the assessment of similarity of drug dissolution profiles – a simulation study, Drug Information Journal, Vol. 31, pp. 1273-1289, 1997
6. The European Agency for the Evaluation of Medical Products, Note for Guidance on Process Validation, CPMP/QWP/848/96, EMEA/CVMP/598/99, London, 1 March 2001