

**Придатність аналітичних методів
для конкретного застосування
Настанова для лабораторій з валідації методів
та суміжних питань**

Друге видання

Київ 2016

ДП "Укрметртестстандарт"



**Придатність аналітичних методів
для конкретного застосування**

**Настанова для лабораторій з валідації методів
та суміжних питань**

За редакцією Б. Магнуссона та У. Ернемарка

Київ - 2016

Видано ТОВ "Юрка Любченка"

УДК 543.06-047.44(083.744)

ББК 24.4я8

П75

Настанова Eurachem "Придатність аналітичних методів для конкретного застосування. Настанова для лабораторій з валідації методів та суміжних питань": за ред. Б. Магнуссона та У. Ернемарка: переклад другого видання 2014 р. – К.: ТОВ "Юрка Любченка", 2016. - 92 с.

Руководство Eurachem "Пригодность аналитических методов для конкретного применения. Руководство для лабораторий по валидации методов и смежным вопросам" под ред. Б. Магнуссона та У. Эрнемарка: перевод второго издания 2014 г. – К.: ООО "Юрка Любченка", 2016. – 92 с.

Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: B. Magnusson and U. Örnemark (eds.): translation of the second edition, 2014 – Kyiv: LLC "Yurka Liubchenka", 2016. - 92 p.

ISBN 978-617-7221-15-8

У настанові пояснено поняття "валідація методу", описано, які характеристики визначають під час валідації, як її проводять, як застосовують результати валідації для внутрішнього контролювання якості, як треба викладати у документах аналітичні методики тощо.

Настанова орієнтована на фахівців з метрології та аналітичної хімії, а також викладачів, аспірантів та студентів вищих навчальних закладів.

В руководстве дано объяснение понятия "валидация метода", описано, какие характеристики определяют при валидации, как ее проводят, как применяют результаты валидации для внутреннего контроля качества, как следует излагать в документах аналитические методики и т.д.

Руководство ориентировано на специалистов в области метрологии и аналитической химии, а также преподавателей, аспирантов и студентов высших учебных заведений.

Guide explains the concept of method validation, performance characteristics evaluated in course of validation, how a method validation study should be performed, use of validation data in internal quality control, documentation of analytical methods etc.

The Guide is aimed at professionals working in metrology and analytical chemistry, as well as university teachers, postgraduates, and students.

ISBN 978-617-7221-15-8

© 2014 Учасники робочої групи

© 2016 ДП "Укрметртестстандарт"

переклад українською мовою

**Придатність аналітичних методів
для конкретного застосування
Настанова для лабораторій з валідації методів
та суміжних питань**

Друге видання

Подяка

Цей документ розроблено робочою групою Eurachem з валідації методів у співпраці з іншими залученими учасниками. Список розробників документу подано нижче.

Робоча група проекту

Vicki Barwick	LGC (Великобританія)
Pedro P. Morillas Bravo	Canal de Isabel II Gestión (Іспанія)
Stephen L. R. Ellison	LGC (Великобританія)
Joakim Engman	National Food Agency (Швеція)
Elin L. F. Gjengedal	Norwegian University of Life Sciences (Норвегія)
Ulla Oxenbøll Lund	Eurofins Miljø A/S (Данія)
Bertil Magnusson (редактор)	SP Technical Research Institute of Sweden (Швеція)
Hans - Thomas Muller	Mersin (Туреччина)
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanità (Італія)
Barbara Pohl	Merck KGaA (Німеччина)
Piotr Robouch	Європейська комісія (Європейський Союз)
Lorens P. Sibbesen (голова)	Labquality International (Данія)
Elvar Theodorsson	University Hospital in Linköping (Швеція)
Florent Vanstapel	University Hospital Leuven, Leuven (Бельгія)
Isabelle Vercruyssen	BELAB (Бельгія)
Aysun Yilmaz	Cevre Food and Industrial Analysis Laboratory (Туреччина)
Perihan Yolci Ömeroglu	Okan University (Туреччина)
Ulf Örnemark (редактор)	Emendo Dokumentgranskning (Швеція)

Авторські права ©

Авторські права належать розробникам цього документу. Усі запити стосовно відтворення документу у будь-якій формі, включно з перекладом, слід направляти до секретаріату Eurachem. Копіювати текст для перепродажу заборонено.

Назва оригіналу

B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Публікація доступна на www.eurachem.org.

Переклад з англійської та науково-технічне редагування

Технічний комітет України ТК 122 "Аналіз газів, рідких та твердих речовин", ДП "Укрметртестстандарт", Eurachem - Ukraine

М. Рожнов, канд. хім. наук (науковий керівник); О. Левбарг

Зміст

Передмова до другого видання.....	1
Передмова до першого видання	3
Скорочення та символи	4
1. Вступ.....	6
1.1 Обґрунтування та сфера застосування цієї настанови.....	6
1.2 Зауваги щодо застосування цієї настанови.....	7
1.2.1 Термінологія	7
1.2.2 Стислі довідки	8
2. Що таке валідація методу?	9
2.1 Визначення.....	9
2.2 У чому різниця між валідацією та верифікацією?	10
3. Чому потрібна валідація методу?.....	11
3.1 Важливість аналітичного вимірювання	11
3.2 Професійний обов'язок хіміка-аналітика	11
3.3 Розроблення методу	12
4. Коли методи треба валідувати або верифікувати?	14
4.1 Валідація методу	14
4.2 Верифікація методу.....	14
5. Як роблять валідацію методів?.....	15
5.1 Хто виконує валідацію методів?	15
5.1.1 Підходи до валідації методів.....	15
5.1.2 Міжлабораторна валідація.....	15
5.1.3 Валідація в одній лабораторії.....	15
5.2 Обсяг валідаційного дослідження	16
5.3 Програма та протокол валідації	17
5.4 Засоби валідації	18
5.4.1 Холості зразки	18
5.4.2 Рутинні проби	18

5.4.3	Матеріали/розчини з добавками	19
5.4.4	Матеріали зі зв'язаними добавками	19
5.4.5	Еталони.....	19
5.4.6	Статистика	20
5.5	Вимоги до валідації.....	21
5.6	Процес валідації методу	21
6.	Характеристики методу	24
6.1	Селективність	24
6.1.1	Терміни та визначення.....	24
6.1.2	Вплив завад	24
6.1.3	Оцінювання селективності	25
6.2	Межа виявлення та межа кількісного визначення	27
6.2.1	Терміни та визначення.....	27
6.2.2	Визначання стандартного відхилення на низьких рівнях концентрації	28
6.2.3	Оцінювання LOD.....	32
6.2.4	Оцінювання LOQ.....	33
6.2.5	Альтернативні методики	34
6.2.6	Здатність до виявлення для якісного аналізу	34
6.3	Робочий діапазон.....	35
6.3.1	Визначення.....	35
6.3.2	Загальні зауваги щодо перевірки діапазону під час валідації.....	36
6.3.3	Робочий діапазон методу і приладу.....	36
6.3.4	Оцінювання робочого діапазону приладу.....	37
6.3.5	Оцінювання робочого діапазону методу.....	38
6.4	Аналітична чутливість	40
6.4.1	Визначення.....	40
6.4.2	Застосування	40
6.5	Правильність.....	40
6.5.1	Термінологія для опису якості вимірювання.....	40

6.5.2	Визначення зсуву	42
6.5.3	Інтерпретація результатів визначення зсуву	45
6.6	Прецизійність.....	46
6.6.1	Повторні вимірення.....	46
6.6.2	Умови прецизійності.....	46
6.6.3	Межі прецизійності	48
6.6.4	Одночасне визначення збіжності та проміжної прецизійності.....	48
6.7	Непевність виміру	50
6.8	Стійкість.....	51
6.8.1	Визначення.....	51
6.8.2	Перевірка на стійкість.....	51
7.	Застосування валідованих методів	53
8.	Застосування даних валідації для контролювання якості	55
8.1	Вступ.....	55
8.2	Внутрішнє контролювання якості	55
8.3	Зовнішнє контролювання якості.....	57
9.	Виклад валідованих методів.....	59
9.1	Від проекту до остаточної версії.....	59
9.2	Рекомендації	59
9.2.1	Перевірка правильності викладу	59
9.2.2	Рекомендації стандартів	60
9.2.3	Управління документацією	60
10.	Використання даних валідації для обчислення та подання результатів.....	61
Додаток А.	Структура опису методу	63
Додаток В.	Статистичне обґрунтування розрахунку межі виявлення.....	70
Додаток С.	Дисперсійний аналіз (ANOVA)	72
Додаток D.	Зауваги щодо якісного аналізу	75
Бібліографія		79

Передмова до другого видання

За час, що минув після виходу у 1998 р. першого видання цієї настанови, у галузі забезпечення якості аналітичного вимірювання сталися важливі зміни. По-перше, було переглянуто стандарти серії ISO 9000, які широко застосовують як основу для систем керування якістю. Засадничі принципи цих стандартів є невід'ємною частиною міжнародних стандартів та настанов з оцінки відповідності, що встановлюють вимоги до компетентності лабораторій, провайдерів перевірки кваліфікації (PT) та виробників стандартних зразків (RM). У всіх цих документах підкреслено важливість застосування валідованих методів.

По-друге, було розроблено або переглянуто деякі загальні або галузеві настанови з валідації методів. Законодавство ЄС містить обов'язкові вимоги до аналітичного вимірювання у багатьох галузях.

По-третє, співтовариство аналітиків доклало чимало зусиль для запровадження концепції непевності*. Наприклад, у документі IUPAC "Гармонізовані рекомендації щодо валідації аналітичних методів в одній лабораторії" (2002 р.) було спрогнозовано, що "... у міру того як непевність вимірів усе більше сприйматимуть як ключовий показник, що характеризує як придатність для конкретного застосування, так і достовірність результатів, хіміки-аналітики дедалі частіше проводитимуть валідацію методів вимірювання для оцінювання непевності ...". У наступні роки органи з акредитації опублікували основні принципи та керівні документи, що однозначно визнають можливість використання результатів валідації методів для оцінювання непевності вимірів.

Окрім того, було суттєво переглянуто "Міжнародний словник з метрології. Основні та загальні поняття і відповідні терміни" (VIM) з урахуванням особливостей хімічного та біологічного вимірювання. Попри те, що термінологія, яка стосується валідації методів, ще далека від гармонізації, ситуація поліпшилася. Також важливо, що VIM є нормативним документом для лабораторій, акредитованих, наприклад, відповідно до ISO/IEC 17025 та ISO 15189.

Метою другого видання цієї Настанови є відображення змін у міжнародних стандартах та настановах, і у ньому приділено менше уваги термінам та визначенням. Замість цього у настанові дано посилання на VIM та інші легко доступні джерела. Відповідно, з додатків було вилучено перелік термінів та визначень. Список літератури,

* Термін "uncertainty" тут і далі у тексті перекладено терміном "непевність", який на думку багатьох фахівців є точніший відповідник, ніж термін "невизначеність". Стосовно цього, а також термінів "вимірювання", "вимірення", "вимір" див. передмову до українського видання настанови Eurachem з термінології аналітичного вимірювання [8]. (Прим. перекладача).

процитованої у цьому виданні настанови, подано у розділі "Бібліографія" наприкінці документа. Додаткові джерела та літературу, присвячені розробленню та валідації методів, можна знайти у "Списку для читання" ("Reading list") в розділі "Публікації" ("Publications") на сайті Eurachem www.eurachem.org. Додаток А було переглянуто відповідно до змін, внесених до стандарту ISO 78-2. Окрім того, це видання доповнено інформацією про статистичне обґрунтування для обчислення межі виявлення (Додаток В), дисперсійний аналіз (Додаток С) та якісний аналіз (Додаток D).

У рядових лабораторіях, особливо у клінічному секторі, усе частіше застосовують вимірювальні системи, що випускаються серійно. Це означає, що відповідальність за валідацію несе, головним чином, виробник. Робота лабораторії полягатиме у перевірці характеристик, зазначених виробником, та підтвердженні того, що метод працює у кінцевого користувача.

Проте, повертаючись до передмови до першого видання, можна сказати, що шість принципів, викладені у ній, і тепер є актуальні та узгоджуються з вимогами міжнародних стандартів, зокрема, ISO/IEC 17025.

Передмова до першого видання*

Під час кампанії з поширення у Великобританії належної практики аналітичного вимірювання було сформульовано шість принципів, сукупність яких утворює "правила найкращої практики". Цими принципами, які детальніше описано в окремій настанові[†], є такі:

1. "Аналітичне вимірювання повинно відповідати погодженим вимогам" (тобто поставленій меті).
2. "Аналітичне вимірювання треба проводити за допомогою методів та засобів, придатність яких для конкретного застосування було перевірено".
3. "Персонал, що виконує аналітичне вимірювання, повинен бути достатньо кваліфікований та компетентний, щоб виконати поставлене завдання" (та продемонструвати, що він може виконувати аналізування належним чином).
4. "Необхідно регулярно проводити незалежне оцінювання технічних показників роботи лабораторії".
5. "Результати аналізування, отримані в одній лабораторії, повинні бути зіставні з результатами, отриманими в інших лабораторіях".
6. "Організації, що виконують аналітичне вимірювання, повинні мати чітко визначені процедури контролювання та забезпечення якості".

Ці принципи однаково стосуються як лабораторій, що працюють самостійно, так і тих, чий результати мають бути зіставлені з результатами інших лабораторій.

Основним завданням цього документа є сприяння лабораторіям у здійсненні принципу №2, і, відповідно, він містить рекомендації з оцінювання методів випробування з метою підтвердження їхньої придатності для конкретного застосування.

* Перше видання (1998 р.) цієї настанови було підготовлено робочою групою Eurachem на основі проекту, запропонованого LGC. Членами робочої групи Eurachem на той час були: D. Holcombe, P. De Bièvre, D. Böttger, C. Eastwood, J. Hlavay, M. Holmgren, W. Horwitz, M. Lauwaars, B. Lundgren, L. Massart, J. Miller, J. Morkowski, B. te Nijenhuis, B. Nyeland, R. Philipp, P. Radvila, J. Smeyers-Verbeke, R. Stephany, M. Suchanek, C. Vandervoort, H. Verplaetse, H. Wallien, M. Walsh, W. Wegscheider, D. Westwood, H. J. van de Wiel.

[†] The manager's guide to VAM, UK Department of Trade and Industry, Valid Analytical Measurement Programme. Опубліковано як VAM Principles M. Sargent. Anal. Proc., 1995, 32, 201-202.

Скорочення та символи

У цій настанові використано такі аббревіатури, акроніми та символи:

AMC	Комітет з аналітичних методів
ANOVA	дисперсійний аналіз
AOAC International	усесвітньо визнана організація, що розроблює стандарти
ASTM International	усесвітньо визнана організація, що розроблює стандарти
BIPM	Міжнародне бюро мір та ваг
CCQM	Консультативний комітет з кількості речовини – метрології у хімії
CEN	Європейський комітет зі стандартизації
CITAC	Співпраця з міжнародної простежуваності в аналітичній хімії
CLSI	Інститут клінічних та лабораторних стандартів
CRM	атестований стандартний зразок
EA	Європейська співпраця з акредитації
EC	Європейська комісія
EPA	Агентство із захисту довкілля
EQA	зовнішнє оцінювання якості
EU	Європейський Союз
GUM	Оцінювання результатів вимірень. Настанова з вираження непевності результатів вимірень.
ICH	Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини
IEC	Міжнародна електротехнічна комісія
ISO	Міжнародна організація зі стандартизації
IUPAC	Міжнародний союз теоретичної та прикладної хімії
JCGM	Об'єднаний комітет з настанов у метрології
LOD	межа виявлення
LOQ	межа кількісного визначення
NATA	Національна асоціація органів з випробовування
QA	забезпечення якості
QC	контролювання якості
RSC	Королівське хімічне товариство
SANCO	Генеральний директорат Європейської комісії з охорони здоров'я та захисту прав споживачів
SOP	стандартна операційна процедура
PT	перевірка кваліфікації
RM	стандартний зразок
RSD	відносний стандартний відхил
UV/VIS	ультрафіолетовий/видимий
VIM	Міжнародний словник з метрології. Основні та загальні поняття і відповідні терміни

b	абсолютний зсув
b (%)	відносний зсув, %
k_Q	коефіцієнт, який застосовують для обчислення межі кількісного визначення
m	кількість вимірів
n	кількість повторних результатів спостережень, які усереднюють для подання результатів
n_b	кількість результатів холостих дослідів, які усереднюють для обчислення поправки на холостий дослід
r	межа збіжності
R	межа відтворюваності
R (%)	ступінь вилучення (ефективний ступінь вилучення), %
R' (%)	ступінь вилучення добавки %
s	стандартний відхил
s_0	оцінка стандартного відхилення одиничних результатів для нульової або близької до нуля концентрації
s'_0	стандартний відхил, який використовують для обчислення LOD або LOQ
s_I	стандартний відхил проміжної прецизійності
s_r	стандартний відхил збіжності
s_R	стандартний відхил відтворюваності
u	стандартна непевність
\bar{x}	середнє значення (середнє арифметичне)
x_{ref}	опорне значення
\bar{x}_{ref}	середнє значення результатів вимірень, отриманих альтернативним методом, наприклад, референтним методом
\bar{x}'	середнє значення для зразка з добавкою в експерименті з визначення ступеня вилучення
x_{spike}	додана концентрація в експерименті з визначення ступеня вилучення

1. Вступ

1.1 Підстави для розроблення та сфера застосування цієї настанови

Валідація методів є суттєва та необхідна частина роботи аналітичної лабораторії. Більшість хіміків-аналітиків усвідомлюють її важливість, проте не завжди розуміють, чому і коли її потрібно проводити і що саме для цього треба робити. Деякі аналітики вважали, що валідація методу – це щось таке, що можна робити тільки у співпраці з іншими лабораторіями, і, отже, її не проводили. Проясненню цього питання посприяли вимоги таких стандартів, як ISO/IEC 17025 [1], ISO 15189 [2] та ISO 15195 [3]. Наприклад, необхідність підтвердження того, що методи відповідають поставленому завданню, міститься у п. 5.4.2 ISO/IEC 17025: *"Лабораторія повинна застосовувати методи випробовування та/або калібрування, включно з методами взяття проб, що відповідають вимогам замовника та придатні для випробовування та/або калібрування, які виконує лабораторія..."*, і далі: *"Якщо замовник не зазначає метод, який слід застосувати, лабораторія повинна сама вибрати відповідні методи..."*.

Завдання цієї настанови – розглянути питання, пов'язані з валідацією методів, та допомогти читачеві краще зрозуміти, у чому вона полягає і чому важлива, а також дати певне уявлення про те, як її можна виконати.

Ця настанова може бути найбільш корисна для а) керівників лабораторій, відповідальних за належну валідацію методів, які застосовують у їхніх лабораторіях, а також б) аналітиків, відповідальних за планування та виконання робіт з дослідження методів з метою їх валідації. Для інших працівників настанова може бути джерелом базової інформації: для старшого персоналу – з точки зору управління, для молодшого – з технічної та освітньої точки зору. У настанові розглянуто, головним чином, валідацію методу в одній лабораторії. Мета настанови – спрямувати читача на ознайомлення з установленими протоколами валідації, а для тих випадків, де вони відсутні, дати елементарний опис процесів, які включає валідація, і представити деякі основні принципи, що дадуть змогу розробити власні підходи до валідації. Настанова містить посилання на додаткові матеріали з конкретних технічних аспектів валідації.

Ця настанова присвячена валідації кількісних методів. Проте деякі принципи, описані тут, також застосовні до якісних методів виявлення одного або більше аналітів, наприклад, поняття селективності та межі виявлення (LOD).

У настанові не розглянуто детально статистичні методи, хоча, поза сумнівом, тим, хто має практичні навички застосування елементарної статистики, буде простіше зрозуміти та

реалізувати процес валідації методу. У настанові дано декілька посилань на публікації з основ статистики для хіміків [4, 5, 6].

Аналітикам буває важко досягнути поняття валідації методу через те, що багато метрологічних та технічних термінів, які вживають для описання процесів оцінювання методу, різняться у різних галузях застосування хімічного аналізу – як за значенням, так і за способом їх визначення. Ця настанова не дає можливості визначити, коректно чи ні десь ужито певний термін, хоча вона й повинна внести певну ясність. Якщо ви вживаєте термін, який можуть зрозуміти неправильно, найкраще було би дати посилання на джерело та прийняту угоду.

Коли йдеться про валідацію методу, неявним чином припускають, що дослідження з метою визначення характеристик методу* виконують за допомогою обладнання, яке відповідає технічним вимогам, є справне та належним чином відкаліброване. У зв'язку з цим у настанові не розглянуто окремо поняття "оцінювання обладнання" або "оцінювання приладу". Аналогічно ми виходимо з того, що аналітик, який виконує дослідження, є компетентний у конкретній галузі та має достатні спеціальні знання, щоби приймати правильні рішення за отриманими результатами досліджень.

1.2 Зауваги щодо застосування цієї настанови

1.2.1 Термінологія

Переглядаючи цю настанову, основну увагу ми приділили оновленню термінології та бібліографічних посилань відповідно до змін, що сталися впродовж п'ятнадцяти років після виходу її першого видання. У термінології ми дотримувалися, за можливості, 3-го видання VIM, уперше опублікованого у 2007 р. [7, 8]. Щоб відобразити термінологію, якою зазвичай послуговуються в аналітичних лабораторіях, додатково було використано, за потреби, терміни з ISO/IEC 17025:2005 [1], інших документів ISO [9, 10, 11] та Гармонізованої настанови IUPAC з валідації в одній лабораторії від 2002 р. [12],

Інколи, коли є декілька схожих між собою термінів, буває важко вирішити, який із них треба обрати. Задля ясності викладу було вирішено уживати терміни однозначно в усьому тексті настанови. Як приклад можна навести термін, яким називають документ з детальним описом методу, що має бути валідований за участю персоналу та із застосуванням обладнання конкретної лабораторії. Для процедур кількісного аналізування у VIM застосовано термін "методика вимірювання", у ISO/IEC 17025 – "метод", у ISO 15189 [2] –

* Характеристики методу часто також називають "параметри методу", "метрологічні характеристики" та "робочі характеристики".

"методика дослідження", а багато лабораторій посилаються на свої "стандартні операційні процедури" (SOP). Робоча група вирішила дотримуватися стандарту ISO/IEC 17025 та застосовувати загальний термін "метод". Таким чином, у цій настанові ужито загальноприйнятий термін "валідація методу", хоча правильніше було б говорити "валідація методики".

Обираючи між англійськими термінами "ruggedness" та "robustness" (обидва означають "стійкість"), а також між "selectivity" ("селективність") та "specificity" ("специфічність") [13], ми віддали перевагу першим варіантам, оскільки саме їх використовує IUPAC [12].

Роботи, які виконують у лабораторії, називають по-різному, наприклад, "калібрування", "вимірювання", "випробування", "аналізування" та "дослідження". У цій настанові як загальний термін ужито "аналізування" ("аналіз"), а за потреби зазначено конкретні особливості. Окрім того, у настанові часто йдеться про вимірювання концентрації, хоча у хімічній лабораторії регулярно вимірюють також інші величини [14].

Коли говорять про взяття проб, їх підготування та аналізування, уживають такі терміни, як "цільовий об'єкт", "первинна проба", "інкремент", "складена проба", "проміжна проба", "лабораторна проба", "тестовий зразок", "тестова порція" та "тестовий розчин" [15, 16]. У цій настанові, як правило, ми використовуємо загальний термін "проба" або "тестовий зразок"* [17]. Визначення найважливіших термінів, ужитих у настанові, подано у тексті. Там, де це можливо, було подано визначення з VIM, ISO 9000 [9] та IUPAC [17, 18]. Терміни з VIM, пов'язані з аналітичною хімією, додатково роз'яснено у настанові Eurachem "Термінологія аналітичного вимірювання" [8]. Зазначимо, що досі немає повної згоди щодо визначення деяких термінів, які вживають стосовно валідації методів.

1.2.2 Стислі довідки

У розділі 6 у затемнених таблицях містяться "стислі довідки" щодо визначення конкретних характеристик методу. Треба, однак, визнати, що досить часто лабораторії не мають достатньо часу та ресурсів на такі ретельні експерименти. Виконання операцій, описаних у цих таблицях, з меншою кількістю повторень дасть змогу усе ж таки отримати корисну інформацію, і, звичайно, це краще, ніж не робити нічого зовсім. Проте ця інформація буде менш достовірною, ніж отримана з повною кількістю повторень.

* Тестовий зразок – зразок, приготований з лабораторної проби, з якого відбирають тестові порції для випробування або аналізування [17].

2. Що таке валідація методу?

2.1 Визначення

Визначення *валідації*, узяті з трьох міжнародних документів, подано у таблиці 1.

Таблиця 1. Визначення поняття "валідація" в ISO 9000, ISO/IEC 17025 та VIM

Визначення	Посилання
Підтвердження шляхом надання об'єктивних свідчень того, що вимоги, встановлені для конкретного завдання або застосування, виконано.	ISO 9000 [9] ^a
Підтвердження шляхом дослідження та надання об'єктивних свідчень того, що конкретні вимоги, встановлені для конкретного застосування, виконано.	ISO/IEC 17025 [1]
Верифікація, за якої встановлені вимоги відповідають конкретному застосуванню.	VIM [7] ^b
^a ISO 9000 визначає "процес кваліфікування" як "процес демонстрування здатності виконати встановлені вимоги". ^b VIM визначає "верифікацію" як "надання об'єктивних свідчень того, що даний об'єкт відповідає встановленим вимогам".	

Валідація методу за своєю сутністю є процес установлення аналітичних вимог та підтвердження того, що можливості даного методу відповідають поставленому завданню. Невід'ємною частиною цього є оцінювання характеристик методу. Важливим моментом у даному визначенні є оцінювання придатності методу; у минулому валідація методу, як правило, була обмежена лише оцінюванням його характеристик.

Прийнято вважати, що валідація дуже тісно пов'язана з розробленням методу. Дійсно, багато характеристик методу (таблиця 2), які визначають під час валідації, зазвичай оцінюють, хоча б приблизно, у процесі його розроблення. Проте слід пам'ятати про необхідність формальної валідації остаточного варіанту методу (задокументованої методики).

У деяких галузях використовують поняття "первинна валідація" та "вторинна валідація", останнє – у сенсі верифікації [19]. Поняття "кваліфікування" та "метрологічне підтвердження" [20] також, очевидно, охоплюють верифікацію (див. таблицю 1).

Таблиця 2. Перелік характеристик, оцінюваних, як правило, під час валідації методу

Характеристики
Селективність
Межа виявлення (LOD) та межа кількісного визначення (LOQ)
Робочий діапазон
Аналітична чутливість
Правильність • зсув, ступінь вилучення
Прецизійність • збіжність, проміжна прецизійність та відтворюваність
Непевність вимірів ^a
Стійкість (робастність)
^a Строго кажучи, непевність виміру є не характеристикою конкретної методики вимірювання, а властивістю результатів, отриманих за допомогою цієї методики.

2.2 У чому різниця між валідацією та верифікацією?

ISO 9000 [9] визначає верифікацію як "підтвердження шляхом надання об'єктивних свідчень того, що встановлені вимоги виконано". Це дуже близько до визначення валідації, поданого у таблиці 1. Згідно VIM [7], верифікація – це "надання об'єктивних свідчень того, що об'єкт відповідає встановленим вимогам", а валідація – це "верифікація, за якої встановлені вимоги відповідають конкретному застосуванню".

Лабораторія може скористатися валідованою методикою, яка, наприклад, була опублікована як стандарт, або придбати для конкретного застосування готову вимірювальну систему у виробника. У обох випадках основну роботу з валідації вже було зроблено, але лабораторія все одно повинна підтвердити свою здатність застосовувати метод. Таке підтвердження є **верифікація**. Це означає, що потрібно виконати певні експерименти, які б показали, що метод нормально працює у лабораторії кінцевого користувача. Обсяг роботи, однак, імовірно буде значно менший у порівнянні з валідацією методу, розробленого в лабораторії.

Терміни "валідація" та "верифікація" також розглянуто у настанові Eurachem з термінології аналітичного вимірювання [8].

3. Чому потрібна валідація методу?

3.1 Важливість аналітичного вимірювання

Щодня у тисячах лабораторій по всьому світу виконують мільйони випробувань, вимірень та досліджень. Існує безліч причин для їх проведення, наприклад: оцінювання товару з метою торгівлі; потреби охорони здоров'я; перевіряння якості питної води, харчових продуктів та кормів; аналіз елементного складу сплаву з метою підтвердження його придатності для застосування в авіабудуванні; судова експертиза біологічних рідин у кримінальних справах. Практично усі аспекти життя суспільства так чи інакше пов'язані з аналітичним дослідженням.

Вартість цих експериментів висока, а рішення, прийняті на підставі отриманих результатів, можуть спричинити додаткові витрати. Наприклад, наслідком випробування, за результатами якого продукти харчування було визнано непридатними для вживання, може бути позов про відшкодування збитків; дослідження, що підтвердило наявність заборонених препаратів, може стати підставою для штрафу, ув'язнення, а у деяких країнах – навіть смертної кари. Абсолютно очевидно, наскільки важливо коректно робити вимірювання та бути у змозі довести правильність отриманих результатів.

3.2 Професійний обов'язок хіміка-аналітика

Якщо результатам дослідження не можна довіряти, значить, користі від нього обмаль, і його можна було взагалі не проводити. Коли лабораторії доручають аналітичне дослідження, виходять з того, що лабораторія має такий рівень компетентності, якого сам замовник не має. Замовник припускає, що він може довіряти наданим йому результатам, і, як правило, ставить їх під сумнів лише коли виникають розбіжності. Отже, лабораторія та її персонал безперечно зобов'язані виправдати довіру замовника та дати правильний розв'язок аналітичної частини його проблеми, або, іншими словами, такі результати, для яких підтверджено "придатність для конкретного застосування". Це повинно означати, що випробування, які виконала лабораторія, відповідають аналітичній частини проблеми, яку бажає розв'язати замовник, і що в остаточному протоколі результати аналізування подано так, що замовник може їх легко зрозуміти та зробити на їх підставі належні висновки. Через валідацію методу хіміки можуть показати, що він "придатний для конкретного застосування".

Щоб аналітичний результат відповідав поставленій меті, він має бути достатньо достовірний для того, щоб на його підставі можна було упевнено приймати рішення. Таким

чином, характеристики методу мають бути підтверджені, а непевність результату – оцінена із заданим довірчим рівнем. Способи оцінювання і подання непевності мають бути загально визнані, внутрішньо несуперечливі та легко зрозумілі [21]. Більшу частину інформації, потрібної для оцінювання непевності, можна отримати під час валідації методу. Це питання коротко розглянуто у розділі 6.7 і детальніше – у настанові Eurachem/CITAC "Кількісна оцінка непевності в аналітичному вимірюванні" [22].

Який би не був метод досконалий, а персонал – кваліфікований, аналітичне завдання можна вирішити шляхом аналізування проб лише за умови, що ці проби взято відповідно до поставленого завдання. Правильне взяття проб – це робота, що вимагає високої кваліфікації, розуміння конкретного завдання та пов'язаних із ним розділів хімії. У рамках підтримки замовників лабораторії повинні, за можливості, давати їм рекомендації щодо взяття проб. Тут, звичайно, йдеться про ситуації, коли самі лабораторії не можуть брати проби або якимось впливати на взяття проб. У такому разі результати аналізування будуть віднесені до проб, які надає лабораторії замовник, і цей момент треба чітко відображати у протоколі.

Зрозуміло, що основну увагу ми приділили основній меті валідації методу, тобто підтвердженню того, що метод "придатний для конкретного застосування". Проте слід зазначити, що дослідження, які проводить лабораторія під час валідації методу, є корисні для неї ще й з іншої точки зору. Вони дають змогу набути міцних знань та практичних навичок застосування методу, у тому числі розуміння усіх критично важливих етапів процесу. Валідація додає лабораторії та її персоналу впевненості в отриманих результатах.

3.3 Розроблення методу

Валідації передуює стадія розроблення, у якій може брати участь різний персонал і яка може набувати різних форм.

Один крайній випадок – це адаптація наявного методу шляхом внесення незначних змін, які дають змогу застосувати його для розв'язання нової задачі. Наприклад, метод визначання толуолу у воді можна розробити шляхом адаптації стандартного методу визначання бензолу у воді. Матриця тут та сама, а властивості цих двох аналітів багато у чому подібні. Цілком імовірно, що принципи відокремлення, ідентифікації та кількісного визначання, які застосовують до бензолу, також можна застосувати до толуолу. З іншого боку, якщо треба визначати бензол у ґрунті, адаптація методу визначання бензолу у воді може бути не найкращим варіантом. Можливо, для визначання органічних речовин у ґрунті краще було б узяти за основу який-небудь інший метод.

У іншому крайньому випадку хімік-аналітик може розпочати з деяких загальних ідей та, застосувавши свої знання і досвід, розробити потрібний метод. Ясно, що це

потребуватиме набагато більших зусиль, а впевненість в успішному розробленні буде значно менша. Досить часто, розроблюючи метод, одночасно розглядають декілька варіантів і у підсумку вибирають з них найкращий.

Незалежно від того, скільки зусиль вкладено у розроблення методу, немає жодної гарантії того, що він працюватиме нормально під час валідації (чи за звичайних умов у конкретній лабораторії). Якщо у розробленні та валідації методу беруть участь різні співробітники, це дає змогу перевірити, наскільки інструкції (методика вимірювання) є зрозумілі та можуть бути виконані практично.

4. Коли методи треба валідувати або верифікувати?

4.1 Валідація методу

Метод необхідно валідувати, коли треба переконатися у тому, що за своїми характеристиками він придатний для конкретного застосування. Наприклад, у п. 5.4.5.2 ISO/IEC 17025 [1] зазначено, що лабораторія повинна валідувати:

- нестандартні методи;
- методи, створені/розроблені у лабораторії;
- стандартні методи у разі їх використання поза встановленою сферою застосування;
- розширення та модифікації стандартних методів.

Обсяг робіт з валідації має бути достатній для виконання вимог, пов'язаних з певним завданням або застосуванням [23]. Ступінь ("масштаб", "зона поширення") валідації залежить від конкретного застосування, характеру внесених змін та умов, за яких метод застосовуватимуть.

Валідація також необхідна, коли треба підтвердити еквівалентність результатів, отриманих двома методами, наприклад, заново розробленим та наявним стандартним/нормативним.

4.2 Верифікація методу

Якщо лабораторія застосовує стандартні (застандартизовані) методи, наприклад, опубліковані ISO або ASTM, вона може не робити їх валідацію. Лабораторія, однак, повинна перевірити ("верифікувати") характеристики методу згідно з п. 5.4.2 ISO/IEC 17025:

"... Лабораторія повинна підтвердити, що вона може правильно застосовувати стандартні методи, перш ніж розпочати випробування або калібрування".

Верифікація також потрібна у разі внесення істотних змін, наприклад, коли прилад замінюють на аналогічний новий, переміщують устаткування тощо.

У лабораторній медицині більшість вимірень та випробувань виконують із застосуванням серійних методик, які вже валідував виробник, але які повинен перевірити кінцевий користувач [24]. У ISO 15189 [2] підкреслено, що *"методики дослідження, застосовувані без змін, підлягають незалежній верифікації лабораторією перед введенням їх у регулярне використання"*. Це також стосується тих ситуацій, коли у приладі оновлено програмне забезпечення або коли під час контролювання якості встановлено, що характеристики методу з часом змінюються.

5. Як роблять валідацію методів?

5.1 Хто виконує валідацію методів?

5.1.1 Підходи до валідації методів

По закінченні початкового етапу розроблення методу лабораторія повинна скласти детальний документ на методику вимірювання (див. Додаток А). Саме ця викладена у документі методика є об'єктом формальної валідації.

Є два основні підходи до валідації методу: валідація за допомогою міжлабораторних звірень і валідація в одній лабораторії. Незалежно від підходу, відповідальність за забезпечення відповідності методу поставленому завданню та, за потреби, проведення подальшої роботи з метою отримання нових даних на доповнення до наявних результатів валідації лежить на лабораторії, що застосовує цей метод.

5.1.2 Міжлабораторна валідація

Валідації методу через спеціально зорганізовані міжлабораторні звірення, які часто називають "спільні дослідження" ("collaborative studies") або "колективні дослідження" ("cooperative studies"), присвячено чимало публікацій. Є ціла низка документів, що стосуються такого роду валідації [25, 26, 27, 28], а також стандарти ISO 5725 [29], які можна вважати найбільш застосовними. Коли розробляють метод для широкого застосування, який, можливо, буде опубліковано як стандартну методику, тоді, очевидно, доцільно проводити валідацію через спільне дослідження за участю групи лабораторій. За допомогою такої валідації буде підтверджено стійкість стандартного методу. Опублікована інформація зазвичай містить оцінки прецизійності (збіжність, відтворюваність та/або відповідні межі прецизійності) та інколи також зсув. Якщо метод валідували організації, що розробляють стандарти, наприклад, ISO, CEN чи AOAC International, користувачеві, як правило, достатньо перевірити опубліковані дані щодо характеристик та/або встановити характеристики методу для власного застосування. Отже, за такого підходу зменшуються трудовитрати лабораторії, яка застосовує метод.

5.1.3 Валідація в одній лабораторії

У практиці лабораторій трапляються ситуації, коли треба застосувати якийсь метод, але відповідного опублікованого стандарту немає. Якщо метод розроблено для застосування в одній лабораторії, наприклад, через відсутність загального інтересу до цього методу або

через те, що інші лабораторії є конкурентами, тоді виправдана буде валідація в одній лабораторії [12].

Можливість застосування методів, валідованих в одній лабораторії, для регуляторних цілей залежить від чинних керівних документів, що стосуються певної галузі вимірювання. Як правило, офіційне роз'яснення може дати відповідний регуляторний орган.

5.2 Обсяг валідаційного дослідження

Лабораторія повинна визначити, які характеристики треба дослідити для валідації методу (див. таблицю 2 та розділ 6) та, у деяких ситуаціях, наскільки детально треба досліджувати кожен характеристику. У Протоколі IUPAC [12] описано різні варіанти з урахуванням, серед іншого, статусу методу та компетентності лабораторії.

Якщо сфера аналітичних робіт чітко окреслена і завдання потрібно виконувати увесь час одні й ті самі, організація або підрозділ можуть видавати загальні рекомендації щодо обсягу валідаційних досліджень. У таблиці 3 подано приклад з фармацевтичної галузі.

Добрим підґрунтям для планування валідації може бути уважний розгляд аналітичних вимог, поданих у розділі "Сфера застосування" документу на методіку (див. А.5 у Додатку А), але треба визнати, що на практиці перевірити їх повністю не завжди можливо. Оцінювання характеристик методу може бути обмежено різними чинниками. Це визнано в ISO/IEC 17025, п. 5.4.5.3: *"Валідація – це завжди компроміс між витратами, ризиком та технічними можливостями"*. У рамках накладених обмежень лабораторія повинна зробити максимум можливого, зважаючи на вимоги замовників та нормативних документів, набутий досвід застосування методу, наявні технічні засоби (розділ 5.4), а також необхідність забезпечити метрологічну сумісність [7] з іншими подібними методами, які вже застосовує ця або інші лабораторії. Деякі характеристики можна приблизно визначити під час розроблення методу або його впровадження. Часто з певної сукупності експериментів можна отримати дані про декілька характеристик, і тоді раціональне планування дасть змогу уникнути зайвої витрати зусиль на здобуття потрібної інформації.

Розглянути обмеження, про які йшлося вище, особливо важливо тоді, коли метод не планують застосовувати регулярно. Процес валідації методів, які застосовують на регулярній основі, описано порівняно добре. Очевидно, що до епізодичних досліджень застосовні ті самі принципи, що й до регулярних. Отримані результати повинні мати належний рівень достовірності. Досягти балансу між витратами часу та коштів, з одного боку, і необхідністю валідації – з іншого, досить складно. Інколи доцільно було б передавати певні аналітичні роботи до іншої лабораторії, яка виконує їх регулярно.

Таблиця 3. Обсяг валідації для чотирьох типів аналітичного завдання. Приклад узято з фармацевтичної галузі [13]. Значком 'x' відмічено характеристики, які, як правило, визначають під час валідації

Характеристики	Тип аналітичного завдання			
	Виявлення	Кількісне визначення домішок	Перевірка на відповідність граничному вмісту домішок	Кількісне визначення основного компонента
Селективність	X	X	X	X
Межа виявлення			X	
Межа кількісного визначення		X		
Робочий діапазон, включаючи лінійність		X		X
Правильність (зсув)		X		X
Прецизійність (збіжність та проміжна прецизійність)		X		X
Примітка. Таблиця є спрощена та адаптована до структури й термінології, застосованої у цій настанові.				

5.3 Програма та протокол валідації

Валідацію треба виконувати та результати її подавати відповідно до задокументованої процедури.

Вимоги до програми валідації та форми протоколу подано у деяких галузевих керівних документах (див. 5.5). Мінімальні вимоги до документів з валідації можуть встановлювати національні органи з акредитації [23]. Простий шаблон для об'єднаних програми валідації та протоколу валідації може містити, наприклад, такі розділи:

- **Назва.** У цьому розділі зазначають метод, а також, хто і коли виконує цю роботу. Стисло описують метод та сферу його застосування, подають інформацію про статус методу (наприклад, міжнародний стандарт, метод, розроблений у лабораторії тощо), аналіт, вимірювану величину, одиницю виміру, типи проб та мету застосування. Взяття проб та проміжних проб може бути частиною методики вимірювання, і тоді ці операції потрібно валідувати. Навіть якщо ці етапи валідації виконують в іншому місці, інформацію про них доцільно включати до програми/протоколу валідації.
- **Планування.** У цьому розділі зазначають мету, наприклад: повна валідація нового методу, верифікація характеристик стандартного методу, розширення сфери застосування методу тощо. Наводять обсяг робіт з валідації, тобто перелік характеристик, які будуть досліджувати, а також будь-які супутні вимоги.

- **Характеристики.** У цьому розділі дають стисле пояснення характеристик, повторно наводять конкретні вимоги, опис запланованих експериментів та методів оцінювання результатів. Подають результати та висновки за результатами експериментів. Кожну характеристику описують в окремому пункті.
- **Висновки.** Останній розділ повинен містити підсумок валідаційного дослідження та його результатів. Можуть бути подані висновки щодо регулярного застосування методу та внутрішнього і зовнішнього контролювання якості. І що найважливіше, тут повинен бути заключний висновок щодо придатності методу для конкретного застосування. Відзначимо, що така вимога є в ISO/IEC 17025 [1].

5.4 Засоби валідації

5.4.1 Холості зразки

За допомогою різних типів холостих зразків можна оцінити, яка частина вимірюваного сигналу зумовлена наявністю аналіту, а яка – іншими причинами. Є різні типи холостих зразків:

- **холості реактиви*** : реактиви, необхідні у процесі аналізування (у т.ч. розчинники, які застосовують для екстрагування або розчинення), аналізують, щоби визначити, чи дають вони внесок у вимірювальний сигнал.
- **холості проби:** по суті, це матриці проби, у яких відсутній аналіт, наприклад, проба сечі людини, що не містить певного виду наркотиків, або проба м'яса без залишкових гормонів. Холості проби іноді важко отримати, але такі матеріали необхідні, щоби правильно оцінити можливий вплив матриці на результати аналізування проб.

5.4.2 Рутинні проби

Рутинні (звичайні) проби корисні тим, що дають змогу отримати значення характеристик прецизійності, впливу матриці тощо, які можна реально очікувати під час регулярного застосування методу. Якщо вміст аналіту у досліджуваному матеріалі точно відомий, його можна використати для оцінювання зсуву результатів. Точну оцінку вмісту аналіту можна отримати за допомогою референтного методу, хоча такі методи не завжди наявні.

* Холостий реактив, який відбирають протягом усього циклу вимірювання згідно з аналітичною методикою, іноді називають "холостим зразком методики" ("procedural blank")

5.4.3 Матеріали/розчини з добавками

Це матеріали або розчини, до яких навмисно додають визначуваний аналіт (аналіти). Ці матеріали та розчини можуть уже містити визначуваний аналіт, тому треба звертати увагу на те, щоб після внесення добавки вміст аналіту не виходив за межі робочого діапазону методу. Додавання відомої кількості аналіту дає змогу виміряти відповідне збільшення вихідного сигналу та розрахувати його відношення до доданої кількості, незважаючи на те що абсолютна кількість аналіту до та після внесення добавки не відома. Варто відзначити, що у більшості варіантів методу добавок аналіт вносять таким чином, що він буде пов'язаний з матрицею проби не так сильно, як у реальних зразках. Отже, можна очікувати, що оцінки зсуву, отримані методом добавок, будуть занадто оптимістичні.

Добавкою не обов'язково повинен бути лише визначуваний аналіт. Це можуть бути будь-які компоненти, які додають у пробу для оцінювання їхнього впливу. Наприклад, у пробу можна додавати різну кількість певного компонента, щоб з'ясувати, яка його концентрація негативно позначиться на вимірюванні вмісту аналіту. Очевидно, що природу добавки необхідно зазначати.

5.4.4 Матеріали зі зв'язаними добавками

Це матеріали, для яких визначуваний аналіт є сторонній за своєю природою компонент, але його вводять в об'єм матеріалу у певний момент, який передуює взяттю проби. У цьому разі аналіт буде тісніше пов'язаний з матрицею, ніж коли його вносять як звичайну добавку. Вміст аналіту залежатиме від кількості аналіту, що контактує з матеріалом, швидкості поглинання та виділення його матрицею і будь-яких інших втрат внаслідок обміну речовин, спонтанного розпаду або інших хімічних та фізичних процесів. Користь від проб зі зв'язаними добавками для валідації залежить від того, наскільки точно можна визначити вміст аналіту. Нижче подано приклади застосування зв'язаних добавок.

1. Гербіциди у борошні із зернових, обприсканих гербіцидами під час зростання.
2. Активні інгредієнти у фармацевтичних препаратах, додані у процесі приготування.
3. Порошок яєчного білку (з відомим вмістом білку), доданий перед випіканням у тісто для печива під час дослідження алергенів.

5.4.5 Еталони

Коли ви натрапляєте у текстах англійською мовою на термін "standard" або самі його вживаєте, треба бути уважним, оскільки він може означати як документ – стандарт,

наприклад, стандарт ISO, так і еталон. Коли йдеться про речовини, які використовують для калібрування або ідентифікації, їх краще називати "measurement standards" (еталони) або "calibrants/calibrators" (калібратори) [7]. Зазвичай тут мають на увазі розчини однієї речовини, але практично це може бути будь-який об'єкт, конкретний параметр або властивість якого визначено достатньою мірою, щоб його можна було застосувати як метрологічну основу для порівняння.

Важливо розрізняти стандартні зразки (reference materials, RM) та атестовані стандартні зразки (certified reference materials, CRM) [7, 30], враховуючи суттєву відмінність у можливостях їх застосування у процесі валідації методу (6.5.2). Стандартним зразком може бути практично будь-який зразок, який використовують як основу для порівняння, зокрема, лабораторні реактиви відомої чистоти, промислові реактиви або інші об'єкти. Властивість або вміст аналіту, що нас цікавлять, мають бути стабільні та однорідні, але зразок не обов'язково повинен мати такий високий рівень характеристикації, метрологічної простежуваності, непевності та документації, як атестовані стандартні зразки.

Атестоване значення параметра для атестованого стандартного зразка, як правило, визначають більш строго, ніж для стандартного зразка, і, окрім того, це значення встановлюють із задокументованою метрологічною простежуваністю та непевністю. Зазвичай зразок характеризують за допомогою декількох різних методів або однієї первинної методики вимірювання, щоб, наскільки це можливо, зменшити або навіть усунути будь-який зсув атестованого значення.

Щоб оцінити зсув, потрібна надійна основа для порівняння, бажано, атестований стандартний зразок з тією самою матрицею та концентрацією аналіту, що й у тестових зразках.

5.4.6 Статистика

За допомогою статистичних методів можна узагальнювати дані та виносити об'єктивні судження щодо відмінності між сукупностями даних (перевірка на значущість). Аналітики повинні володіти принаймні основними елементами статистичної теорії, необхідними, зокрема, для оцінювання прецизійності, зсуву, лінійного діапазону, межі виявлення (LOD), межі кількісного визначення (LOQ) та непевності вимірів. Відомості про деякі корисні видання, присвячені застосуванню статистики в аналітичній хімії, подано у розділі "Бібліографія" [5, 6, 31, 32, 33, 34].

5.5 Вимоги до валідації

Вимоги до того, як треба виконувати валідацію методу, можуть бути викладені у настанові для конкретних секторів, де застосовують певний метод [наприклад, 13, 25, 35]. Якщо такі вимоги є, бажано їх дотримуватися. Це гарантуватиме упевненість у тому, що спеціальну термінологію, яка стосується валідації, а також застосовані статистичні методи ви інтерпретує так, як це прийнято у відповідному секторі. Можливо, для офіційного визнання методу треба буде визначити його характеристики шляхом спільного дослідження.

5.6 Процес валідації методу

Отримавши конкретне завдання від замовника, лабораторія повинна спочатку встановити аналітичні вимоги, тобто визначити, які характеристики повинен мати метод, щоби можна було виконати це завдання (рис. 1).

Виходячи з цих вимог, лабораторія повинна вибрати відповідний наявний метод або, за потреби, розробити/модифікувати метод. Відзначимо, що деякі керівні документи можуть містити вимогу щодо застосування конкретного методу. У таблиці 4 показано питання, які можуть бути поставлені під час формулювання аналітичних вимог (стовпчик 1), та відповідні характеристики методу, які, ймовірно, треба буде визначити (стовпчик 2). Далі лабораторія вибере потрібні характеристики, визначить їх та зіставить з аналітичними вимогами. Процес валідації закінчується висновком про відповідність або невідповідність аналітичним вимогам. Якщо аналітичних вимог не дотримано, потрібно продовжити роботу над методом. Цей процес розроблення та оцінювання триває доти, поки метод не буде визнано таким, що відповідає поставленим вимогам.

Насправді аналітичні вимоги рідко погоджують із замовником заздалегідь у такий формальний спосіб. Зазвичай замовники мають свої вимоги щодо витрат коштів та/або часу, і дуже рідко вони знають, які мають бути характеристики методів, хоча вимоги до характеристик можуть бути відомі, коли методи застосовують для встановлення відповідності регуляторним вимогам або технічним умовам. Наприклад, Європейський Союз опублікував вимоги до аналізування питної води [36], аналізування згідно з водною рамковою директивою [37], визначання рівня залишків ветеринарних препаратів у харчових продуктах тваринного походження [38] та залишків пестицидів у продуктах харчування та кормах [39].

Усе ж таки, як правило, рішення про те, які мають бути характеристики методу, повинен приймати сам аналітик. Дуже часто у таких ситуаціях аналітичні вимоги встановлюють відповідно до вже відомих характеристик методу (наприклад, поданих у

стандартних методах або отриманих під час перевіряння кваліфікації чи оцінених за допомогою математичних моделей, таких як функція Горвіца [40]).

Може трапитися так, що через фінансові обмеження розробляти метод, який задовольнятиме певним аналітичним вимогам, буде економічно недоцільно, і тоді треба або знизити вимоги до досяжного рівня, або переглянути підстави для проведення досліджень.

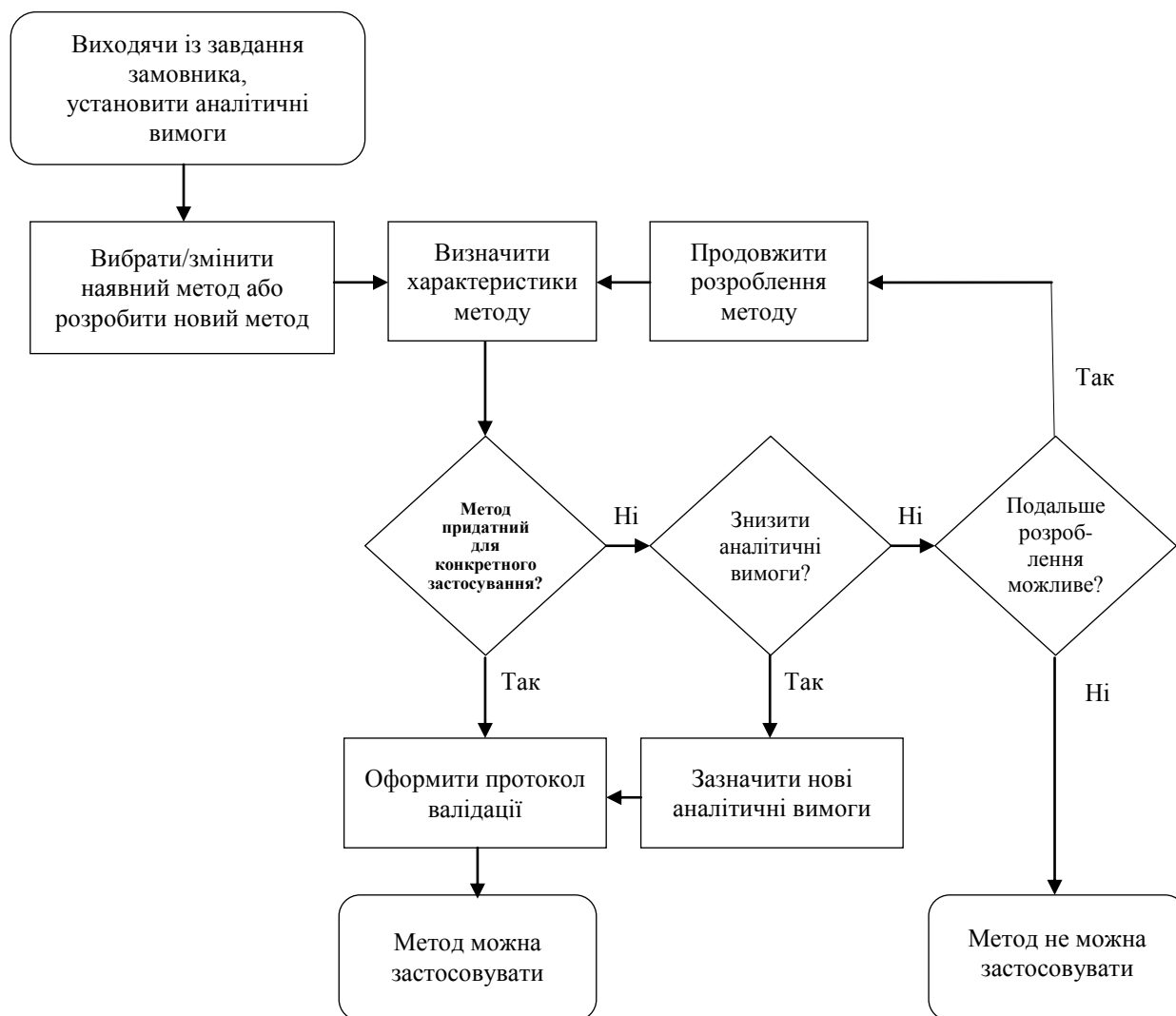


Рис. 1. Процес валідації методу: від завдання, поставленого замовником, до рішення лабораторії про те, чи можливо задовольнити запит замовника за допомогою певного методу. Примітка: валідація методу включає етап, на якому оцінюють характеристики і далі порівнюють їх з аналітичними вимогами. Незалежно від уже наявних, імовірно, даних щодо характеристик методу, його придатність до застосування визначатиметься тим, які характеристики отримує конкретний аналітик на наявних приладах/обладнанні.

Таблиця 4. Питання, які можуть бути поставлені під час формулювання аналітичних вимог, визначувані характеристики та посилання на відповідні розділи цієї настанови

Питання	Характеристика	Розділ	Примітка
Чи є ресурсні обмеження і які саме (персонал, час, гроші, прилади та реактиви, лабораторне обладнання)?	-	-	а)
Чи потрібне взяття проб та проміжних проб (і чи це робитимуть у лабораторії)?			
Чи є обмеження на розмір/наявність проб?			
Яка хімічна, біологічна та фізична природа матриці?			
Аналіт розсіяний чи локалізований?			
Потрібна відповідь якісна чи кількісна?	Селективність LOD та LOQ	6.1 6.2	
Які аналіти потрібно визначати та який імовірний рівень їхнього вмісту (% , мкг/г, нг/г тощо)? Чи присутні аналіти у більш ніж одній хімічній формі (наприклад, різні ступені окислення, стереоізомери) та чи потрібно розрізняти ці форми?	Селективність LOD та LOQ Робочий та лінійний діапазони	6.1 6.2 6.3	
Яку величину треба вимірювати (що є "вимірювана величина")? Це "повна" концентрація наявного аналіту чи його "вилучена кількість" за певних умов?	Ступінь вилучення	6.5	
Які потрібні правильність та прецизійність? Яка цільова непевність і як її треба виражати?	Правильність та ступінь вилучення Збіжність, проміжна прецизійність, відтворюваність Непевність	6.5 6.6 6.7	б)
Які можливі завади для аналіту(-ів)?	Селективність	6.1	
Чи встановлено граничні значення для усіх параметрів, важливих для аналізування (наприклад, час екстрагування, температура інкубації)?	Стіійкість	6.8	в)
Чи потрібно порівнювати результати з результатами інших лабораторій?	Непевність	6.7	б)
Чи потрібно порівнювати результати із зовнішніми вимогами?	Непевність	6.7	б)
<p>а) Деякі елементи аналітичних вимог безпосередньо не пов'язані з вимогами валідації методу, але вони у більш загальному плані впливають на можливість застосування конкретних методів. Наприклад, різні методи будуть застосовні залежно від розподілу аналіту – розсіяний він в об'ємі проби чи зосереджений на поверхні.</p> <p>б) Істотним елементом аналітичних вимог є можливість судити про придатність методу для даного конкретного застосування, отже вони повинні містити допустиму непевність, виражену як стандартна непевність чи як розширена непевність.</p> <p>в) Зазвичай стійкість опублікованих стандартних методик у межах їхньої сфери застосування, тобто для певних типів матриці та робочого діапазону, є підтверджена. У зв'язку з цим верифікація під час впровадження у лабораторії опублікованої стандартної методики, як правило, не включає перевірку стійкості.</p>			

6. Характеристики методу

6.1 Селективність

6.1.1 Терміни та визначення

Аналітичну селективність визначають як "ступінь, до якого метод можна застосовувати для визначання конкретних аналітів у сумішах або матрицях без завад з боку інших компонентів з аналогічними властивостями" [41].

Визначення у різних документах [7, 18, 42] загалом узгоджуються з такою інтерпретацією. Хоча IUPAC рекомендує вживати термін "селективність", у деяких галузях, наприклад, у фармацевтиці [13], використовують терміни "специфічність" або "аналітична специфічність". Останній рекомендують вживати для того, щоб уникнути плутанини з терміном "діагностична специфічність" з галузі лабораторної медицини [43].

6.1.2 Вплив завад

Загалом, можна сказати, що аналітичні методи складаються з етапу вимірювання та, за необхідності, попереднього етапу відокремлення аналіту. На етапі вимірювання, як правило, не вимірюють безпосередньо концентрацію аналіту, а кількісно визначають певну пов'язану з нею величину (наприклад, інтенсивність світла). Таким чином, дуже важливо встановити, що вимірне значення величини зумовлене лише наявністю аналіту, а не якогось іншого компонента з подібними хімічними або фізичними властивостями, і не виникає випадково, тим самим спричинюючи зсув результату вимірення. Для поліпшення селективності виміральної системи може знадобитися етап відокремлення аналіту, що передує етапу вимірювання.

Завади можуть спричиняти зсув, збільшуючи або зменшуючи сигнал, який відносять до вимірюваної величини. Ступінь впливу для конкретної матриці зазвичай пропорційна сигналу, і тому такий вплив іноді називають "пропорційним". Він змінює кут нахилу калібрувальної функції, але не її вільний член. Цей вплив також називають "обертальним" [44].

"Поступальний" або "фіксований" вплив зумовлений сигналом від завад, присутніх у тестовому розчині. Він, таким чином, не залежить від концентрації аналіту. Його часто називають "фоновою завадою" або "завадою базової лінії". Цей вплив змінює вільний член калібрувальної функції, але не кут її нахилу.

У багатьох випадках пропорційні та поступальні впливи можуть бути присутні одночасно. Методом стандартних добавок можна коригувати тільки пропорційні впливи.

6.1.3 Оцінювання селективності

Селективність необхідно установлювати для методів, самостійно розроблених у лабораторії або адаптованих з наукової літератури, а також методів, опублікованих органами зі стандартизації у разі їх застосування поза сферою, зазначеною у стандарті на метод. Якщо метод, опублікований органом зі стандартизації, застосовують у межах сфери, зазначеної у стандарті, то для такого варіанту його селективність, як правило, уже було досліджено у процесі стандартизації.

Селективність методу зазвичай досліджують шляхом вивчення його здатності вимірювати вміст заданого аналіту в пробах, до яких спеціально було введено певні речовини-завади (що ймовірно можуть бути присутні у пробах). Якщо не ясно, присутні завади чи ні, селективність методу можна досліджувати, визначаючи його здатність вимірювати вміст аналіту порівняно з іншими незалежними методами. Нижче у прикладах 1 та 2, а також у "Стислій довідці 1" розглянуто практичні аспекти оцінювання селективності.

Перевірити правильність ідентифікації компонентів можна через підтвердження іншими методами. Чим більше буде доказів, тим краще. Тут, звичайно, завжди треба знаходити компроміс між витратами коштів і часу, потрібними для ідентифікації аналіту, та упевненістю в тому, що ідентифікацію зробили правильно.

Щоб оцінити збіжність, виконують декілька повторних вимірень за допомогою одного методу, тоді як для підтвердження ідентифікації аналіту треба провести дослідження декількома, бажано незалежними, методами. Підтвердження підвищує рівень довіри до досліджуваного методу, і воно особливо корисне тоді, коли методи, застосовані для підтвердження, ґрунтуються на суттєво відмінних принципах. Для деяких завдань, наприклад, аналізування органічних проб невідомого складу методом газової хроматографії, застосування підтверджувальних методів є дуже важливе. Якщо оцінюваний метод вимірювання є високо селективний, то підтвердження іншими методами можна не робити.

Важливим аспектом селективності, на який необхідно зважати, є можливість існування аналіту в пробі більш ніж в одній формі, наприклад, зв'язаній або незв'язаній; неорганічній або металоорганічній; з різним ступенем окислення. Отже, щоб уникнути непорозуміння, дуже важливо визначити, що саме є вимірювана величина для даного методу.

Приклад 1. Хроматографія

Пік на хроматограмі може бути ідентифіковано як такий, що відповідає певному аналіту, на тій підставі, що стандартний зразок, який містить цей аналіт, спричинює сигнал у тій самій точці хроматограми. Проте невідомо, зумовлений цей сигнал даним аналітом чи якоюсь іншою речовиною, елюйованою одночасно, тобто чи немає тут "фіксованого" впливу? Можлива є одна з цих причин або обидві одночасно. Ідентифікація аналіту лише цим способом не є достовірна, і потрібне якесь додаткове підтвердження. Наприклад, можна повторити хроматографічний аналіз із застосуванням колонки іншої полярності, з іншим принципом розділення, і подивитися, чи з'являтимуться знову сигнали від проби та від стандартного зразка у той самий час. Якщо пік зумовлений більш ніж одним компонентом, то колонка іншої полярності може бути хорошим засобом розділення компонентів. У багатьох випадках високу селективність можуть забезпечити сучасні мас-спектрометричні прилади, наприклад, газові або рідинні хроматографи з мас-спектрометричним детектором.

Приклад 2. Спектроскопія

У інфрачервоній спектроскопії ідентифікацію невідомих сполук можна робити шляхом зіставлення сигналів оптичного поглинання (тобто "піків") у спектрі аналіту з піками еталонного спектру, занесеного до бібліотеки у пам'яті спектрометра. Після того як сполуку ідентифікували, треба записати спектр стандартного зразка аналіту точно за тих самих умов, що й спектр проби. Чим більше піків у аналіту та стандартного зразка збігаються, тим вище ймовірність правильної ідентифікації. Також варто було б дослідити, наскільки форма спектру залежить від способу відокремлення аналіту та підготовки до аналізування на інфрачервоному спектрометрі. Наприклад, якщо спектр записано за допомогою сольового диска, то розподіл за розміром часток тестової порції у диску може вплинути на форму спектру.

Стисла довідка 1. Селективність

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
Проаналізувати проби та стандартні зразки досліджуваним методом та іншими незалежними методами.	1	Виходячи з результатів підтвердження за допомогою інших методів, визначити здатність методу ідентифікувати аналіт та вимірювати його вміст за відсутності завад.	Вирішити, яка кількість додаткових доказів буде достатня для досягнення потрібної достовірності.
Проаналізувати проби, що містять різні можливі завади за наявності визначуваних аналітів.	1	Вивчити вплив завад. Чи перешкоджають завади виявленню або вимірюванню вмісту аналіту?	Якщо завади перешкоджають виявленню або вимірюванню вмісту аналіту, треба доопрацювати метод.

6.2 Межа виявлення та межа кількісного визначення

6.2.1 Терміни та визначення

Є три загальні поняття, важливі для вимірювання у діапазоні низьких концентрацій. По-перше, буває потрібно встановити значення результату аналізування, за отримання якого відмінність вмісту аналіту від нуля вважатимуть значущою. Досягнення цього рівня часто тягне за собою певну дію, наприклад, визнання матеріалу забрудненим. Цей рівень називають "критичним значенням", "межею ухвалення рішення" або, у директивах ЄС, СС α [38].

По-друге, важливо знати найнижчу концентрацію аналіту, яку можна виявити із заданим довірчим рівнем за допомогою методу. Тобто, за якої істинної концентрації з високою ймовірністю буде перевищено критичне значення, описане вище? Для цього поняття використовують такі терміни, як "межа виявлення" (LOD), "мінімальне виявлюване значення" або, у директивах ЄС, СС β [38].

По-третє, важливо також встановити найнижчий рівень, за якого значення характеристик є прийнятні для типового застосування. Цей рівень зазвичай називають "межа кількісного визначення" (LOQ)*.

Термінологія, що стосується усіх цих понять, дуже різноманітна та у різних секторах різна. Наприклад, термін "межа виявлення" (LOD або DL) раніше не був загальноприйнятий, хоча його й використовували у деяких секторальних документах [13, 38]. Тепер, однак, його включено до VIM [7] та IUPAC GoldBook [17]. ISO використовує загальний термін "найменше виявлюване значення чистої змінної стану", яке стосовно хімічного аналізу звучить як "найменша виявлювана чиста концентрація" [45, 46, 47, 48]. У цій настанові три описані вище поняття ми позначаємо термінами "критичне значення", "межа виявлення" (LOD) та "межа кількісного визначення" (LOQ). Під час валідації методу найчастіше визначають LOD та LOQ.

Також треба розрізнити межу виявлення приладу і межу виявлення методу. Межу виявлення приладу можна визначити за результатами аналізування проби, часто холостого реактиву, яку вводять безпосередньо у прилад (тобто виключаючи усі стадії підготування проби), або за відношенням сигнал/шум, наприклад, на хроматограмі. Межу виявлення методу (LOD) треба визначати за даними аналізування проб, які було піддано усім операціям методики вимірювання, з використанням результатів, обчислених за тими самими рівняннями, які застосовують для рутинних проб. Межа виявлення методу є найважливіша

* Використовують також синоніми "межа визначення", "межа подання даних" та "межа застосування".

для валідації методу характеристика, і тому саме їй приділено найбільшу увагу у цій настанові.

У наступних розділах дано рекомендації щодо експериментального оцінювання LOD та LOQ. Статистичне обґрунтування розрахунку LOD подано у Додатку Б. Оскільки і LOD, і LOQ залежать від прецизійності у нульовій точці або поблизу неї, спочатку у розділі 6.2.2 буде описано, як експериментально оцінюють стандартний відхил результатів поблизу нуля.

6.2.2 Визначання стандартного відхилу на низьких рівнях концентрації

Як правило, LOD та LOQ обчислюють шляхом помноження стандартного відхилу (s'_0) на відповідний коефіцієнт. Важливо, щоб цей стандартний відхил відображав прецизійність під час аналізування типових тестових проб і щоб число повторних вимірень було достатнім для отримання надійної оцінки. У цьому розділі показано, як стандартний відхил s'_0 обчислюють через стандартний відхил s_0 для одиничних результатів поблизу нуля з урахуванням усереднення та введення поправок на холосту пробу, які застосовують на практиці (див. нижче). Альтернативні підходи розглянуто у розділі 6.2.5.

Визначаючи LOD та LOQ у експериментах з простим повторенням, треба брати до уваги такі моменти.

Проби для оцінювання LOD та LOQ. Бажано використовувати або а) холості проби, тобто матриці, що не містять визначуваній аналіт, або б) тестові проби з концентрацією аналіту, близькою до очікуваної LOD або нижче неї. Холості проби більш придатні для методів, де на цих пробах отримують сигнал, який можна добре виміряти, наприклад, для спектрофотометрії та атомної спектроскопії. Проте для таких методів, як хроматографія, яка ґрунтується на виявленні піку понад рівнем шуму, потрібні проби з концентрацією, близькою до LOD або вищою за неї. Їх можна приготувати, наприклад, вводючи добавки у холосту пробу (див. розділ 5.4).

Якщо холостих проб або тестових проб з низькою концентрацією немає, часто використовують холості реактиви*. Коли ці реактиви не піддають усі операціям методики вимірювання, а вводять безпосередньо у прилад, за результатами цих дослідів отримують LOQ/LOD приладу.

* Є розбіжності у термінології, що стосується холостих проб (детальніше див. розділ 5.4.1).

Охоплення сфери застосування методу. Якщо сфера застосування методу охоплює суттєво відмінні матриці, ймовірно, буде потрібно визначити стандартний відхил окремо для кожної матриці.

Забезпечення репрезентативності повторних вимірів. Стандартний відхил повинен відображати характеристики методу під час його застосування у лабораторії, тобто стандартний відхил треба обчислювати за результатами аналізувань, виконаних у повній відповідності з документом на методику вимірювання у цілому, включно з усіма етапами підготування проби. Значення величини, за якими обчислюють s_0 , мають бути виражені в одиницях, передбачених методикою.

Умови вимірювання. Стандартний відхил, як правило, визначають за умов збіжності, і саме таку процедуру описано у цьому розділі. Проте надійнішою буде оцінка, отримана за умов проміжної прецизійності. Цей підхід розглянуто далі у розділі 6.2.5.

Кількість спостережень. Число повторень (m) має бути достатнє для отримання адекватної оцінки стандартного відхилення. Як правило, вважають за необхідне зробити від 6 до 15 спостережень; у методиках/програмах валідації часто рекомендують робити 10 повторень (див. розділ 6.2.5.1).

Урахування усереднення. У багатьох методиках вимірювання передбачено, що виміряне значення отримують як середнє з результатів повторних вимірень, причому під час кожного з повторень виконують усі операції методики вимірювання. Тоді стандартний відхил одиничних результатів s_0 треба відкоригувати шляхом ділення на квадратний корінь з n , де n – кількість усереднених повторних результатів, зазначена у методиці.

Урахування поправок на холосту пробу. Якщо методика вимірювання передбачає введення поправки на холосту пробу, то треба це враховувати, визначаючи стандартний відхил, за яким обчислюють LOD та LOQ. Якщо в усі результати, отримані під час валідаційного дослідження, вводять одну й ту саму поправку на холосту пробу (такий підхід рекомендовано тут для спрощення), тоді стандартний відхил результатів буде меншим за той, що отримують на практиці, коли у результати вводять різні поправки, отримані під час різних повторень. У цьому разі s_0 треба відкоригувати, помноживши на $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$, де n – кількість усереднених результатів повторних спостережень, під час кожного з яких виконують усі операції методики вимірювання, а n_b – кількість спостережень з холостими пробами, за результатами яких обчислюють поправку.

Слід зазначити, що за умов проміжної прецизійності у результати буде введено різні поправки на холосту пробу, тому коригувати стандартний відхил не потрібно (див. розділ 6.2.5).

Варіанти розрахунку подано у прикладі 3, а блок-схема на рис. 2 показує алгоритм того, як треба враховувати усереднення та введення поправки на холосту пробу.

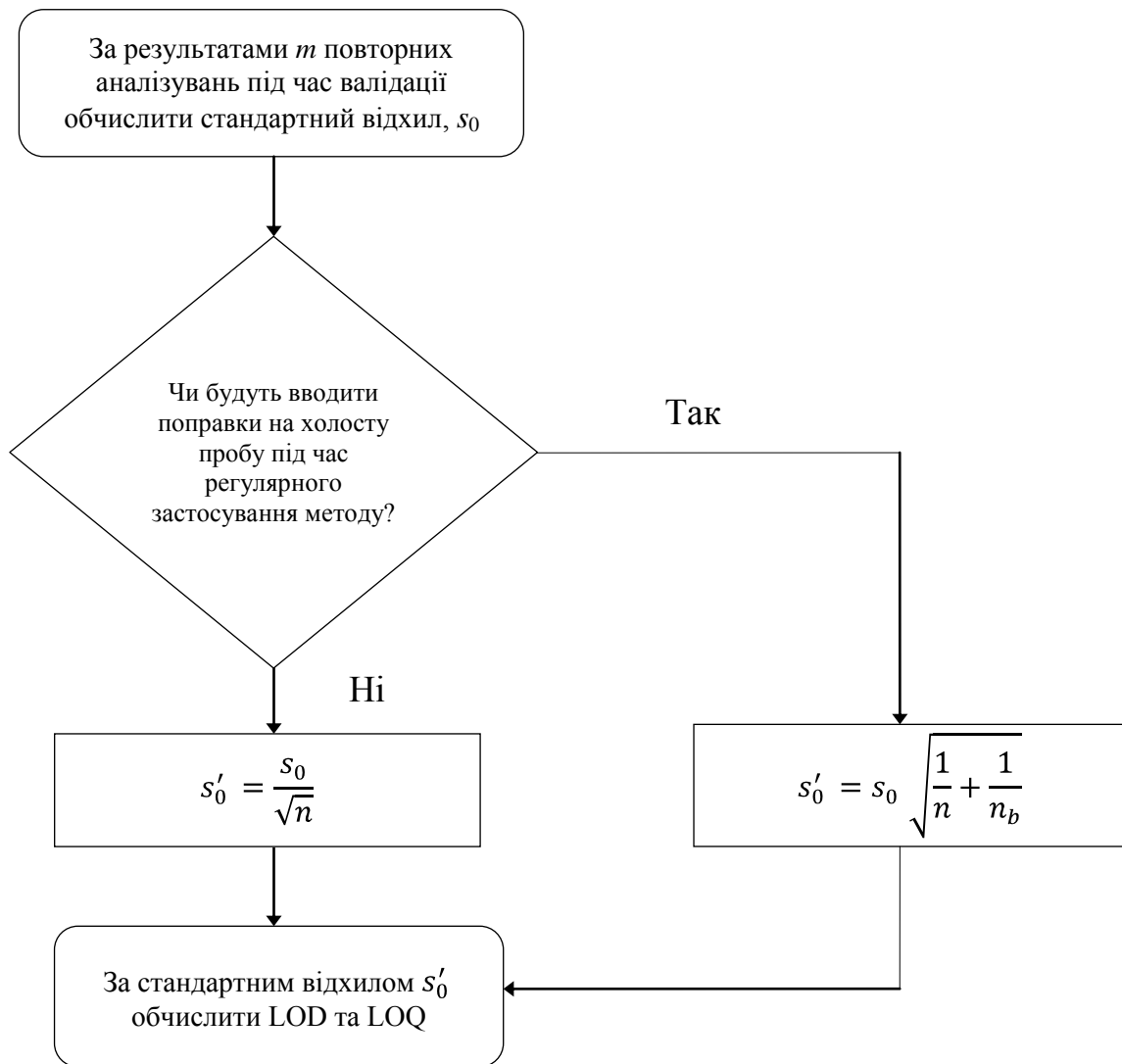
Приклад 3. Валідаційне дослідження виконують шляхом аналізування холостої проби. За умов збіжності виконують десять (m) незалежних аналізувань холостої проби. Отримане середнє вимірне значення дорівнює 2 мг/кг, стандартний відхил $s_0 = 1$ мг/кг.

Варіант 1. Методика вимірювання передбачає, що проби аналізують один раз ($n = 1$), а поправку вводять за результатом аналізування однієї холостої проби ($n_b = 1$). У серії спостережень кожен дослід складається з одиничного аналізування тестової проби та одиничного (n_b) аналізування холостої проби. Тоді, згідно з рис. 2, стандартний відхил, за яким обчислюють LOD/LOQ, дорівнює:

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{1}} = 1\sqrt{2} = 1,4 \frac{\text{мг}}{\text{кг}}$$

Варіант 2. Методика вимірювання передбачає, що тестові проби аналізують двічі ($n = 2$) і також двічі аналізують холосту пробу. У серії вимірень кожен дослід складається з дворазового аналізування ($n = 2$) тестових проб та дворазового аналізування ($n_b = 2$) холостих проб. Концентрацію, отриману для звичайних проб, коригують шляхом віднімання середнього значення для двох холостих проб. Тоді, згідно з рис. 2, стандартний відхил, за яким обчислюють LOD/LOQ, дорівнює:

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} = 1 \frac{\text{мг}}{\text{кг}}$$



s_0 – стандартний відхил m одиничних результатів у нульовій точці або поблизу неї;

s'_0 – стандартний відхил, за яким обчислюють LOD та LOQ;

n – кількість усереднених результатів повторних спостережень, під час кожного з яких виконують усі операції методики вимірювання;

n_b – кількість усереднених результатів спостережень з холостими пробами, за якими обчислюють поправку на холосту пробу згідно з методикою вимірювання.

Рис. 2. Обчислення стандартного відхилу s'_0 , за яким оцінюють LOD та LOQ. Блок-схема розпочинається з експериментального стандартного відхилу, s_0 , розрахованого за результатами повторних вимірень за умов збіжності для проби з концентрацією, близькою до нуля, з введенням або без введення поправки на холосту пробу, яку застосовують до усіх результатів згідно з методикою. Цю поправку можна отримувати з одного дослід з холостою пробую або як середнє значення з результатів декількох дослідів з холостою пробую.

6.2.3 Оцінювання LOD

Зазвичай під час валідації достатньо отримати наближене значення LOD, тобто рівня, на якому виявлення аналіту стає проблематичним. Для цього можна, як правило, скористатися "правилом 3s", описаним у "Стислій довідці 2".

Якщо метод застосовують для оцінювання відповідності нормативним або технічним вимогам, потрібний більш строгий підхід, зокрема, треба враховувати число ступенів свободи, пов'язане з s_0 . Детально це описано у документі IUPAC [49] та інших джерелах [50, 51]. Якщо критичне значення та/або LOD використовують для прийняття рішень, тоді потрібно постійно контролювати прецизійність та, за необхідності, перераховувати ці межі. У різних секторах та/або нормативних документах можуть застосовувати різні підходи до оцінювання LOD. Наводячи межу виявлення, бажано зазначати правила, за якими її було визначено. За відсутності будь-яких секторальних настанов з оцінювання LOD, можна скористатися загальними підходами, поданими у "Стислій довідці 2".

Стисла довідка 2. Межа виявлення (LOD)

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
а) Багаторазове аналізування холостих проб, тобто матриць, що не містять визначуваного аналіту чи багаторазове аналізування тестових проб з низькою концентрацією аналіту.	10	Обчислити стандартний відхил результатів s_0 . За s_0 обчислити s_0' згідно з блок-схемою на рис. 2. Обчислити LOD за формулою $LOD = 3 \times s_0'$.	
б) Багаторазове аналізування холостих реактивів чи багаторазове аналізування холостих реактивів з низькою концентрацією доданого аналіту.	10	Обчислити стандартний відхил результатів s_0 . За s_0 обчислити s_0' згідно з блок-схемою на рис. 2. Обчислити LOD за формулою $LOD = 3 \times s_0'$.	Підхід б) прийнятний, коли неможливо отримати холості проби або тестові проби з низькою концентрацією аналіту. Якщо ці холості реактиви не піддають усім операціям методики вимірювання та вводять їх безпосередньо у прилад, тоді розрахунок дасть LOD приладу.
Примітки: 1) Для деяких аналітичних методів, наприклад, хроматографії, у тестову пробу із надто низькою концентрацією аналіту або у холостий реактив треба буде, можливо, вводити добавку, щоб отримати ненульовий стандартний відхил. 2) Під час кожного визначення треба виконати усі операції методики вимірювання. 3) Стандартний відхил виражають в одиницях концентрації. Якщо стандартний відхил виражено в одиницях сигналу, LOD є концентрація, що відповідає сигналу на холостій пробі $y_B + 3 \times s_0'$. Короткий приклад розрахунку LOD через сигнал подано також у [5].			

6.2.4 Оцінювання LOQ

LOQ є найнижчий рівень вмісту аналіту, який можна визначити з прийнятними показниками точності. У різних настановах зазначають як критерії прийнятності різні характеристики, наприклад прецизійність, правильність та прецизійність, непевність виміру [52]. На практиці, однак, LOQ зазвичай обчислюють як концентрацію аналіту, що дорівнює отриманому стандартному відхилу (s_0') на низьких рівнях концентрації, помноженому на певний коефіцієнт, k_Q . У Рекомендаціях IUPAC [49] прийнято значення за умовчанням $k_Q = 10$, і якщо стандартний відхил є приблизно постійний на низьких концентраціях, цей множник відповідає відносному стандартному відхилу (RSD), що дорівнює 10 %. Також іноді застосовують множники 5 чи 6, тоді значення RSD становлять 20 % та 17 %, відповідно [53, 54]. Далі див. [8] та "Стислу довідку 3".

Стисла довідка 3. Межа кількісного визначення (LOQ)

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
а) Багаторазове аналізування холостих проб, тобто матриць, що не містять визначуваного аналіту чи багаторазове аналізування тестових проб з низькою концентрацією аналіту.	10	Обчислити стандартний відхил результатів s_0 . За s_0 обчислити s_0' згідно з блок-схемою на рис. 2. Обчислити LOQ за формулою $LOQ = k_Q \times s_0'$.	Множник k_Q зазвичай дорівнює 10, але часто застосовують також інші значення, наприклад, 5 чи 6 (виходячи з критерію "придатності для конкретного застосування")
б) Багаторазове аналізування холостих реактивів чи багаторазове аналізування холостих реактивів з низькою концентрацією доданого аналіту.	10	Обчислити стандартний відхил результатів s_0 . За s_0 обчислити s_0' згідно з блок-схемою на рис. 2. Обчислити LOQ за формулою $LOQ = k_Q \times s_0'$.	Підхід б) прийнятний, коли неможливо отримати холості проби або тестові проби з низькою концентрацією аналіту. Якщо ці холості реактиви не піддають усім операціям методики вимірювання та вводять їх безпосередньо у прилад, тоді розрахунок дасть LOQ приладу.
Примітки:			
<ol style="list-style-type: none"> 1) Для деяких аналітичних методів, наприклад, хроматографії, у тестову пробу із надто низькою концентрацією аналіту або у холостий реактив треба буде, можливо, вводити добавку, щоб отримати ненульовий стандартний відхил. 2) Під час кожного визначення треба виконати усі операції методики вимірювання. 3) Стандартний відхил виражають в одиницях концентрації. 			

6.2.5 Альтернативні методики

У попередніх розділах описано загальний підхід до оцінювання LOD та LOQ за стандартним відхилом результатів для концентрації, близької до нуля, отриманих за умов збіжності. Такий підхід є найбільш поширений, але у стандартах та програмах валідації наводять також інші методики.

Інколи, скажімо, коли результати для холостих проб від разу до разу істотно змінюються, визначення виконують за умов проміжної прецизійності, а не збіжності. Наприклад, якщо ви маєте результати контролювання якості для проб з низьким рівнем концентрації, то оцінити LOD та LOQ можна через стандартний відхил цих результатів. Коли для обчислення LOD та LOQ застосовують стандартний відхил, отриманий за умов проміжної прецизійності, не потрібно робити показане на рис. 2 коригування, що враховує введення поправки на холосту пробу. Отже, експериментальний стандартний відхил, отриманий за даними внутрішнього контролю якості, буде дорівнювати стандартному відхилу s_0' , за яким обчислюють LOD та LOQ. У ISO 11843-2 [46] описано, як можна визначити LOD приладу безпосередньо за калібрувальною кривою.

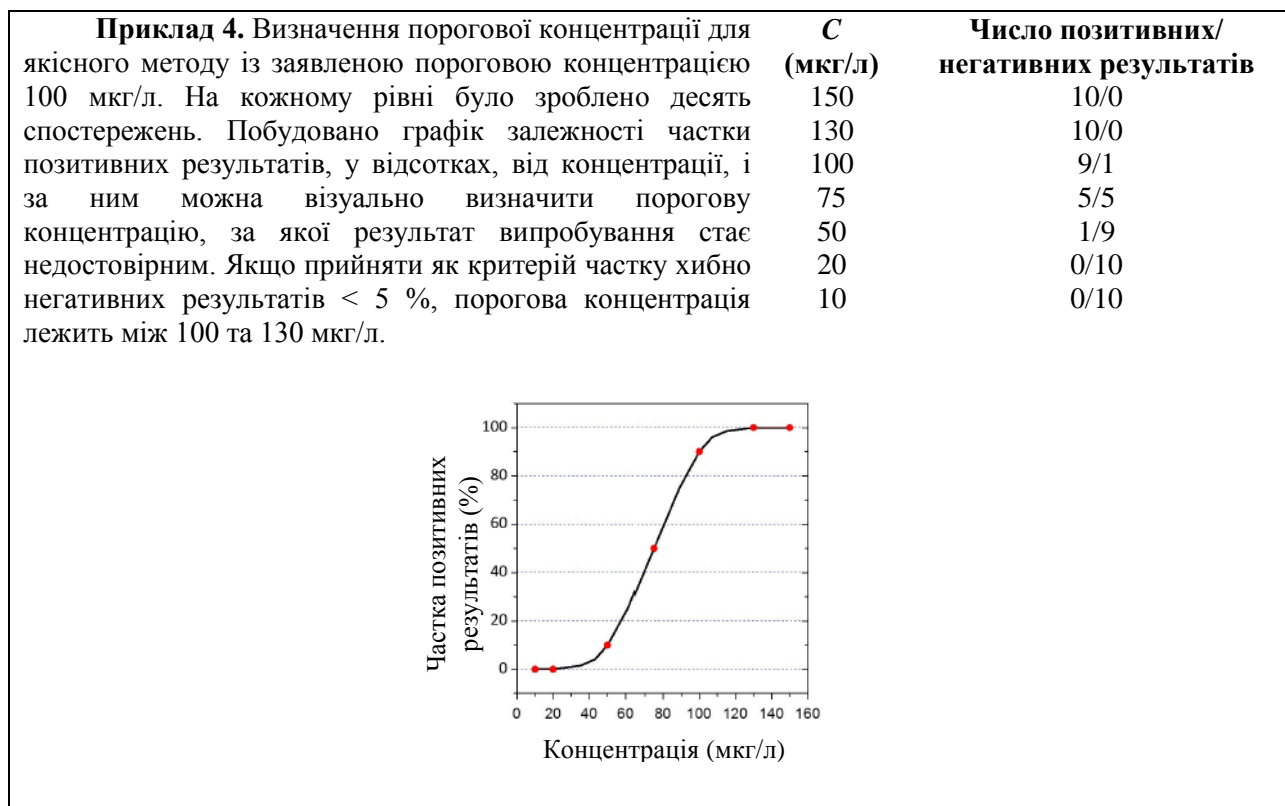
6.2.5.1 Достовірність оцінок LOD та LOQ

Слід зазначити, що навіть за 10 повторень, зазначених у "Стислій довідці 2" та "Стислій довідці 3", оцінки стандартного відхилу є за своєю сутністю непостійні. Таким чином, оцінку LOD/LOQ, отриману під час валідації, треба сприймати як орієнтовне значення. Цього буде достатньо, якщо оцінка LOD/LOQ потрібна просто для того, щоб показати, що концентрація аналіту в пробах значно перевищує LOD/LOQ. Якщо можна очікувати, що концентрація аналіту у лабораторних пробах буде низька, LOD/LOQ треба регулярно контролювати.

6.2.6 Здатність до виявлення для якісного аналізу

Завданням якісного аналізу (Додаток D) є ідентифікація або класифікація речовин, і по суті він дає відповідь "так/ні" на запитання про перевищення заданої порогової концентрації аналіту [55]. Для якісних методів прецизійність не можна подати як стандартний відхил або відносний стандартний відхил, але можна виразити через частку істинно та хибно позитивних і негативних результатів. Під час валідаційного дослідження порогову концентрацію можна визначити шляхом встановлення частки хибно позитивних та хибно негативних результатів на декількох рівнях нижче та вище очікуваної порогової концентрації. Пороговим рівнем вважають таку концентрацію, за перевищення якої частка

хибно негативних результатів є невелика – відповідно до заданої ймовірності, наприклад, 5 %. Під час валідації оцінюють пороговий рівень, заявлений у документі на методику (див. приклад 4 та "Стислу довідку 4").



Стисла довідка 4. Межа виявлення (LOD) для якісного аналізу

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними
Проаналізувати у випадковому порядку холості проби з добавками аналіту на різних рівнях концентрації.	10	Побудувати графік залежності частки позитивних або негативних результатів, у відсотках, від концентрації, і за графіком візуально визначити порогову концентрацію, за якої результат випробування стає недостовірним.

6.3 Робочий діапазон

6.3.1 Визначення

"Робочий діапазон"* – це інтервал, у межах якого метод забезпечує результати з прийнятною непевністю. Робочий діапазон обмежений знизу межею кількісного визначення LOQ. Верхня межа робочого діапазону визначається концентрацією, за якої мають місце

* Термін у VIM [7] – "інтервал вимірювання" або "робочий інтервал"

значні аномалії аналітичної чутливості. Наприклад, це може бути ефект плато за високих значень оптичної густини в UV/VIS спектроскопії.

6.3.2 Загальні зауваги щодо перевірки діапазону під час валідації

Робочий діапазон методу, що підлягає валідації, має бути зазначено у документі на метод (див. А.5 у Додатку А). Під час валідації потрібно підтвердити, що метод можна застосовувати у цьому діапазоні. Щоб оцінити робочий діапазон, лабораторія повинна розглянути як лінійність методу, так і запропоновану процедуру калібрування, викладену в методиці.

6.3.3 Робочий діапазон методу і приладу

Багато методів передбачають, що проби, отримані лабораторією (лабораторні проби), обробляють (піддають дигестії, екстрагуванню, розбавленню) і після цього подають на вимірвальний прилад та знімають його покази. У таких ситуаціях є два робочі діапазони. Робочий діапазон методу, зазначений у його сфері застосування (див., наприклад, розділ А.5 у Додатку А), відноситься до концентрації аналіту в лабораторній пробі. Для твердої проби, зокрема, він може бути виражений у міліграмах на кілограм. Робочий діапазон приладу виражають в одиницях концентрації аналіту в обробленій тестовій пробі, яку подають на прилад для вимірювання (наприклад, у міліграмах на літр, якщо це розчин після екстрагування проби). Приклад робочого діапазону приладу подано на рис. 3А, де ми бачимо залежність сигналу приладу від концентрації аналіту в калібрувальних еталонах. Приклад робочого діапазону методу показано на рис. 3В, де подано співвідношення вимірної концентрації та відомої концентрації аналіту в аналізованій пробі. Виміряна концентрація – це результат, отриманий згідно з методикою вимірювання (включно з усіма етапами підготування проби) із застосуванням приладу, відкаліброваного згідно з документом на методику.

Під час валідації потрібно оцінювати як робочий діапазон приладу, так і робочий діапазон методу. Дані про робочий діапазон часто отримують під час розроблення методу. У такому разі достатньо включити ці дані до протоколу валідації.

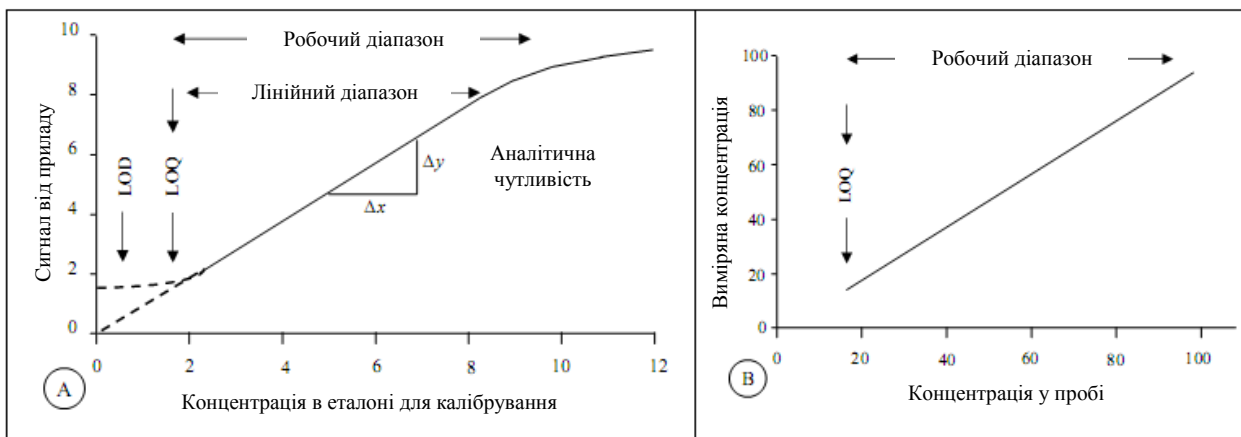


Рис 3. А) Типовий приклад калібрувальної кривої, отриманої інструментальним методом. Показано характеристики "робочий діапазон", "лінійний діапазон", "аналітична чутливість", "LOD" і "LOQ".

В) Типовий приклад кривої, отриманої згідно з методикою вимірювання, де показано залежність виміряної концентрації від концентрації аналіту в пробі.

6.3.4 Оцінювання робочого діапазону приладу

Між LOQ та верхньою межею робочого діапазону приладу його вихідний сигнал описується певною залежністю, лінійною чи нелінійною. Під час валідації потрібно: 1) підтвердити цю залежність, 2) показати, що робочий діапазон приладу сумісний з інтервалом, зазначеним у сфері застосування методу та 3) переконатися у правильності вибору запропонованої методики калібрування приладу (одноточкова, двоточкова чи багатоточкова).

Щоб оцінити робочий діапазон приладу та підтвердити його придатність для конкретного застосування, треба дослідити його за допомогою калібрувальних еталонів, які перекривають очікуваний діапазон концентрації на $\pm 10\%$ або навіть $\pm 20\%$, та побудувати графік (див. "Стислу довідку 5", крок 1). Для діапазону від 1 до 100 мг/л перекриття на $\pm 20\%$ означає інтервал від 0,8 до 120 мг/л. Вибрані концентрації мають бути рівномірно розподілені по усьому діапазону. Спочатку робочий діапазон оцінюють візуально за видом калібрувальної кривої. Наступним кроком є підтвердження виду залежності між концентрацією та вихідним сигналом приладу за допомогою статистичних характеристик регресії та графіку залишків для обраної моделі (наприклад, лінійної або квадратичної) (див. "Стислу довідку 5", крок 2). Оцінювання також може включати застосування спеціальних статистичних прийомів, таких як перевірка за "критеріями узгодженості" [56, 57]. За калібрувальною кривою та відповідними статистичними характеристиками, отриманими у робочому діапазоні приладу, можна судити про прийнятність процедури калібрування, описаної у методі. Додатково це оцінюють під час перевіряння робочого діапазону методу.

6.3.5 Оцінювання робочого діапазону методу

Щоб оцінити робочий діапазон методу, потрібно: 1) мати проби з відомою концентрацією та холості проби; 2) піддати проби усім операціям методики вимірювання; і при цьому 3) концентрація аналіту у різних пробах повинна, за можливості, охоплювати увесь діапазон, який треба дослідити, та 4) прилад має бути відкалібрований відповідно до запропонованої методики калібрування. Результат аналізування для кожної проби обчислюють згідно з документом на методику (див. "Стислу довідку 5", крок 3). Будують графік, на якому уздовж осі y відкладають виміряні значення, а уздовж осі x – відому концентрацію у пробах, як показано на рис. 3В. Робочий діапазон методу та лінійність оцінюють візуально за графіком та підтверджують оцінку за допомогою статистичних даних та графіка залишків для лінійної регресії.

Для оцінювання робочого діапазону можна скористатися результатами дослідження прецизійності та зсуву (див. розділи 6.5.2 та 6.6.2.1), за умови, що це дослідження охоплює увесь робочий діапазон методу.

Робочий діапазон методу потрібно встановлювати для кожної матриці, яку охоплює сфера застосування методу. Це пов'язано з імовірним порушенням лінійності вихідного сигналу під впливом завад та з тим, що здатність методу до екстрагування/вилучення аналіту може змінюватися залежно від матриці проби.

Стисла довідка 5. Робочий та лінійний діапазони

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
1) Проаналізувати холості проби та калібрувальні еталони з 6 - 10 значеннями концентрації, рівномірно розподіленими по <i>усьому діапазону, який треба дослідити.</i>	1	Побудувати графік залежності вихідного сигналу (вісь <i>y</i>) від концентрації (вісь <i>x</i>). Розглянути графік і приблизно визначити лінійний діапазон та верхню і нижню межі робочого діапазону приладу. Далі перейти до п. 2).	Це дасть нам візуальне підтвердження лінійності або нелінійності робочого діапазону. Примітка. Якщо сигнал не прямо пропорційний концентрації, наприклад, як у електродів рН чи інших іон-селективних електродів або в імунометричних методах, то перед оцінюванням лінійності потрібно перетворити виміряні значення.
2) Проаналізувати 2 - 3 рази холості проби та калібрувальні еталони з 6 - 10 значеннями концентрації, рівномірно розподіленими по <i>лінійному діапазону.</i>	1	Побудувати графік залежності вихідного сигналу (вісь <i>y</i>) від концентрації (вісь <i>x</i>). Перевірити візуально наявність викидів, які можуть бути не виявлені регресією. Розрахувати відповідні статистичні параметри регресії. Розрахувати і нанести на графік залишки (різниці між спостереженим та розрахованим за лінійною залежністю значеннями <i>y</i> для кожного значення <i>x</i>). Випадковий розподіл залишків навколо нульового значення підтверджує лінійність. Систематичний відхил свідчить про нелінійність або залежність дисперсії від рівня концентрації.	Цей етап потрібний для дослідження робочого діапазону, який вважають лінійним, особливо тоді, коли метод передбачає калібрування за двома точками. Якщо стандартний відхил пропорційний концентрації, тоді, можливо, краще розраховувати не просту незважену лінійну регресію, а зважену регресію. Не варто відсіювати викиди, не зробивши попередньо перевірку за допомогою додаткових дослідів за близьких значень концентрації. Інколи дані калібрування приладів варто спробувати описати нелінійною залежністю. У такому разі треба збільшити кількість проб. Як правило, не рекомендують використовувати функції порядку вище другого.
3) Відкалібрувати прилад згідно із запропонованою методикою калібрування. Проаналізувати 2-3 рази, згідно з документом на методику, холості проби та стандартні зразки або холості проби з добавками з 6 - 10 значеннями концентрації, рівномірно розподіленими по <i>усьому діапазону, який треба дослідити.</i>	1	Побудувати графік залежності вимірної концентрації (вісь <i>y</i>) від концентрації у пробах (вісь <i>x</i>). Розглянути графік і приблизно визначити лінійний діапазон та верхню і нижню межі робочого діапазону. Розрахувати відповідні статистичні параметри регресії. Розрахувати і нанести на графік залишки (різниці між спостереженим та розрахованим за лінійною залежністю значеннями <i>y</i> для кожного значення <i>x</i>). Випадковий розподіл залишків навколо нульового значення підтверджує лінійність. Систематичний відхил від нуля свідчить про нелінійність.	Цей крок дає змогу оцінити, наскільки запропонований діапазон приладу та методика калібрування придатні для даного застосування. Якщо є результати дослідження зсуву та прецизійності, що охоплюють діапазон, який треба дослідити, тоді окреме дослідження робочого діапазону методу може не знадобитися.

6.4 Аналітична чутливість

6.4.1 Визначення

Аналітична чутливість – це зміна вихідного сигналу приладу, яка відповідає зміні вимірюваної величини (наприклад, концентрації аналіту), тобто це градієнт калібрувальної кривої [7, 18]. Прикметник "аналітична" рекомендовано вживати для того, щоб уникнути плутанини з поняттям "діагностична чутливість" з галузі лабораторної медицини [43]. Іноді терміном "чутливість" називають межу виявлення, але таке його вживання не рекомендує VIM.

6.4.2 Застосування

Аналітична чутливість є не надто важлива характеристика. Проте її корисно застосовувати, принаймні, у двох випадках:

1. Іноді нам відома теоретична аналітична чутливість. Багато іон-селективних електродів поведуться згідно із законом Нернста, наприклад, зміна сигналу справного скляного електроду повинна становити 59 мВ/рН.

2. Для спектрофотометричних вимірювальних систем оптичну густину можна обчислити за законом Ламберта - Бера. Це дає змогу перевірити характеристики приладу, і деякі стандарти вимагають проведення такої перевірки [58].

6.5 Правильність

6.5.1 Термінологія для опису якості вимірювання

У цій настанові для опису якості результатів, отриманих за допомогою певного методу, ми використовуємо три пов'язані між собою характеристики: *правильність*, *прецизійність* та *непевність*. Проте дослідники часто застосовують інші поняття, наприклад, різні види похибки (випадкова, систематична та сумарна), точність (правильність і прецизійність) та непевність. Деякі з цих понять є якісні, а деякі – кількісні. З часом багато термінів та визначень змінювалися і з'являлися нові терміни. Окрім того, у різних секторах досі віддають перевагу різним термінам, і усе це створює чималу плутанину. На рис. 4 показано зв'язок між термінами, а детальнішу інформацію можна знайти у VIM [7] та настанові Eurachem з термінології [8].

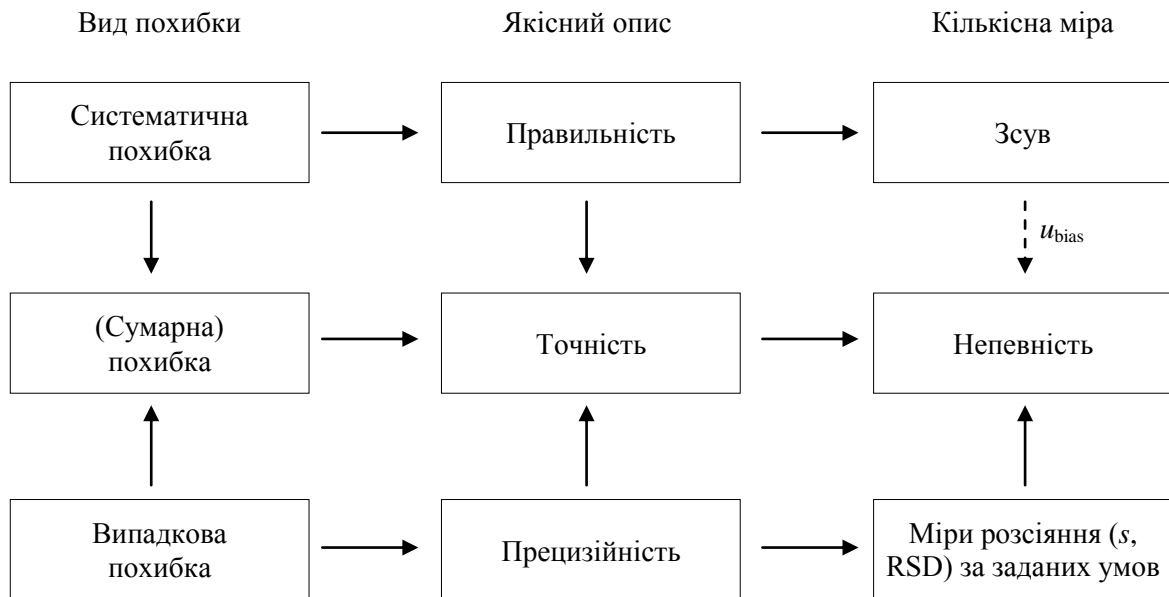


Рис. 4. Зв'язок між деякими основними поняттями, за допомогою яких описують якість результатів вимірень (на основі роботи Menditto et al. [59]). Оцінка непевності згідно з GUM [21] передбачає введення поправки на відомий зсув та включення непевності поправки u_{bias} до остаточного бюджету непевності. На малюнку це позначено пунктирною стрілкою під блоком "зсув". Як концепція точності, так і концепція непевності передбачають, що вимірювання виконують відповідно до документу на методіку і що "грубі помилки" (промахи) не враховують.

"Точність" виміру виражає близькість одиничного результату до опорного значення* [29, 48] (точне визначення див. у VIM, п. 2.13). Завданням валідації методу є дослідження точності результатів шляхом оцінювання систематичних та випадкових впливів на одиничні результати. Тому, як правило, досліджують два складники точності: "правильність" і "прецизійність". Окрім того, усе більш поширеним стає подання точності через єдину числову характеристику – "непевність виміру". Оцінку правильності розглянуто нижче, прецизійності – у розділі 6.6, а непевності – у розділі 6.7.

"Правильність" виміру є вираженням того, наскільки близьке є середнє значення нескінченної кількості результатів спостережень (отриманих досліджуваним методом) до опорного значення. Оскільки неможливо виконати нескінченну кількість спостережень, то правильність виміряти не можна. Можна, однак, отримати практичну оцінку правильності. Цю оцінку зазвичай кількісно виражають через "зсув".

* Опорне значення іноді називають "істинним значенням" або "умовно істинним ("дійсним") значенням".

6.5.2 Визначення зсуву

Практичне визначення зсуву полягає у порівнянні середнього значення результатів (\bar{x}), отриманих за допомогою досліджуваного методу, з відповідним опорним значенням (x_{ref}). Є три основні способи оцінювання: а) аналізування стандартних зразків, б) експериментальне визначення ступеня вилучення із застосуванням проб з добавками та в) порівняння з результатами, отриманими іншим методом (див. "Стислу довідку 6"). Дослідження зсуву має охоплювати усю сферу застосування методу, і тому, можливо, доведеться аналізувати різні типи проб та/або визначати різні рівні вмісту аналіту. Для цього, ймовірно, треба буде поєднувати різні зазначені вище способи.

Зсув можна виразити в абсолютній формі:

$$b = \bar{x} - x_{ref} \quad (1),$$

відносній (у відсотках):

$$b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100 \quad (2)$$

чи як ступінь вилучення добавки:

$$R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{spike}} \times 100 \quad (3)$$

де \bar{x}' – середнє значення для проби з добавкою, а x_{spike} – додана концентрація.

Окрім того, у деяких видах аналітичного вимірювання застосовують також ступінь вилучення ("ефективний ступінь вилучення"), виражений у відсотках [60]:

$$R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100 \quad (4)$$

Щоб визначити зсув за допомогою стандартних зразків, знаходять середнє значення та стандартний відхил у серії повторних вимірень і порівнюють результати з атестованим значенням стандартного зразка. Ідеальним стандартним зразком є атестований матричний стандартний зразок зі значеннями властивостей, близькими до властивостей досліджуваних проб. Атестовані стандартні зразки (CRM) є загально визнаним засобом встановлення метрологічної простежуваності [61, 62]. Також важливо пам'ятати, що у валідаційному дослідженні конкретний стандартний зразок можна використовувати тільки з однією метою. Наприклад, стандартний зразок, який застосовують для калібрування, не можна використати для оцінювання зсуву.

Порівняно з великим розмаїттям типів проб та аналітів, з якими стикаються лабораторії, кількість доступних стандартних зразків є досить обмежена, і до того ж іще важливо, щоб вибраний зразок був *придатний для даного застосування*. Інколи потрібно знати подробиці характеристики стандартного зразка, наприклад, чи не передбачає методика

підготування проби, застосована під час характеристики зразка, визначення не загального вмісту аналіту, а тільки тої його кількості, яку вилучають за певних умов. Для робіт у регуляторній сфері потрібно застосовувати відповідні атестовані зразки, за можливості, з ідеально близькою до проб матрицею. Постійно контролювати зсув методів, які застосовують впродовж тривалого часу у роботах для власних потреб, можна за допомогою стабільного внутрішньолабораторного зразка, проте для первинного оцінювання потрібно застосовувати атестований стандартний зразок.

За відсутності відповідних стандартних зразків оцінити ймовірний рівень зсуву можна за даними щодо ступеня вилучення (отриманими у дослідях з добавками). Аналіт може бути присутній у зразку в різних формах, і інколи визначати потрібно лише деякі з них. Отже, конкретний метод може бути спеціально розроблений для визначання лише однієї з форм аналіту. Невдале визначення усього присутнього аналіту або його частини може бути пов'язане із самою сутністю методу. Таким чином, необхідно оцінювати здатність методу до виявлення усього наявного аналіту [60, 63].

Оскільки зазвичай не відомо, яка кількість конкретного аналіту присутня у пробі, неможливо напевне знати, наскільки ефективний є метод з точки зору вилучення аналіту з матриці проби. Одним із способів визначення ефективності екстрагування є додавання аналіту до проби у різних концентраціях з подальшим екстрагуванням та вимірюванням концентрації аналіту. Істотна проблема тут полягає у тому, що аналіт, введений таким чином, імовірно, не буде зв'язаний так само сильно, як той, що є присутній у матриці проби природним чином, тому такий спосіб покаже завищену ефективність екстрагування.

Можна оцінити зсув шляхом порівняння результатів, отриманих за допомогою досліджуваного методу, з результатами, отриманими іншим методом. Є два основні типи альтернативних методів – референтний метод та метод, який на цей час лабораторія застосовує у своїй регулярній роботі. За допомогою референтного методу отримують "прийняте опорне значення" вимірюваної властивості, причому, як правило, з меншою непевністю порівняно з досліджуваним методом. Особливим видом референтного методу є первинний метод^{*}. З другим варіантом ми маємо справу, коли метою валідації є показати еквівалентність результатів, отриманих за допомогою досліджуваного методу, та результатів, які дає наявний метод. Тут завдання полягає у тому, щоб установити відсутність значущого

* "Первинний метод" – це метод, що має найвищі метрологічні властивості, виконання якого є повністю описане та зрозуміле в одиницях SI і за допомогою якого результати отримують без порівняння з еталоном тієї самої величини (CCQM). Відповідний термін у VIM (див. п. 2.8) – "первинна референтна методика вимірювання".

зсуву відносно результатів, отриманих за допомогою наявного методу (хоча результати аналізування цим методом можуть самі по собі бути зміщені).

У обох варіантах порівнюють результати, отримані за допомогою досліджуваного та альтернативних методів для такого самого зразка або зразків. Це можуть бути внутрішньолабораторні стандартні зразки або просто типові проби. Перевага такого підходу полягає у тому, що тут аналізовані зразки не обов'язково повинні бути атестованими стандартними зразками, оскільки опорне значення дає альтернативний метод. Отже, метод можна перевірити на "реальних" зразках, близьких до проб, з якими матиме справу лабораторія у своїй повсякденній роботі.

Стисла довідка 6. Правильність

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
а) Проаналізувати стандартний зразок досліджуваним методом.	10	Порівняти середнє значення, \bar{x} , з опорним значенням, x_{ref} , стандартного зразка. Розрахувати зсув, b , відносний зсув, b (%), або ступінь вилучення: $b = \bar{x} - x_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$ $R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$	Отримуємо оцінку зсуву з урахуванням як зсуву методу, так і лабораторного зсуву.
б) Проаналізувати матричні холості проби або тестові проби без добавок та з добавками визначуваного аналіту в заданому діапазоні концентрації.	10	Порівняти різницю між середнім значенням, x' , для проб з добавками та середнім значенням, x , зі значенням доданої концентрації, x_{spike} . Розрахувати ступінь вилучення добавки, R' (%), для різних значень концентрації: $R'(\%) = \frac{x' - \bar{x}}{x_{spike}} \times 100$	Щоб оцінити чистий ступінь вилучення добавки, проби з добавкою треба порівнювати з тією ж пробю без добавки. Ступінь вилучення, визначений за пробами з добавками або матричними холостими пробами, буде, як правило, вищий, ніж для реальних зразків, у яких зв'язок аналіту з матрицею є сильніший.
в) Проаналізувати стандартний зразок/пробу досліджуваним методом та альтернативним методом.	10	Порівняти середнє значення, \bar{x}' , із середнім значенням, \bar{x}_{ref} , отриманим альтернативним методом. Розрахувати зсув, b , або відносний зсув, b (%), або ступінь вилучення $b = \bar{x}' - \bar{x}_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}_{ref}}{\bar{x}_{ref}} \times 100$ $R(\%) = \frac{\bar{x}'}{\bar{x}_{ref}} \times 100$	Отримуємо оцінку зсуву відносно альтернативного методу. Як альтернативний можна застосувати або референтний метод, або, якщо є намір замінити один метод на інший і треба показати їхню еквівалентність, метод, який застосовують на цей час у лабораторії. Сам по собі альтернативний метод може мати зсув, і у цьому разі експеримент не дасть абсолютну оцінку правильності.
Примітка. Зсув може змінюватися залежно від матриці та рівня концентрації, і з цього випливає, що у плані валідації треба зазначити, які матриці та рівні концентрації потрібно дослідити.			

6.5.3 Інтерпретація результатів визначення зсуву

На рис. 5 показано два складники зсуву, які ми назвемо "зсув методу" та "лабораторний зсув".

Зсув методу виникає внаслідок систематичних похибок, властивих цьому методу, незалежно від того, яка лабораторія його застосовує. Лабораторний зсув спричинений додатковими систематичними похибками, характерними для лабораторії та її реалізації методу. Сама лабораторія може оцінити тільки сумарний (загальний) зсув від цих двох джерел. Перевіряючи зсув, треба брати до уваги чинні домовленості, прийняті щодо певного застосування. Наприклад, деякі регуляторні норми для харчових продуктів виражено як значення величини, вимірюваної за допомогою конкретного емпіричного ("операційно визначеного") стандартного методу. За визначенням, зсув методу для "емпіричних" методик вимірювання дорівнює нулю. Тоді зсув, зумовлений лише конкретним методом (див. рис. 5), не беруть до уваги, і основним питанням є метрологічна зіставність з іншими лабораторіями, які застосовують той самий метод. У такому разі лабораторія повинна, в ідеалі, визначити зсув за допомогою стандартного зразка, атестованого із застосуванням конкретного регуляторного або досліджуваного емпіричного методу, і тоді можна дотримуватися звичайних правил перевірки та інтерпретації зсуву. Якщо такого зразка немає або потрібна додаткова інформація, можна застосувати інші зразки, але інтерпретуючи результати, слід брати до уваги усі відомі відмінності між досліджуваним методом та методом (або методами), за допомогою яких було отримано опорне значення.

Буває так, що для виконання конкретної аналітичної вимоги вміст одного й того самого аналіту можна виміряти за допомогою декількох різних вимірювальних приладів на різних робочих місцях у межах однієї організації. Тоді у цій організації виникають численні комбіновані джерела зсуву. У такій досить поширеній складній ситуації організація може встановити процедури оцінювання репрезентативної непевності, що охоплюють усі робочі місця/прилади для кожного аналітичного завдання. Для цього бажано використовувати зразок, який має ті самі властивості, у тому числі матрицю, що й проби, які підлягають аналізуванню. За допомогою варіаційного аналізу можна виявити головні причини мінливості, що роблять внесок у сумарну непевність вимірів, і далі вжити заходів щодо зменшення відмінностей у межах організації.

Проте здебільшого рішення про прийнятність зсуву треба приймати виходячи із сумарного зсуву, вимірюваного за допомогою відповідних стандартних зразків, проб з добавками або референтних методів, з урахуванням прецизійності методу та усіх даних щодо непевності опорних значень, а також точності, необхідної для кінцевого застосування. Рекомендовано робити статистичні перевірки на значущість [64, 65].

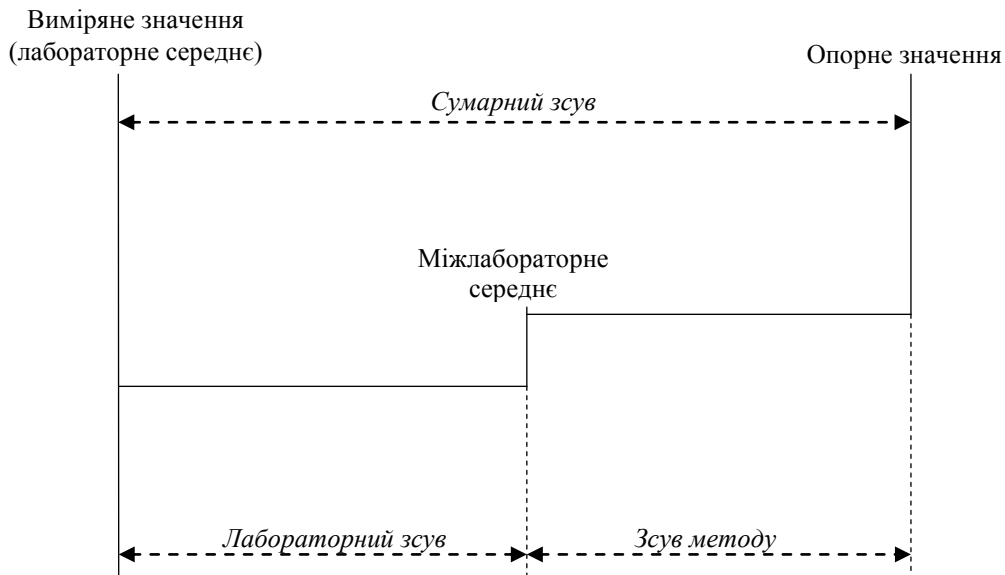


Рис. 5. Загальний вимірний зсув складається із зсуву методу та лабораторного зсуву. Примітка. Показані тут лабораторний зсув та зсув методу мають один і той самий знак. У реальності це не завжди так.

6.6 Прецизійність

6.6.1 Багаторазові вимірення

Багаторазові вимірення потрібні, щоб отримати надійні оцінки характеристик методу, таких як прецизійність та зсув. Експерименти з багаторазовими виміреннями треба планувати з урахуванням усіх можливих змін робочих умов, які можуть мати місце під час регулярного застосування методу. Метою має бути визначення типової, а не найменшої мінливості.

6.6.2 Умови прецизійності

Прецизійність (прецизійність вимірів) є міра близькості результатів між собою [7, 29]. Зазвичай її виражають статистичними параметрами, що характеризують розсіяння результатів. Як правило, це стандартний відхил (чи відносний стандартний відхил), розрахований за результатами багаторазових вимірень на відповідній пробі за заданих умов. Вибір "заданих умов" є важливим аспектом оцінювання прецизійності виміру, оскільки умови визначають тип отриманої оцінки прецизійності. "Збіжність вимірів" та "відтворюваність вимірів" є два крайні можливі показники прецизійності. Зазвичай документи на стандартні методи (наприклад, стандарти ISO) містять, коли це застосовно, дані як щодо збіжності, так і відтворюваності.

Збіжність, що характеризує ймовірно найменший розкид результатів, є міра мінливості результатів вимірень, які виконує один аналітик із застосуванням того самого обладнання впродовж короткого проміжку часу*.

Відтворюваність, що характеризує ймовірно найбільший розкид результатів, є міра мінливості результатів між лабораторіями†.

Між цими крайніми показниками лежить "проміжна прецизійність (вимірів)", що характеризує розкид результатів, отриманих в одній лабораторії, але за умов мінливіших, ніж умови збіжності. У кожному конкретному випадку ці умови потрібно точно зазначати. Така оцінка прецизійності повинна відображати усі джерела розкиду, що мають місце в одній лабораторії під час її регулярної роботи (різні аналітики, тривалий інтервал часу, різне обладнання тощо)‡.

6.6.2.1 Оцінка прецизійності - загальні аспекти

Прецизійність, як правило, залежить від концентрації аналіту, і тому її потрібно визначати у декількох точках в усьому досліджуваному діапазоні. Цими точками можуть бути певна задана концентрація (наприклад, регуляторна границя) та межі інтервалу вимірювання. За необхідності треба встановити залежність між прецизійністю та концентрацією аналіту. Якщо виміряна концентрація суттєво перевищує межу виявлення, то досить часто прецизійність є пропорційна концентрації аналіту. У такому разі прецизійність доцільно виражати через відносний стандартний відхил, оскільки він буде приблизно постійний в усьому досліджуваному діапазоні.

Для якісних методів прецизійність неможливо виразити як стандартний відхил чи відносний стандартний відхил, але її можна представити як частку істинно та хибно позитивних (і негативних) результатів [55] (див. розділ 6.2.6).

Щоб оцінити прецизійність, потрібно виконати достатню кількість повторних досліджень на відповідних зразках. Зразки мають бути близькі до досліджуваних проб за матрицею, концентрацією аналіту, однорідністю та стабільністю, але не обов'язково це повинні бути атестовані стандартні зразки. Повторні вимірення мають бути незалежні, тобто треба повторювати повний процес вимірювання, у тому числі всі етапи підготування проби.

* Збіжність іноді називають "внутрішньосерійною", "внутрішньопартійною" та "внутрішньоаналітичною" прецизійністю.

† У контексті валідації відтворюваність розуміють як розкид між лабораторіями, що застосовують один і той самий метод. Відтворюваність може також характеризувати розкид між лабораторіями, що застосовують різні методи, але для вимірювання одної й тої самої величини [7].

‡ Проміжну прецизійність іноді називають "внутрішньолабораторна відтворюваність", "міжсерійний розкид", "міжпартійний розкид" чи "міжаналітичний розкид".

Мінімальна кількість повторень у різних програмах валідації становить, як правило, від 6 до 15 для кожного із зразків, які використовують під час дослідження.

Слід пам'ятати, що отримати надійну оцінку стандартного відхилення за даними із серії з малою кількістю повторень досить складно. Якщо це допустимо, для отримання оцінок з достатнім числом ступенів свободи можна об'єднувати в одну сукупність результати декількох невеликих серій повторних вимірень.

Ефективним засобом для отримання оцінок збіжності та проміжної прецизійності з достатнім числом ступенів свободи є деякі плани експерименту з опрацюванням результатів методами дисперсійного аналізу (ANOVA) (детальніше цей підхід описано у розділі 6.6.4 та Додатку С). Інформацію про експериментальне оцінювання прецизійності подано у "Стислій довідці 7".

6.6.3 Межі прецизійності

За стандартним відхиленням s можна обчислити "межу прецизійності" [29, 48]. Вона дає змогу аналітикові прийняти рішення про значущість, за заданого довірчого рівня, відмінності між результатами повторних аналізів проби, отриманими за заданих умов. Межу збіжності (r) обчислюють за формулою:

$$r = \sqrt{2} \times t \times s_r \quad (5)$$

де коефіцієнт $\sqrt{2}$ відображає те, що йдеться про різницю між результатами двох вимірень, t – двосторонній критерій Стьюдента для певного числа ступенів свободи (яке відноситься до оцінки s_r) за заданого довірчого рівня. Для відносно великого числа ступенів свободи $t \approx 2$ за довірчого рівня 95 %, тому межу збіжності часто розраховують приблизно за формулою:

$$r = 2,8 \times s_r \quad (6)$$

Межу проміжної прецизійності та межу відтворюваності (R) розраховують аналогічним способом, замінивши s_r на s_I та s_R , відповідно.

Зазвичай документи на стандартні методи (наприклад, стандарти ISO), містять, коли це застосовно, значення як межі збіжності, так і межі відтворюваності.

6.6.4 Одночасне визначення збіжності та проміжної прецизійності

Методи одночасного визначення збіжності та проміжної прецизійності описано в ISO 5725-3 [29]. Окрім того, визначити збіжність та проміжну прецизійність в одному дослідженні дає змогу план експерименту, складений на основі "Гармонізованої настанови з валідації методів аналізування в одній лабораторії" [12]. Проміжні проби з відібраного для дослідження матеріалу неодноразово аналізують за умов збіжності у декількох різних серіях за максимальної відмінності умов між серіями (різні дні, різні аналітики, різне обладнання тощо). За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA [5, 6] можна

розрахувати збіжність як внутрішньогрупову прецизійність, а проміжну прецизійність обчислити як квадратний корінь із суми квадратів внутрішньогрупової та міжгрупової прецизійності. Такий план може бути ефективним засобом для отримання оцінок збіжності та міжгрупової прецизійності з достатнім числом ступенів свободи. Наприклад, 8 груп з двох повторень дають 8 та 7 ступенів свободи для оцінок збіжності та міжсерійної прецизійності, відповідно. (Детальніше це описано у додатку С).

Стисла довідка 7. Збіжність, проміжна прецизійність та відтворюваність

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
Проаналізувати стандартні зразки, надлишкові тестові проби або холості проби з добавками за різних значень концентрації в усьому робочому діапазоні. Збіжність та проміжну прецизійність можна визначити в окремих дослідженнях (див а) та б) нижче) або одночасно в одному дослідженні (див в)).			
а) Один аналітик, одне обладнання, одна лабораторія, короткий проміжок часу.	6 – 15 повторень для кожного зразка.	Визначити стандартний відхил (s) результатів для кожного зразка.	Отримуємо стандартний відхил збіжності s_r для кожного зразка. ^a
б) Різні аналітики, різне обладнання, одна лабораторія, тривалий проміжок часу.	6 – 15 повторень для кожного зразка.	Визначити стандартний відхил (s) результатів для кожного зразка.	Отримуємо стандартний відхил проміжної прецизійності s_l для кожного зразка.
в) Різні аналітики, різне обладнання, одна лабораторія, тривалий проміжок часу.	6-15 груп подвійних вимірень ^b за умов збіжності у різні дні/на різному обладнанні для кожного зразка.	Обчислити стандартний відхил збіжності за даними ANOVA для кожного зразка. Розрахувати міжгруповий стандартний відхил за даними ANOVA та об'єднати зі стандартним відхилом збіжності для кожного зразка.	Отримуємо стандартний відхил збіжності s_r для кожного зразка. Отримуємо стандартний відхил проміжної прецизійності s_l для кожного зразка.
г) Різні аналітики, різне обладнання, різні лабораторії, тривалий проміжок часу.	6-15 груп подвійних вимірень ^b за умов збіжності у різних лабораторіях для кожного зразка.	Розрахувати стандартний відхил збіжності за даними ANOVA для кожного зразка. Розрахувати міжлабораторний стандартний відхил за даними ANOVA та об'єднати зі стандартним відхилом збіжності для кожного зразка.	Отримуємо стандартний відхил збіжності s_r для кожного зразка. Отримуємо стандартний відхил відтворюваності s_R для кожного зразка. Для цього потрібні спеціальні міжлабораторні звірення ("спільне дослідження").
^a Стандартний відхил збіжності можна оцінити, об'єднавши декілька невеликих серій даних, наприклад, $n = 2$, отриманих у різні дні. ^b Подвійні вимірення у межах кожної групи забезпечують збалансовану кількість ступенів свободи для оцінок внутрішньо- та міжгрупових стандартних відхилів. Збільшення кількості повторень у кожній групі збільшує кількість ступенів свободи, пов'язаних з оцінкою збіжності.			

6.7 Непевність виміру

Детальний розгляд непевності (виміру) виходить за рамки цієї настанови, але докладнішу інформацію можна знайти в інших джерелах [21, 22]. Непевність – це пов'язаний з результатом вимірення інтервал, що виражає діапазон значень, які можна обґрунтовано віднести до вимірюваної величини. Оцінка непевності повинна враховувати *усі виявлені чинники*, що впливають на результат. Непевності, пов'язані з кожним із чинників, об'єднують за встановленими правилами.

Різні способи оцінювання непевності у галузі хімічного вимірювання описано у [22, 66, 67, 68]. Вони враховують:

- загальну довгочасну прецизійність методу (тобто проміжну прецизійність або відтворюваність);
- зсув та його непевність, у тому числі статистичну непевність, пов'язану з вимірюванням зсуву, та непевність опорного значення [69, 70, 71, 72, 73];
- калібрування обладнання. Непевність, пов'язана з калібруванням обладнання, наприклад, ваг, термометрів, піпеток та колб, часто нехтовно мала порівняно із загальною прецизійністю та непевністю зсуву. Якщо таке припущення є обґрунтоване, тоді непевність калібрування можна не включати до оцінки непевності;
- будь-які інші суттєві чинники. Наприклад, якщо діапазони температури або часу, передбачені методом, не дослідили повністю під час валідації, тоді, ймовірно, потрібно буде додатково врахувати їхній вплив на непевність. Такий вплив можна кількісно оцінити під час дослідження стійкості (див. розділ 6.8) або в інших дослідженнях, що дають змогу встановити ступінь впливу певного чинника на результат.

Якщо вплив окремих чинників істотний, наприклад, для калібрувальних лабораторій, тоді потрібно розглядати складники від кожного чинника окремо.

Відзначимо, що стандартний відхил відтворюваності можна вважати робочою оцінкою сумарної стандартної непевності, коли лабораторний зсув, визначений за допомогою належних зразків, є невеликий порівняно зі стандартним відхилом відтворюваності, внутрішньолабораторна збіжність близька до збіжності стандартного методу і проміжна прецизійність лабораторії не перевищує поданий у публікаціях стандартний відхил відтворюваності (додатково потрібно розглядати чинники, що виходять за рамки спільного дослідження) [67].

6.8 Стійкість

6.8.1 Визначення

"Стійкість" аналітичної методики – це "міра її здатності зберігати свої характеристики за наявності малих, але зумисних змін параметрів методу. Стійкість є показник надійності методу під час його нормального застосування" [13].

6.8.2 Перевірка на стійкість

У будь-якому методі є певні етапи, неточне виконання яких може істотно вплинути на характеристики методу і навіть призвести до того, що метод взагалі не працюватиме. Такі етапи треба виявляти, як правило, у процесі розроблення методу та, за можливості, оцінювати їхній вплив на характеристики методу за допомогою "перевірки на стійкість". У документі АОАС [74] подано визначення цього терміну та опис прийнятої методики виконання такої перевірки із застосуванням плану експерименту Плакетта-Бермана.

"Перевірка на стійкість" передбачає внесення зумисних змін до методу та дослідження їхнього впливу на характеристики методу.* За результатами експерименту можна визначити змінні параметри методу, які впливають найбільше, і потім ретельно їх контролювати під час застосування методу. Якщо метод треба буде удосконалити, то очевидно, основну увагу можна буде зосередити на тих частинах методу, які є найбільш уразливі.

Стійкість потрібно встановлювати для методів, розроблених у лабораторії або узятих з наукової літератури, а також методів, опублікованих органами зі стандартизації, але застосовуваних поза сферою, зазначеною у стандарті на метод. Стійкість методів, опублікованих органами зі стандартизації, у разі застосування їх у рамках зазначеної сфери зазвичай досліджують у процесі стандартизації. Тому, як правило, досліджувати стійкість на рівні однієї лабораторії не обов'язково. Інформацію про стійкість треба наводити у лабораторній методиці у вигляді встановлених допустимих границь для критичних з точки зору стійкості параметрів експерименту (див. приклад 5 та "Стислу довідку 8").

* Зазвичай досліджують вплив на вимірювану величину, але можна також досліджувати вплив на певний експериментальний параметр, наприклад, розрізнення піків на хроматограмі.

Приклад 5. Витяги з ISO 11732 [58]. Пункти, що показують критичність певних параметрів експерименту.

- NH_4Cl висушують до постійної маси за температури $(105 \pm 2)^\circ\text{C}$.
- Дані значення величини можна зменшити (наприклад, на одну десяту).
- Якщо розчин зберігати у пластиковій (поліетиленовій) пляшці за кімнатної температури, він буде стабільний впродовж приблизно 1 місяця.
- Оптична густина розчину повинна бути від 0,3 до 0,5.
- Дегазувати та очистити розчин..., залити його в ємність із реактивом та витримати впродовж не менш як 2 годин.
- Цей розчин можна зберігати у холодильнику не довше ніж один тиждень.
- Для взяття проб можна використовувати ємності зі скла, поліалкенив чи політетрафторетилену (ПТФЕ).
- У виняткових випадках пробу можна зберігати до двох тижнів за умови, що вона була профільтована через мембрану після підкислення.

Стисла довідка 8. Стійкість

Що робити	Скільки разів	Що обчислити/визначити за отриманими даними	Коментарі
<p>Визначити змінні параметри, які можуть істотно вплинути на характеристики методу.</p> <p>Виконати експерименти (проаналізувати стандартні зразки або тестові проби) для вивчення впливу систематичної зміни параметрів на результати аналізування.</p>	<p>Вибрати оптимальну кількість дослідів, застосовуючи методи планування експерименту.</p> <p>Наприклад, за планом експерименту Плакетта-Бермана [74] можна дослідити 7 параметрів у 8 дослідях.</p>	<p>Визначити вплив кожної зміни умов на результати аналізування.</p> <p>Скласти перелік змінних параметрів у порядку зменшення ступеня їхнього впливу на характеристики методу.</p> <p>За допомогою тестів на значущість перевірити, чи є спостережені ефекти статистично значимі.</p>	<p>Розробити заходи контролювання якості або змінити метод, щоб контролювати критичні змінні параметри, наприклад, установивши для них належні допустимі границі у стандартній операційній процедурі.</p>

7. Застосування валідованих методів

Застосовуючи метод, розроблений не вашою лабораторією – чи то буде метод, розроблений у якій-небудь іншій лабораторії, опублікований метод або навіть стандартний або нормативний метод, треба мати на увазі два важливі моменти.

По-перше, достатньо вам наявних даних валідації чи потрібна додаткова валідація? Також варто відзначити, що, окрім обсягу наданої інформації, має значення надійність джерел даних щодо валідації. Результати спільних досліджень або дані, отримані визнаними організаціями зі стандартизації, як правило, вважають надійними, і меншою мірою це стосується даних, опублікованих лише у науковій літературі або наданих виробниками обладнання та/або реактивів. По-друге, якщо даних валідації достатньо, чи може лабораторія виконати верифікацію заявлених характеристик методу (див. розділ 2.2)? Чи має лабораторія усі необхідні прилади та обладнання? Якщо під час валідації метод був усебічно досліджений за усіх граничних значень робочих умов, тоді, найімовірніше, під час застосування його новим компетентним аналітиком характеристики методу лежатимуть у межах встановлених значень. Це, однак, завжди треба перевіряти. За умови, що стандартний метод використовують у межах встановленої сфери застосування, зазвичай достатньо пересвідчитися у здатності аналітика отримати задану збіжність та перевірити результати на наявність будь-якого зсуву. Детальніше це описано нижче.

Стандартні методи, як правило, розробляють органи зі стандартизації через ту чи іншу форму спільних досліджень, і у цих органах часто є фахівці зі статистики, які можуть правильно спланувати і виконати валідаційні дослідження та оцінити отримані результати. Стандарт ISO 5725 [29] описує модель, на якій повинні ґрунтуватися міжлабораторні звірення методів для забезпечення надійної інформації про їхні характеристики. Ця модель стає все більш поширена, проте не до усіх стандартних методів її було застосовано. Не варто вважати, що усі стандартні методи були належним чином валідовані, і тому аналітик повинен перевіряти, чи достатньо повна та надійна є надана інформація про характеристики методу.

Також часто вважають, що будь-який аналітик може просто "взяти з полиці" стандартний метод і одразу досягти заявлених характеристик. Таке припущення може бути хибне. Щоби повністю освоїти метод, навіть фахівець у конкретній хімічній галузі, де цей метод застосовують, повинен спочатку попрацювати з ним практично.

Застосовуючи валідовані (та, у цьому контексті, будь-які інші) методи, для досягнення прийнятних показників бажано дотримуватися поданих нижче правил.

1. По-перше, аналітик повинен повністю ознайомитися з новим методом, перш ніж розпочати з ним працювати. Було би ідеально, якби спочатку метод показав аналітикові фахівець, який вже цей метод освоїв. Тоді на початковому етапі аналітик повинен застосовувати метод під пильним наглядом такого фахівця. Ступінь контролю поступово знижують, доки аналітик не стане достатньо компетентний, щоби працювати самостійно. Критерієм компетентності може бути, наприклад, здатність аналітика досягати встановлених значень характеристик методу – збіжності, межі виявлення тощо. Такий спосіб освоєння нових методів є дуже поширений, і процедури навчання у лабораторії часто планують саме таким чином, устанавлюючи об'єктивні показники компетентності, які періодично контролюють у процесі навчання. У кожному разі аналітик повинен прочитати методичку повністю, ознайомитися з теорією, що лежить в основі вимірювання, подумки пройти усі етапи, визначаючи моменти, коли можна робити перерви, і частини процесу, які аналітик повинен виконувати неперервно. Коли треба готувати реактиви, наскільки вони стабільні після приготування? Чи треба їх готувати заздалегідь? Класична помилка – це коли витрачають декілька годин на підготування проб, а потім виявляється, що процес приготування реактиву, необхідного для наступного етапу роботи, включає складний синтез, тим часом підготовлені проби можуть почати руйнуватися.

2. По-друге, треба оцінити, з якою кількістю проб варто працювати одночасно. Краще проаналізувати добре декілька проб, ніж намагатися зробити одразу багато аналізів, а потім велику їх частину переробляти.

3. Нарешті, перед початком робіт слід переконатися у наявності всього необхідного для реалізації методу. У лабораторії повинні бути відповідне обладнання, реактиви та еталони (належним чином приготовані), зарезервовано, за потреби, місце у витяжних шафах тощо.

Коли треба адаптувати або змінити метод, валідований в іншій лабораторії, необхідно провести відповідну повторну валідацію. Залежно від характеру змін, їх внесення може призвести до того, що дані первинної валідації втратять своє значення.

8. Застосування даних валідації для контролювання якості

8.1 Вступ

"Забезпечування якості" та "контролювання якості" – терміни, значення яких часто залежить від контексту. Згідно ISO, "забезпечування якості" відноситься до дій, які виконує лабораторія для створення упевненості в тому, що вимоги до якості буде виконано, а "контролювання якості" включає окремі заходи, спрямовані на практичне виконання цих вимог [9].

Валідація методу дає уявлення про можливості та обмеження, властиві методу під час його регулярного застосування, коли метод перебуває під контролем. Щоб переконатися у тому, що метод перебуває під контролем, тобто його характеристики відповідають очікуванню, треба виконувати певні дії. На етапі валідації метод застосовують, головним чином, до зразків відомого складу. Далі, під час регулярної роботи, метод застосовують для аналізування проб невідомого складу. Належним засобом внутрішнього контролювання якості може бути подальше регулярне аналізування стабільних тестових зразків, що дасть змогу аналітикові зрозуміти, чим зумовлене розсіяння отриманих результатів – дійсною відмінністю між собою проаналізованих проб чи неочікуваною та небажаною зміною характеристик методу. На практиці у процесі контролювання якості ці тестові зразки потрібно аналізувати разом з кожною партією проб. Виконання перевірок буде залежати від характеру, важливості та частоти аналізувань, розміру партії, ступеня автоматизації та складності випробування, а також від досвіду, набутого під час розроблення та валідації методу. Є різні форми контролювання якості, як усередині лабораторії (внутрішнє контролювання), так і між лабораторією та іншими лабораторіями (зовнішнє контролювання).

8.2 Внутрішнє контролювання якості

Внутрішнє контролювання якості – це дії, які виконує персонал лабораторії для неперервного контролювання операцій та результатів аналізування, щоби визначити, чи достатньо результати достовірні для того, щоб їх можна було видавати замовникові [18, 75]. Таки дії можуть включати аналізування стабільних проб, холостих проб, еталонних розчинів або матеріалів, подібних до тих, які використовують для калібрування, проб з добавками, сліпих проб та зразків для контролювання якості [76]. Для постійного спостереження за результатами контролювання якості рекомендують застосовувати контрольні карти [76, 77]. Установлені процедури контролювання якості повинні бути доказово достатні для

забезпечення достовірності результатів. Щоб контролювати різні параметри мінливості процесу, можна застосовувати різні способи контролювання якості. Періодичне аналізування зразків для контролювання якості в аналітичній партії дає змогу виявити дрейф у системі; використовуючи різні типи холостих проб, можна визначити складові вихідного сигналу приладу, не зумовлені наявністю аналіту; повторні аналізування дають змогу перевірити збіжність.

Зразки для контролювання якості (зразки для КЯ) – це типові проби, які є достатньо стабільні та однорідні впродовж заданого періоду часу, щоб отримані на них результати були постійні (з урахуванням випадкової зміни характеристик методу), і наявні у кількості, достатній для виконання повторних аналізувань протягом певного часу. Упродовж цього періоду можна перевірити проміжну прецизійність методу, фіксуючи результати аналізування зразка для КЯ, які зазвичай наносять на контрольну карту. На карті встановлюють межі (як правило, "попереджувальні межі" встановлюють на відстані $\pm 2s$, а "межі дії" – $\pm 3s$ від середнього значення). Якщо нанесені на карту дані контролювання якості відповідають певним критеріям, пов'язаним зі встановленими межами, результати контролювання визнають задовільними. Якщо результат, отриманий на зразку для КЯ, є прийнятний, то, ймовірно, результати аналізування проб з партії, до якої було включено цей зразок, можна вважати достовірними. Прийнятність значення, отриманого на зразку для КЯ, треба перевіряти якомога раніше, наскільки це є можливо у процесі аналізування, щоб у разі виявлення проблем звести до мінімуму марні зусилля, витрачені на отримання недостовірних результатів.

Під час валідації методу отримують первинні оцінки різних показників прецизійності. Щоб установлені на контрольній карті межі були реалістичні, аналізування треба виконувати за умов, характерних для майбутнього регулярного застосування методу. Таким чином, у процесі валідації треба моделювати усі можливі зміни робочих умов: різні виконавці; зміна температури у лабораторії тощо. Якщо цього не зробити, то стандартний відхил буде занижений, і через це на карті буде встановлено такі межі, не виходити за які під час регулярного застосування методу буде неможливо. З цієї причини, як правило, установлені межі рекомендують оцінювати знову за рік або після того, як буде набрано достатню кількість результатів [76].

Використовуючи різні типи холостих проб, аналітик може вводити в обчислені значення вмісту аналіту поправки, що враховують належним чином усі складники вихідного сигналу, не пов'язані з присутністю аналіту. Багаторазове аналізування рутинних проб дає змогу виявляти зміни прецизійності аналітичного процесу, які можуть негативно

позначитися на результатах [78]. Для перевірки збіжності можна робити повтори один за одним у межах партії.

Аналізування сліпих проб фактично є формою повторного аналізування та засобом перевірки прецизійності. Сутність його полягає у тому, що до аналітичної партії включають дубльовані тестові порції (це може зробити керівник лабораторії), а називають метод так через те, що аналітик зазвичай не знає, що тестові порції є ідентичні або дубльовані. Таким чином, він не має упередженої думки про те, що конкретні результати мають бути пов'язані між собою.

Якщо еталони або матеріали, аналогічні тим, що використовують для калібрування, включити у певному порядку до аналітичної партії, це дасть змогу перевірити стабільність відгуку аналітичного процесу на вміст аналіту.

Обов'язком керівників лабораторії є встановлення та обґрунтування належного рівня контролю якості на підставі оцінки ризиків та з урахуванням надійності методу, важливості роботи, а також можливості повторного аналізування, якщо перша спроба була невдала. Загальноприйнятий рівень внутрішнього контролю якості під час рутинного аналізування становить 5 %, тобто одна з кожних 20 проаналізованих проб має бути зразком для КЯ. Проте для стійких рутинних методів з високою продуктивністю можна застосовувати нижчий рівень контролю якості. Для складних методик цей рівень іноді становить 20 %, а інколи може знадобитися контроль навіть на рівні 50 %. Якщо аналізування виконують рідко, треба кожного разу робити повну валідацію системи. Цей процес, як правило, передбачає використання стандартних зразків з атестованою або відомою концентрацією аналіту та подальше багаторазове аналізування проби та проби з добавкою (проби, до якої додали відому кількість аналіту). До аналізувань, які виконують частіше, потрібно застосовувати систематичні процедури контролювання якості із застосуванням контрольних карт та контрольних зразків.

8.3 Зовнішнє контролювання якості

Регулярна участь у програмах перевірки кваліфікації (ПК), що також називають зовнішнім оцінюванням якості (ЗОЯ) – це загальновизнаний спосіб, за допомогою якого лабораторія може контролювати показники своєї роботи та порівнювати їх як зі своїми власними вимогами, так і з показниками інших подібних лабораторій. ПК дає змогу виявити міжлабораторні відмінності (відтворюваність) та систематичні похибки (зсув).

Програми ПК та інші види міжлабораторних звірень є важливим засобом контролювання ступеня еквівалентності аналітичних результатів на національному та міжнародному рівні. Корисність цих програм визнали органи з акредитації, і вони настійно

рекомендують лабораторіям брати участь у програмах ПК/ЗОЯ як невід'ємній частині їхніх систем керування якістю [79]. Важливо постійно контролювати результати ПК як частини процедур контролювання якості та вживати, за необхідності, відповідних заходів.

Інколи органи з акредитації можуть встановлювати вимогу про участь лабораторії у конкретній програмі ПК як необхідну умову для акредитації. Очевидно, що користь від участі у ПК залежить від того, наскільки досконала є сама по собі програма ПК. Вимоги до компетентності провайдерів програм ПК установлює стандарт ISO/IEC 17043 [80]. Практичні відомості про вибір, використання та інтерпретацію програм ПК містить настанова Eurachem [81]. Інформацію про велику кількість програм можна знайти у базі даних EPTIS (www.eptis.bam.de). Проте програм, цілком придатних для нових або рідко виконуваних видів аналізу, може не бути. Ці та інші особливі випадки розглянуто у нещодавно виданій настанові [82], яка вимагає, щоб акредитовані лабораторії розробляли стратегію своєї участі у програмах ПК.

9. Виклад валідованих методів

9.1 Від проекту до остаточної версії

Метод, що підлягає валідації, реалізують згідно з документом на методику вимірювання, який слід вважати проектом доти, поки не буде затверджено протокол валідації. Коли валідацію завершено, потрібно викласти документ на аналітичну методику так, щоб метод можна було реалізувати чітко та однозначно. Це потрібно з ряду причин.

- Оцінки різних параметрів методу, отримані під час валідації, ґрунтуються на припущенні, що метод кожного разу застосовуватимуть однаково. Інакше фактичні характеристики методу не відповідатимуть значенням, розрахованим за результатами валідації. Отже, методику треба викладати так, щоб обмежити можливість внесення до методу випадкових змін.
- Належний виклад документу потрібний також для аудиту та оцінювання, і, окрім того, може бути важливим з точки зору виконання договірних або регуляторних вимог.
- Правильний виклад методу сприятиме тому, що кожного разу метод буде реалізовано однаково. Оскільки від якості документації безпосередньо залежить постійність реалізації методу, вона може вплинути на прецизійність та непевність результатів. Насправді складова частина непевності, зумовлена нечіткістю викладу методу, може бути настільки велика, що метод фактично стане непридатним до застосування. Щоб отримати розумну оцінку непевності, треба спочатку усунути усі неточності в документації.

9.2 Рекомендації

9.2.1 Перевірка правильності викладу

Правильно написати документ на метод аналізування не так просто. Інформацію треба викладати приблизно у тому порядку, в якому вона може знадобитися користувачеві. Поширена помилка – вважати, що усі розумітимуть механізм роботи методу так само добре, як і той, хто його розробив та описав. Це ризиковане припущення. Щоби перевірити правильність викладу методу, можна попросити компетентного колегу виконати усі дії, точно дотримуючись документу. Якщо ці дії відповідатимуть тому, що мав на увазі розробник, тоді документом зможуть користуватися різні аналітики та отримувати зіставні результати. В іншому разі документ треба переробити, виклавши операції більш детально та усунувши неоднозначність.

9.2.2 Рекомендації стандартів

У ряді стандартів є вказівки щодо того, яку інформацію треба включати в документи на методи. Мабуть, для хіміків найкориснішими є стандарти серії ISO 78, які містять вимоги до викладу різного роду методів хімічного аналізування (органи зі стандартизації щороку розробляють, валідують та, звичайно, документально оформлюють велику кількість методів, їм потрібні якомога більш гармонізовані підходи до цього, і вони розробляють такі стандарти, головним чином, для полегшення роботи своїх технічних комітетів). ISO 78-2 [83] містить рекомендації щодо викладу загальних хімічних методів. Структуру документу, в основі якої лежить цей стандарт, подано у Додатку А. Стандарти встановлюють логічний порядок викладення матеріалу, з рекомендованими заголовками розділів та вказівками щодо інформації, яку треба включати до кожного розділу. Користуючись цими стандартами, слід прагнути до компромісу між гнучкістю підходу та відповідністю загальній схемі. Хоча й бажано, щоб усі документи на методи було викладено в одному форматі, треба визнати, що не для усіх документів потрібний однаковий ступінь деталізації, тому у багатьох випадках до опису методу можна не включати деякі рекомендовані розділи.

9.2.3 Управління документацією

Для лабораторії, що документально оформлює свої власні методи, може бути дуже корисно розробити "внутрішній стиль". Окрім викладу необхідної інформації у логічній та зручній для користувача послідовності, він також дає змогу розподілити навантаження між декількома авторами. Проекти, розроблені декількома авторами, може перевірити на взаємну відповідність один контрольний підрозділ.

Документи на методи – це важлива частина системи керування якістю лабораторії, і їх треба належним чином контролювати. Це повинно забезпечити можливість використання лише тих методів та методик, придатність яких для застосування було підтверджено. Таким чином, документація на метод повинна містити інформацію, що дасть змогу користувачеві судити про те, чи було допущено метод до застосування і чи є він завершений. Також повинні бути зазначені номер версії та дата документу, автор, кількість зроблених копій та будь-які обмеження на копіювання.

З часом іноді виникає потреба оновити метод. Наприклад, через удосконалення технології, що лежить в його основі. Управління документацією дає змогу організовано скасовувати застарілі методи та впроваджувати оновлені. Нині процес управління документацією значно спростився завдяки спеціальному програмному забезпеченню. Вносити зміни повинен тільки уповноважений персонал. Контролювати це можна за допомогою програмного забезпечення, у якому до більшості відповідних файлів є широкий доступ у режимі "тільки для читання" і дуже обмежений – з можливістю внесення змін.

10. Використання даних валідації для обчислення та подання результатів

Аналітик повинен уміти перетворювати дані, отримані під час аналізування проб із застосуванням валідованого методу, у результати, які безпосередньо потрібні для виконання завдання замовника. Для цього можуть бути корисні характеристики, установлені під час валідації. За допомогою даних зі збіжності, проміжної прецизійності та відтворюваності можна перевірити значущість відмінностей між результатами аналізування проб. Контроль якості на основі даних валідації дає змогу підтвердити, що метод перебуває під контролем і дає значимі результати. Застосовуючи оцінку непевності вимірів, результат можна подавати у вигляді діапазону значень з прийнятим довірчим рівнем.

Для аналітика важливо мати доступ до даних валідації, за допомогою яких можна підтвердити достовірність результатів. Інше питання, чи надавати цю інформацію замовникові. Дуже часто замовник не має достатніх навичок, щоби правильно її зрозуміти. За таких обставин, імовірно, доцільно було б надавати такі дані у відповідь на запит.

У деяких ситуаціях таким питанням як валідація методу, мінливість та непевність вимірів треба приділяти особливу увагу, наприклад, у контексті правовому або судово-медичному. Краще відкрито заявляти про непевність, властиву результатам вимірів, і бути готовим обґрунтувати рішення, прийняті з урахуванням цієї непевності.

Треба бути обережним, намагаючись використати результати аналізування, включно з їхньою непевністю, для ухвалення рішення про відповідність чи невідповідність усієї партії, з якої було взято пробу, технічним вимогам або нормативам [84]. Формулювання такого висновку може не бути обов'язком аналітика, хоча можуть знадобитися його поради з технічних питань, які допоможуть в ухваленні рішення.

Подаючи результати, аналітик повинен вирішити, чи треба вводити поправки на систематичні зсуви, які могли бути виявлені, або навести результати без поправок, але визнати наявність зсуву.

Також звернемо увагу на подання результатів у формі "не виявлено". Саме по собі це твердження не несе жодної інформації, і його потрібно супроводжувати поясненням про те, якою була у даному разі межа виявлення. У певних ситуаціях варто наводити числове значення вмісту, навіть якщо воно нижче за встановлену раніше межу виявлення. Іноді регуляторні органи можуть вимагати зазначення межі кількісного визначення.

Якщо з результатом треба подавати непевність, можна наводити розширену непевність, застосувавши відповідний коефіцієнт охоплення. Наприклад, коефіцієнт охоплення, що дорівнює 2, відповідає інтервалу з довірчим рівнем близько 95 %. Детальні вказівки щодо подання непевності виміру можна знайти у розділі 9 настанови Eurachem/CITAC [22].

Додаток А. Структура опису методу

У розділі 9 цієї настанови описано, як треба документально оформлювати метод. Нижче подано типовий формат опису методу. У його основі лежить ISO 78-2 [83], але він містить деякі додаткові рекомендації щодо калібрування, контролювання якості та управління документацією. Додаток А дає лише загальну схему, яку треба застосовувати з урахуванням конкретних вимог.

А.1 Передмова

А.1.1 Відомості про зміни та перегляд

Цей структурний елемент має подвійне призначення. По-перше, він дає змогу вносити незначні зміни без повного перегляду та передрукування документу. По-друге, кожен метод рекомендують періодично переглядати для підтвердження його придатності, і запис у цьому розділі свідчить про те, що документ переглянули. Відомості зазвичай розміщують на самому початку документу, просто на передній обкладинці.

А.1.2 Зміни

Будь-які рукописні зміни у тексті методу допустимі лише за умови, що їх також занесено до поданої нижче таблиці (запис можна робити від руки) та належним чином авторизовано. Авторизація повинна свідчити про те, що вплив змін на валідацію методу було досліджено і жодних проблем вони не створили, а також те, що зміни внесено до всіх примірників документу.

№	Розділ	Зміст зміни	Дата	Авторизація
1	3.4	Змінене значення витрати 1,2 л/мін	08.02.96	DGH
.....				

А.1.3 Перегляд

Треба стежити за тим, щоби дата застосування методу завжди була в інтервалі між "датою перегляду" та "датою наступного перегляду", зазначеними у таблиці.

Дата перегляду	Результат перегляду	Дата наступного перегляду	Авторизація

А.2 Вступ

У вступі, за потреби, подають коментарі щодо технічного змісту методики, підстав для її розроблення тощо. Якщо потрібно надати супутню інформацію стосовно методу, її бажано включати до цього розділу.

A.3 Назва

Назва повинна нести інформацію про типи проб, до яких можна застосовувати метод, визначувані аналіти чи характеристики та принцип вимірювання. За можливості, назва повинна містити лише зазначені нижче елементи. Рекомендовано подавати назву у такому форматі:

Визначання А {аналіт або вимірювана величина} (у присутності В {впливні компоненти}) у С {матриця} із застосуванням D {принцип вимірювання}.

A.4 Вимоги безпеки

Зазначають усі можливі джерела небезпеки та запобіжні заходи щодо її усунення. Детально ці заходи можна описати у відповідних розділах, але привернути увагу до джерел ризику та необхідних запобіжних заходів потрібно тут. Треба належним чином попередити про будь-які ризики, пов'язані з такими чинниками:

- поводження з пробами;
- поводження з розчинниками, реактивами, стандартними зразками та іншими матеріалами або їх приготування;
- експлуатування обладнання;
- потреба в особливих умовах роботи, наприклад, необхідність використання витяжних шаф;
- наслідки виходу за встановлені параметри експерименту (межі вибуховості).

A.5 Сфера застосування

Цей розділ дає змогу швидко оцінити, чи може метод бути придатний для виконання поставленого завдання та чи є якісь обмеження. Тут треба наводити таку інформацію:

- опис вирішуваної проблеми (для чого потрібний метод);
- аналіти або вимірювані величини, які можна визначати за допомогою цього методу;
- визначувана форма аналіту – які саме форми, у яких аналіт присутній у матеріалі, можна визначити, загальний чи екстраговний його вміст тощо;
- матриці проб, у яких можна визначати аналіт;
- робочий діапазон (інтервал вимірювання), у межах якого можна застосовувати метод. Його виражають через властивості лабораторної проби, наприклад, концентрацію;
- відомі впливні компоненти, які унеможливають застосування методу або обмежують його;
- обладнання, застосоване у методі;
- найменший розмір проби.

У харчовій галузі [35] як синонім сфери застосування використовують поняття "застосовність" і визначають його як "аналіти, матриці та концентрації, до яких можна задовільно застосовувати метод аналізування".

A.6 (Нормативні) посилання

Цей розділ містить перелік документів, потрібних для застосування методу. Документи, які були лише джерелами для розроблення методу, потрібно зазначати у розділі "Бібліографія" наприкінці документу.

A.7 Визначення

У цьому розділі подають усі визначення вжитих у тексті термінів, які необхідні для повного його розуміння. За можливості слід використовувати визначення ISO. Давайте посилання на джерела. За потреби до розділу можна включати хімічні структурні формули.

A.8 Сутність методу

Зазначають основні етапи методу, принцип, який лежить в основі методики аналізування. Можна подати блок-схему або причинно-наслідкову діаграму. Розділ треба викладати так, щоби з нього можна було легко зрозуміти, як працює метод. Потрібно також пояснити принцип виконання обчислень. Якщо це потрібно для пояснення методу або обчислень, наводять деталі відповідних хімічних реакцій (наприклад, у разі застосування дериватизації або титриметрії).

Приклад: "Концентрацію вимірюють за допомогою побудованої за шістьма точками калібрувальної кривої, за якою визначають значення концентрації, що відповідає оптичній густині проби, вводять у нього поправку на холосту пробу та помножують на коефіцієнт концентрування".

A.9 Реакції

Розділ повинен містити інформацію про основні реакції, якщо це потрібно для кращого розуміння тексту або обчислень. За допомогою рівнянь реакцій можна обґрунтувати розрахунки, які виконують за експериментальними даними, та краще пояснити метод, особливо якщо мають місце декілька послідовних змін ступеня окислення визначуваного елементу. Для методу титрування рівняння реакції особливо корисні тим, що показують число еквівалентів в одному молі реагенту.

A.10 Реактиви та матеріали

У цьому розділі наводять перелік усіх реактивів і матеріалів, необхідних для аналізування, та їхні основні характеристики (концентрація, густина тощо). Потрібно зазначати:

- реєстраційні номери CAS (за наявності);
- відомості про будь-яку небезпеку, пов'язану з реактивами і матеріалами, та інструкції щодо їх утилізації;
- клас реактиву або його чистоту;
- необхідність брати матеріали для калібрування та для контролювання якості з незалежних партій;
- деталі приготування, у тому числі необхідність готувати реактиви заздалегідь;
- вимоги до упаковки та зберігання;
- термін придатності первинного матеріалу та приготованого реактиву;
- потрібний склад із зазначенням виду концентрації чи іншої величини;
- вимоги до маркування.

A.11 Обладнання

Потрібно описати кожен одиницю обладнання та спосіб їх з'єднання достатньо детально, щоби виключити будь-яку неоднозначність під час збирання установки. Пронумеруйте їх, щоби далі можна було посилатися на номери. Для більшої ясності можна використовувати діаграми та блок-схеми. Усі перевірки функціонування зібраної апаратури потрібно описати у підрозділі "Попередній дослід" або "Пробний дослід" розділу "Вимірювання" (див. A.13).

У розділі зазначають граничні допустимі значення характеристик обладнання та вимоги до його верифікації з посиланнями на розділ "Калібрування" (див. A.13) та усю необхідну експлуатаційну документацію. Коли це потрібно, дають посилання на міжнародні стандарти чи інші міжнародно визнані документи на лабораторний посуд та обладнання. До цього розділу також включають вимоги до засобів забезпечення належних умов вимірювання (витяжні шафи тощо).

A.12 Взяття проб

Тут ідеться про взяття проб загалом, що охоплює як процес отримання лабораторної проби, так і проміжне взяття з лабораторної проби тестового зразка, з якого відбирають тестову порцію.

Якщо процес взяття проби та приготування лабораторної проби не залежить від хімічного аналізування як такого, то, як правило, достатньо дати посилання на методику, що описує конкретно взяття проби. Якщо відповідної методики немає, розділ "Взяття проб" може містити план та методику взяття проб, включно із вказівками щодо того, як уникнути зміни складу матеріалу та врахувати вимоги до застосування статистичних методів.

Цей розділ повинен містити усю інформацію, необхідну для приготування тестового зразка з лабораторної проби. Треба зазначити умови зберігання, кондиціювання (попереднього оброблення) та утилізації проб. Якщо етап взяття проб достатньо складний, можна скласти окремий документ з детальними інструкціями.

A.13 Вимірювання

Розділ повинен містити послідовний опис усіх операцій. Якщо метод уже описано в іншому стандарті, тоді пишуть "застосувати метод, установлений ISO 12345" чи "застосувати один із методів, установлених ISO 12345" та зазначають, за потреби, будь-які зміни у методі. Потрібно звернути увагу на операції, які вимагають особливих заходів безпеки. Розділ "Вимірювання", як правило, містить підрозділи, які описують такі елементи та етапи методики:

- тестова порція (її приготування з тестової проби чи лабораторної проби та потрібна маса чи об'єм);
- досліди з холостими пробами (умови та обмеження);
- попередній або пробний дослід (наприклад, щоби перевірити характеристики вимірювального приладу);
- вимірювання чи випробування. Зазначають кількість вимірень чи випробувань (наприклад, "повторити двічі") та детально описують усі етапи;
- калібрування. Визначають найважливіші етапи аналітичного процесу. Правильність їх виконання забезпечують за рахунок точного дотримання методики та калібрування. Дають посилання на відповідні розділи, описані вище. Наводять вказівки щодо калібрування приладів – що треба калібрувати, як, чим і як часто. Необхідно звернути увагу на належну метрологічну простежуваність калібраторів.

A.14 Розрахунки

У розділі описують, як треба обчислювати результати. Подають інформацію про одиниці, у яких потрібно виражати результати вимірень та інші величини; рівняння, за яким роблять обчислення; значення символів, застосованих у рівнянні; кількість десяткових знаків

або значущих цифр, з якою треба подавати результат. Символи величин повинні відповідати ISO 80000 [14].

A.15 Прецизійність

Якщо для методу проводили міжлабораторні звірення, треба навести дані щодо прецизійності (тобто збіжності та відтворюваності). Дані щодо прецизійності повинні бути розраховані (та, бажано, опубліковані) згідно з відповідною частиною ISO 5725 або іншим відповідним міжнародним стандартом (на який треба дати посилання). Потрібно чітко зазначати, у якій формі подано прецизійність – абсолютній чи відносній, та чи подано її як межі прецизійності.

A.16 Забезпечення якості та контролювання якості

Одним з результатів валідації має бути опис необхідних процедур внутрішнього та зовнішнього (перевірка кваліфікації) контролювання якості. Потрібно пояснити, у якій формі здійснюють контролювання якості, зазначити частоту операцій контролювання якості під час аналізування партії, критерії прийнятності результатів, дії, які треба виконати за негативного результату. Дайте посилання на відповідні описані вище розділи.

A.17 Особливі випадки

Зазначають усі зміни, які необхідно вносити до методики за наявності або відсутності певних компонентів у продукті, що підлягає аналізуванню. Про ці зміни вже мало бути сказано вище у розділі "Сфера застосування". Кожен особливий випадок треба подавати під своїм заголовком.

A.18 Протокол випробування

Цей розділ повинен містити перелік інформації, яку треба включати до протоколу випробування. Як правило, подають такі дані:

- посилання на застосований метод;
- результати та, коли це застосовно, відповідні показники якості вимірів (прецизійність, непевність, довірчий інтервал), включно з посиланням на розділ "Розрахунки";
- будь-які відхилення від методики;
- будь-які помічені незвичайні особливості;
- дата випробування.

A.19 Додатки

Щоб полегшити сприйняття, деяку інформацію зручніше подавати у додатках. Треба чітко зазначати, який це є додаток – нормативний чи довідковий. У додатки, наприклад, можна винести дані, отримані під час валідації методу, аналіз ризиків та обчислення непевності. Щодо останньої потрібно зазначити основні складники непевності, властиві методу, та навести їхні установлені значення. Слід згадати також несуттєві складники, не враховані в остаточному розрахунку. Треба зазначити сумарну стандартну непевність та/або розширену непевність і пояснити, як її обчислювали. Детальніший розрахунок можна навести в окремому документі, на який дають посилання.

A.20 Бібліографія

Якщо потрібні посилання на джерела інформації, їх можна давати безпосередньо у тексті, або, коли їх є декілька, у бібліографії наприкінці документу.

Додаток В. Статистичне обґрунтування розрахунку межі виявлення*

У "Стислій довідці 2" у розділі 6.2.3 зазначено, що межу виявлення (LOD) можна обчислити, помноживши відповідний стандартний відхил на коефіцієнт, що дорівнює 3. У цьому додатку подано статистичне обґрунтування цього коефіцієнта.

Зазвичай LOD визначають для того, щоб встановити найнижчу концентрацію аналіту, наявного у пробі, яку можна виявити за допомогою даної методики вимірювання із заданою довірчою ймовірністю. Визначення LOD включає два етапи. Спочатку визначають "критичне значення". Це значення встановлюють таким чином, щоб за реальної відсутності аналіту в пробі ймовірність отримання виміряного значення, що перевищує критичне значення, була не більше ніж α . Перевищення критичного значення є підставою для визнання проби "позитивною". Як правило, задають ймовірність хибно позитивного рішення на рівні $\alpha = 0,05$; з цього випливає, що критичне значення дорівнює приблизно $1,65s$ (де s – стандартний відхил великої кількості результатів для холостої проби або проби з низьким вмістом аналіту, а $1,65$ – значення одностороннього коефіцієнта Стюдента t для нескінченного числа ступенів свободи за рівня значущості $\alpha = 0.05$). Критичне значення найзручніше виражати через концентрацію речовини, хоча, у принципі, його можна виразити через будь-яку спостережувану величину, наприклад, площу піку. Кожен результат, що перевищує критичне значення, повинен бути визнаний позитивним.

Проте, якщо істинне значення вмісту речовини у пробі точно дорівнювало би критичному значенню (вираженому як концентрація), то треба було б очікувати, що приблизно половина виміряних значень будуть менші за критичне значення, і тоді частка хибно негативних результатів становитиме 50 %. Очевидно, що частка хибно негативних результатів на рівні 50 % є занадто висока для практичного застосування; метод не дає змоги надійно отримувати результати, більші за критичне значення, якщо концентрація дорівнює критичному значенню. LOD визначають як таку істинну концентрацію, для якої за встановленого критичного рівня частка хибно негативних результатів буде прийнятна. Історично склалося так, що ймовірність хибно негативних результатів β приймають рівною ймовірності хибно позитивних результатів (IUPAC рекомендує значення за умовчанням $\alpha = \beta = 0,05$ [49]). Якщо $\alpha = \beta = 0.05$, то LOD повинна бути на $1,65s$ більша за значення, визначене як критичне. Таким чином, якщо $\alpha = \beta = 0,05$, коефіцієнт для обчислення LOD

* Текст складено на основі настанови Eurachem з термінології аналітичного вимірювання [8].

буде дорівнювати $1,65 + 1,65 = 3,3$. Це значення часто округлюють, і тоді, як показано у "Стислій довідці 2", LOD обчислюють як $3s$. Цей підхід ґрунтується на деяких наближеннях, описаних у літературі [49].

Множник 3, розрахований в попередньому абзаці, отримано з одностороннього коефіцієнта Стюдента t для нескінченного числа ступенів свободи з округленням до однієї значущої цифри. Для статистично строгої оцінки LOD коефіцієнт повинен враховувати число ступенів свободи, пов'язане з оцінкою s . Наприклад, якщо s отримують з 10 повторних спостережень, коефіцієнт Стюдента для $\alpha = 0,05$ дорівнює 1,83 (9 ступенів свободи). У цьому разі LOD дорівнюватиме $3,7s$.

Додаток С. Дисперсійний аналіз (ANOVA)

В основі "дисперсійного аналізу" (ANOVA) лежить така основна ідея: якщо дані з сукупності результатів багаторазових спостережень можна згрупувати певним чином, наприклад, за виконавцями, приладами, датами, лабораторіями, методами тощо, сумарну дисперсію усієї сукупності можна представити як об'єднання міжгрупової та внутрішньогрупових дисперсій (s^2). ANOVA можна застосувати для оцінювання результатів такого типу експериментального дослідження, як показаний на рис. С.1. За таким "гніздовим планом" багаторазові вимірення (як правило, за умов збіжності) повторюють у різних серіях та отримують p груп даних. Щоб оцінити проміжну прецизійність за результатами такого дослідження, його виконують за максимально можливою відмінністю умов між серіями (різні дні, різні виконавці тощо).

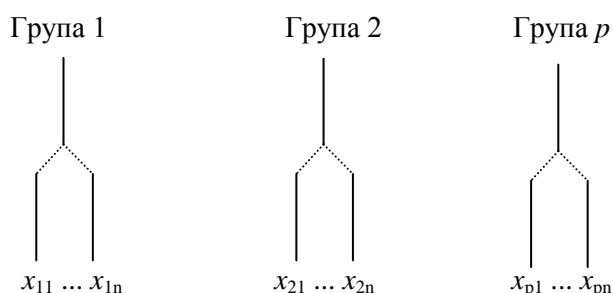


Рис. С1. Приклад "гніздового плану" експерименту, за допомогою якого можна оцінити різні показники прецизійності із застосуванням ANOVA

На рис. С.2 показано загальний вигляд таблиці однофакторного ANOVA для сумарної кількості результатів N у p групах з числом спостережень n та числом ступенів свободи ν . Рядки таблиці відповідають окремим складникам дисперсії. Перший рядок містить дисперсію між середньогруповими значеннями, другий – внутрішньогрупову дисперсію і третій – дисперсію сукупності даних у цілому. Електронні таблиці та статистичне програмне забезпечення дають також значення F , критичне значення F та відповідне значення ймовірності P .

Складники дисперсії	Сума квадратів (SS)	ν	Середній квадрат (MS)	F	P	F_{crit}
Міжгрупова	SS_b	$p - 1$	$MS_b = SS_b / (p - 1)$	MS_b / MS_w		
Внутрішньогрупова (залишки)	SS_w	$N - p$	$MS_w = SS_w / (N - p)$			
Сумарна	$SS_{tot} = SS_b + SS_w$	$N - 1$				

Рис. С2. Структура таблиці однофакторного ANOVA

Показники міжгрупової дисперсії майже завжди або називають "міжгруповими", або позначають за чинником групування (наприклад, виконавець, дата чи лабораторія). Стосовно внутрішньогрупової дисперсії у програмному забезпеченні, підручниках тощо вживають різні терміни, з яких найчастіше трапляються "внутрішньогрупова дисперсія", "дисперсія залишків", "дисперсія похибки" та "дисперсія вимірів".

За припущення, що "гніздовий план", зображений на рис. С.1, реалізували в одній лабораторії, багаторазові вимірення у кожній групі виконували за умов збіжності та умови аналізування різнилися між групами, збіжність і проміжну прецизійність можна розрахувати таким чином:

1. Стандартний відхил збіжності s_r обчислюють як квадратний корінь з внутрішньогрупового середнього квадрата, що характеризує внутрішньогрупову дисперсію:

$$s_r = \sqrt{MS_w} \quad (C1)$$

2. Внесок до сумарної дисперсії від чинника групування (s_{between}) також отримують з таблиці ANOVA :

$$s_{\text{between}} = \sqrt{\frac{MS_b - MS_w}{n}} \quad (C2)$$

3. Проміжну прецизійність s_I можна обчислити, об'єднавши зазначені вище складники від внутрішньогрупової та міжгрупової дисперсії:

$$s_I = \sqrt{s_r^2 + s_{\text{between}}^2} \quad (C3)$$

Експеримент, про який ішлося у розділі 6.6.4, можна проілюструвати таким чином. У рамках валідації методу, яку проводили в одній лабораторії, виконували повторні вимірення впродовж кожного з восьми днів (Таблиця С1). Щоб відтворити умови регулярного застосування методу, впродовж кожного дня вимірення виконували за умов збіжності, але у різні дні це робили різні аналітики, застосовували різне обладнання тощо.

Таблиця С1. Приклад плану експерименту, що дає змогу оцінити збіжність та проміжну прецизійність за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з прийнятним числом ступенів свободи

День	1		2		3		4		5		6		7		8	
Результат	$x_{1,1}$	$x_{1,2}$	$x_{2,1}$	$x_{2,2}$	$x_{3,1}$	$x_{3,2}$	$x_{4,1}$	$x_{4,2}$	$x_{5,1}$	$x_{5,2}$	$x_{6,1}$	$x_{6,2}$	$x_{7,1}$	$x_{7,2}$	$x_{8,1}$	$x_{8,2}$

Однофакторний ANOVA дає змогу відокремити дисперсію, властиву методу (збіжність), від дисперсії, зумовленої відмінностями умов вимірювання, тобто різними аналітиками, обладнанням, тривалим проміжком часу (проміжна прецизійність). Відзначимо

що за такого підходу неможливо зробити висновок про те, який саме чинник – аналітик, обладнання або час – робить найбільший внесок у проміжну прецизійність, але на етапі валідації це зазвичай не потрібно.

Застосувавши однофакторний ANOVA до даних, поданих у таблиці C1, ми отримаємо результати, аналогічні показаним на рис. C2. Значення F , критичного F та P дають змогу безпосередньо судити про те, чи істотно дисперсія результатів, отриманих у різні дні, перевищує дисперсію результатів, отриманих протягом одного дня. Значення двох показників прецизійності (s_r та s_I) можна легко обчислити за поданими вище формулами (C1) – (C3). Число ступенів свободи (v) для s_r буде дорівнювати $N - p = 16 - 8 = 8$. Значення v для проміжної прецизійності визначити складніше, але воно буде не менше ніж $p - 1$, тобто не менше 7 у цьому разі (див. рис. C.2). Як результат ми маємо розумний компроміс між докладеними зусиллями та непевністю оцінок прецизійності.

Додаток D. Зауваги щодо якісного аналізу

Якісний аналіз ґрунтується на тих самих принципах, що й кількісний аналіз, але для описання властивостей якісного методу та інтерпретації результатів потрібно використовувати спеціальні поняття. У цьому додатку подано стислу інформацію про якісний аналіз та дано вказівки щодо визначання характеристик методів.

IUPAC дає таке визначення якісного аналізу: *аналіз, за якого речовини ідентифікують або класифікують за їхніми хімічними або фізичними властивостями, такими як хімічна активність, розчинність, молекулярна маса, температура плавлення, випромінювальні властивості (випромінювання, поглинання), мас-спектри, період напіврозпаду ядра тощо [17].* Це означає, що результати виражають за номінальною шкалою, що є нижчим рівнем подання порівняно зі шкалою відношень. З цієї причини якісний аналіз рекомендують виконувати замість кількісного, головним чином, для попереднього дослідження із застосуванням недорогих методів або коли концентрація аналіту близька до межі виявлення (LOD).

По суті, "якісний метод" дає відповідь "так" або "ні" на питання про перевищення заданої порогової концентрації аналіту [55]. Під час валідації визначають порогову концентрацію для **класифікації/діагностування стану**, наприклад, наявності або відсутності забрудника у воді згідно з директивою, законом тощо, які встановлюють, яка повинна бути порогова концентрація.

Найкращий спосіб схарактеризувати властивості якісного методу – застосувати кількісний метод з більш високими метрологічними характеристиками, наприклад, нижчою LOD, (підтверджувальний метод), що дає змогу визначити дійсний стан об'єкта. Властивості якісного методу треба визначати для різних значень концентрації – нижчих, рівних та вищих за порогову. Застосування підтверджувального кількісного методу є кращий спосіб порівняно із застосуванням холостих проб з добавками та без добавок.

Для якісних методів прецизійність не можна представити як стандартний відхил або відносний стандартний відхил, але можна виразити через частку істинно позитивних, хибно позитивних, істинно негативних та хибно негативних результатів [55, 85, 86, 87]. (Див. рис. D.1).

	Проби, у яких концентрація вища за порогову	Проби, у яких концентрація нижча за порогову	
Позитивний результат	Істинно позитивні результати	Хибно позитивні результати (помилка 1-го роду)	Загальна кількість позитивних результатів
Негативний результат	Хибно негативні результати (помилка 2-го роду)	Істинно негативні результати	Загальна кількість негативних результатів
	Загальна кількість проб, у яких концентрація вища за порогову	Загальна кількість проб, у яких концентрація нижча за порогову	

Рис. D1. Таблиця 2 × 2, яку використовують для обчислення частки хибно позитивних та хибно негативних результатів

"Діагностична чутливість" – це відносне число проб, що перебувають у певному визначуваному стані (наприклад, у них концентрація аналіту перевищує порогову), для яких результат якісного випробування був позитивний. Діагностична чутливість є найголовніша властивість якісного методу, що характеризує його здатність до виявлення невеликої кількості аналіту в пробі з видаванням бінарної відповіді "так/ні" за заданого рівня ймовірності.

$$\text{Діагностична чутливість} = \frac{\text{число істинно позитивних результатів}}{\text{сумарне число проб у визначуваному стані}} \quad (D1)$$

"Діагностична специфічність" – це відносне число проб, що не перебувають у визначуваному стані (наприклад, у них концентрація аналіту нижча за порогову), для яких результат якісного випробування був негативний.

$$\text{Діагностична специфічність} = \frac{\text{число істинно негативних результатів}}{\text{сумарне число проб не у визначуваному стані}} \quad (D2)$$

За можливості треба використовувати результати порівняння з підтверджувальним методом. Якщо таких даних немає, можна вдатися до аналізування холостих проб з добавками та без добавок.

Важливими параметрами якості визначення у якісному аналізі є LOD та мінімальне порогове значення (рис. D.2). LOD визначають так само, як і у кількісному аналізі: це концентрація аналіту, за якої сигнал буде статистично відмінний від середнього значення сигналу для відповідних холостих проб. Мінімальне порогове значення, якщо його визначити правильно, – це таке значення концентрації, за перевищення якого частка хибно

негативних результатів буде малою – відповідно до заданої ймовірності. Під час валідації перевіряють мінімальне порогове значення, зазначене у документі на методику.



Рис. D2. Два кількісні параметри, з якими пов'язаний бінарний результат кваліфікаційного/класифікаційного якісного аналізу: 1. Межа виявлення (LOD), властива даному методу. 2. Мінімальне порогове значення, зазначене у документі на методику. Вони показані на уявній шкалі зростання концентрації. Мінімальне порогове значення, яке лежить у зоні виявлення вище межі виявлення, дає змогу виділити зони концентрації компонента, у яких буде отримано правильний бінарний результат, тобто "ні" для значень, нижчих за межі та "так" – для значень, вищих за межі.

У якісному аналізі використовують також деякі інші поняття (Таблиця D1). **Прогностична цінність** результатів може бути тим більша, чим більш поширені є випадки перевищення порогового значення концентрації у пробах, досліджуваних за допомогою якісного методу, а дані про поширеність можна отримати, наприклад, за допомогою інших джерел інформації, відмінних від якісного хімічного методу. Це дасть змогу істотно збільшити практичну цінність методу якісного визначення.

Селективність якісного методу є якісне поняття – це ступінь того, як компоненти, відмінні від цільового аналіту, впливають на результати аналізування. Цю надзвичайно важливу рису методу також можна визначити як здатність забезпечувати результати, на які не впливає матриця. Чим вище селективність, тим більша є достовірність ідентифікації та класифікації проби.

Таблиця D1. Визначення та формули для обчислення показників, що характеризують діагностичні властивості методів вимірювання, у тому числі якісних методів

Показник (символ)	Опис	Формула
Відношення правдоподібності позитивного результату (<i>LR+</i>)	Відношення частки істинно позитивних результатів до частки хибно позитивних результатів.	$LR+ = \frac{\text{діагностична чутливість}}{1 - \text{діагностична специфічність}}$
Відношення правдоподібності негативного результату (<i>LR-</i>)	Відношення частки хибно негативних результатів до частки істинно негативних результатів.	$LR- = \frac{1 - \text{діагностична чутливість}}{\text{діагностична специфічність}}$
Діагностичне відношення ймовірностей (<i>DOR</i>)	Об'єднує діагностичну чутливість, діагностичну специфічність та відношення правдоподібності у єдиний параметр.	$DOR = LR+ / LR -$
Прогностична цінність позитивного результату (<i>PPV</i>)	Частка істинно позитивних результатів якісного дослідження у загальному числі позитивних результатів. Враховує поширеність визначуваного стану у цільовій сукупності проб.	$PPV = \frac{\text{число істинно позитивних}}{\text{загальне число позитивних}}$
Прогностична цінність негативного результату (<i>NPV</i>)	Частка істинно негативних результатів якісного дослідження у загальному числі негативних результатів. Враховує поширеність визначуваного стану у цільовій сукупності проб.	$NPV = \frac{\text{число істинно негативних}}{\text{загальне число негативних}}$

Бібліографія

(Поточні оновлення найважливіших джерел можна знайти у "Списку для читання Eurachem" ("The Eurachem reading list"), розміщеному в розділі "Публікації" ("Publications") на сайті Eurachem www.eurachem.org.)

1. ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO Geneva.
2. ISO 15189:2012 Medical laboratories - Requirements for quality and competence, ISO Geneva.
3. ISO 15195:2003 Laboratory medicine - Requirements for reference measurement laboratories, ISO Geneva.
4. J. N. Miller, Basic statistical methods for analytical chemistry. Part 2. Calibration and regression methods. A review, *Analyst*, 1991, 116, 3.
5. J. C. Miller, J. N. Miller, Statistics and chemometrics for analytical chemistry, 6th ed., Pearson, Harlow, 2010, ISBN 978-0-273730422.
6. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, T. J. Duguid Farrant, Practical statistics for the analytical scientist. A bench guide, 2nd ed., RSC Publishing, Cambridge, 2009, ISBN 978-0-85404-131-2.
7. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2012, www.bipm.org. A previous version is published as ISO/IEC Guide 99: 2007, ISO Geneva.
8. V. J. Barwick, E. Prichard (eds.), Eurachem Guide: Terminology in analytical measurement – Introduction to VIM 3, Eurachem, 2011, ISBN 978-0-948926-29-7, www.eurachem.org.*
9. ISO 9000:2005 Quality management systems - Fundamentals and vocabulary, ISO Geneva.
10. ISO 9001:2008 Quality management systems – Requirements, ISO Geneva.
11. ISO online browsing platform (OBP), <https://www.iso.org/obp/ui/>.
12. M. Thompson, S. L. R. Ellison, R. Wood, Harmonized guidelines for single – laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 2002, **74**(5), 835.
13. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1), ICH harmonised tripartite guideline, 2005, www.ich.org.

* Переклад українською мовою: Термінологія аналітичного вимірювання. Вступ до VIM 3: за ред. В. Барвік та Е. Прічард: переклад першого видання настанови Eurachem 2011 р. – К.: ТОВ "Юрка Любченка", 2015. – 82 с., ISBN 978-617-7221-09-7, www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/TAM_2011-UA2dISBN.pdf (прим. перекладача)

14. ISO 80000-1:2009 Quantities and units – Part 1: General, ISO Geneva.
15. M. H. Ramsey and S. L. R. Ellison (eds.), Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches, Eurachem, 2007, ISBN 978-0-948926-26-6, www.eurachem.org *.
16. AMC technical brief No. 19, March 2005, M. Thompson (ed.), Terminology – the key to understanding analytical science. Part 2: Sampling and sample preparation, www.rsc.org.
17. Compendium of chemical terminology (IUPAC Gold Book), www.iupac.org.
18. Compendium of analytical nomenclature (IUPAC orange book), www.iupac.org.
19. Method validation of U.S. Environmental Protection Agency microbiological methods of analysis. Prepared for The EPA forum on environmental measurements(FEM). The FEM Microbiology Action Team, FEM Document Number 2009-01, 7 Oct., 2009.
20. ISO 10012:2003 Measurement management systems – Requirements for measurement processes and measuring equipment, ISO Geneva.
21. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM), JCGM 100:2008 (corrected version 2010), www.bipm.org. Printed as ISO/IEC Guide 98-3:2008, ISO Geneva.
22. S. L. R. Ellison, A. Williams (eds.), Eurachem/CITAC Guide CG4: Eurachem/CITAC, Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd ed., Eurachem, 2012, www.eurachem.org.
23. Guide to method validation for quantitative analysis in chemical testing laboratories, INAB Guide
24. CLSI, User verification of performance for precision and trueness; Approved guideline – 2nd ed. CLSI document EP15 - A2. Wayne PA, Clinical and Laboratory Standards Institute 2005, www.clsi.org.
25. AOAC Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis, 2002, www.aoac.org.
26. Protocol for the design, conduct and interpretation of method – performance studies, (IUPAC technical report), Pure Appl. Chem., 1995, **67**(2), 331.
27. ASTM E1601-12 Standard practice for conducting an interlaboratory study to evaluate the performance of an analytical method, 2012, www.astm.org.

* Переклад російською мовою: Руководство Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC "Неопределенность измерения, связанная с отбором пробы. Руководство по методам и подходам": под ред. М. Рэмзи и С. Эллисона: перевод первого издания 2007 г. – К.: ООО "Юрка Любченка", 2015. – 156 с., ISBN 978-617-7221-08-0, www.metrology.kiev.ua/mizhnarodna-metrologiya/pereklad-mizhnarodnikh-dokumentiv (прим. перекладача)

28. CEN/TR 10345:2013 Guideline for statistical data treatment of inter laboratory tests for validation of analytical methods, CEN Brussels.
29. ISO 5725 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Parts 1-6, ISO Geneva.
30. ISO Guide 30:1992/Amd 1:2008 Terms and definitions used in conjunction with reference materials, ISO Geneva.
31. M. Thompson, P. J. Lowthian, Notes on statistics and data quality for analytical chemists, Imperial College Press, 2011, ISBN 978-1848166172.
32. E. Mullins, Statistics for the quality control chemistry laboratory, RSC, Cambridge, 2003, ISBN 978-0-854074-671-3.
33. W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, Quality assurance in analytical chemistry: Applications in environmental, food, and materials analysis, biotechnology, and medical engineering, 2nd ed., Wiley - VCH, Weinheim, 2006, ISBN 978-3-527-31114-9.
34. A. Kallner, Laboratory statistics. Handbook of formulas and terms(1st ed.), Elsevier, 2013, ISBN 978-0-12-416971-5.
35. Codex Alimentarius Commission, Procedural manual 21st ed., 2013.
36. Council Directive 98/83/EC (3 November 1998) on the quality of water intended for human consumption.
37. Commission Directive 2009/90/EC (31 July 2009) laying down, pursuant to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council, technical specifications for chemical analysis and monitoring of water status.
38. Commission Decision 2002/657/EC (12 August 2002) implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
39. SANCO/12571/2013 (19 Nov. 2013) Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.
40. AMC technical brief No. 17, July 2004, M. Thompson (ed.), The amazing Horwitz function, www.rsc.org.
41. Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), Pure Appl. Chem., 2001, **73**(8), 1381.
42. NATA – Technical report#17 – Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative methods, 2012.
43. E. Theodorsson, Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry, Bioanalysis, 2012, **4**(3), 305.
44. AMC technical brief No. 37, March 2009, M. Thompson (ed.), Standard additions: myth and reality, www.rsc.org.

45. ISO 11843-1:1997/Cor 1:2003 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions, ISO Geneva.
46. ISO 11843-2:2007 Capability of detection – Part 2: Methodology in the linear calibration case, ISO Geneva.
47. ISO 11843-3:2002 Capability of detection – Part 3: Methodology for determination of the critical value for the response variable when no calibration data are used, ISO Geneva.
48. ISO 3534 Statistics – Vocabulary and symbols – Parts 1-3, ISO Geneva.
49. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995), *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**, 1699.
50. L. A. Currie, *Detection in analytical chemistry – Importance, theory, and practice*, ACS Symposium Series 361, American Chemical Society, Washington, DC 1988.
51. Analytical Methods Committee, Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit, *Analyst*, 1987, **112**, 199.
52. A. Shrivastava, V. B. Gupta, *Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods*, *Chronicles of Young Scientists*, 2011, **2**(1), 21.
53. United States Pharmacopeia, *Validation of compendial methods*, 26th revision, National Formulary, 21st ed. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention Inc., 2003.
54. Commission Regulation (EC) No 333/2007 (28 March 2007) laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3 - MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs, *Off. J. EU*, L 88/29, 29 March 2007.
55. M. Valcarcel, S. Cardenas, D. Barcelo et al., *Metrology of qualitative chemical analysis*, report EUR 20605 EN, European Commission, 2002, ISBN 92-894-5194-7.
56. H. Sahai, R. P. Singh, The use of R^2 as a measure of goodness of fit: An overview, *Virginia Journal of Science*, 1989, **40**(1), 5.
57. Analytical Methods Committee, Uses (proper and improper) of correlation coefficients, *Analyst*, 1988, **113**, 1469.
58. ISO 11732:2005 Water quality – Determination of ammonium nitrogen - Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection, ISO Geneva.
59. A. Menditto, M. Patriarca, B. Magnusson, Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision, *Accred. Qual. Assur.*, 2007, **12**, 45.
60. D. T. Burns, K. Danzer, A. Townshend, Use of the terms "recovery" and "apparent recovery" in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002), *Pure Appl. Chem.*, 2002, **74**(11), 2201.

61. S. L. R. Ellison, B. King, M. Rosslein, M. Salit, A. Williams (eds.), Eurachem/CITAC Guide Traceability in chemical measurement. A guide to achieving comparable results in chemical measurement, 1st ed, Eurachem, 2003, www.eurachem.org.

62. P. De Bievre, R. Dybkaer, A. Fajgelj, D. Brynn Hibbert, Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation (IUPAC Technical Report), Pure Appl. Chem., 2011, **83**(10), 1873*.

63. AMC technical brief No. 21, Sept. 2008, M. Thompson(ed.), The estimation and use of recovery factors, www.rsc.org.

64. ISO Guide 33:2000 Uses of certified reference materials, ISO Geneva.

65. T. Linsinger, Application note 1, Rev. 3 2010. Comparison of a measurement result with the certified value, www.erm-crm.org.

66. B. Magnusson, T. Naykki, H. Hovind, M. Krysell, Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, Nordtest Report TR 537 (ed. 3.1) 2012, www.nordtest.info.

67. ISO 21748:2010 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation, ISO Geneva.

68. Eurolab, Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Technical report No. 1/2007, www.eurolab.org.

68. Eurolab, Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Technical report No. 1/2007, www.eurolab.org.

69. S. L. R. Ellison, A. Williams, Measurement uncertainty: the key to the use of recovery factors? From "The use of recovery factors in trace analysis", M. Parkany (ed.), RSC, Cambridge, 1996.

70. V. J. Barwick, S. L. R. Ellison, Measurement uncertainty: approaches to the evaluation of uncertainties associated with recovery, Analyst, 1999, **124**, 981.

71. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, Estimating measurement uncertainty: Reconciliation using a cause and effect approach, Accred. Qual. Assur., 1998, **3**, 101-105.

72. G. E. O'Donnell, D. B. Hibbert, Treatment of bias in estimating measurement uncertainty, Analyst, 2005, **130**, 721.

73. B. Magnusson, S. L. R. Ellison, Treatment of uncorrected measurement bias in uncertainty estimation for chemical measurements, Anal. Bioanal. Chem., 2008, **390**, 201.

* Переклад російською мовою: Поль Де Бивр, Рене Дибкер, Алеш Файгель, Д. Бринн Гибберт, Метрологическая прослеживаемость результатов измерений в химии: понятия и реализация (Технический отчет IUPAC), www.metrology.kiev.ua/mizhnarodna-metrologiya/pereklad-mizhnarodnikh-dokumentiv (прим. перекладача)

74. W. J. Youden, E. H. Steiner, *Statistical Manual of the AOAC*, AOAC International, 1975, ISBN 0-935584-15-3.
75. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**(4), 649.
76. H. Hovind, B. Magnusson, M. Krysell, U. Lund, and I. Makinen, *Internal quality control – Handbook for chemical laboratories*, Nordtest technical report 569, 4th ed., 2011, www.nordtest.info.
77. ISO 7870 Control charts – Parts 1-5, ISO Geneva.
78. AMC technical brief No. 9, Feb. 2002, M. Thompson(ed.), A simple fitness-for-purpose control chart based on duplicate results obtained from routine test materials, www.rsc.org.
79. ISO/IEC 17011:2004 Conformity assessment – General requirements for accreditation bodies accrediting conformity assessment bodies, ISO Geneva.
80. ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment – General requirements for proficiency testing, ISO Geneva.
81. I. Mann, B. Brookman (eds.), *Eurachem Guide: Selection, use and interpretation of proficiency testing (PT) schemes by laboratories*, 2nd ed., Eurachem, 2011, www.eurachem.org.
82. EA - 4/18 TA, *Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation*, European co-operation for Accreditation, 2010, www.european-accreditation.org.
83. ISO 78-2:1999 Chemistry – Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis, ISO Geneva.
84. S.L.R. Ellison, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide: Use of uncertainty information in compliance assessment*, Eurachem, 2007, www.eurachem.org.
85. R. R. Galen, S. R. Gambino, *Beyond normality: The predictive value and efficiency of medical diagnoses*, John Wiley and Sons, 1975, ISBN 978-0471290476.
86. M. S. Pepe, *The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction*, Oxford University Press, Oxford, 2003, ISBN 978-0-19-850984-4.
87. X-H. Zhou, N.A. Obuchowski, D.K. McClish, *Statistical methods in diagnostic medicine*, 2nd ed., Wiley-Interscience, New York, 2011, ISBN 978-0-470-18314-4.

**Придатність аналітичних методів
для конкретного застосування
Настанова для лабораторій з валідації методів
та суміжних питань**

Формат 60×84/8

Умовн. друк. арк. 10.7

Обл.-вид. арк. 7.11

Папір офсетний. Гарнітура Times

Підписано до друку 23.02.2016

Тираж 95 пр.

Видано ТОВ "Юрка Любченка"

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру видавців,

виготовників і розповсюджувачів

видавничої продукції серії ДК № 4685 від 6.03.2014

e-mail – u19-07@ukr.net, тел. 098-444-06-68

м. Київ, вул. Дехтярівська, 25а

