

Планирование и отчётность исследований по методам валидации

**Дополнение к руководству Eurachem по
пригодности аналитических методов для
конкретного применения**

Первое издание 2019

Планирование и отчётность исследований по методам валидации

Дополнение к руководству Eurachem по пригодности аналитических методов для конкретного применения

Первое издание 2019

Благодарность

Данный документ разработан рабочей группой Eurachem по валидации методов.
Список разработчиков этого дополнения приведён ниже.

Разработка этого дополнения частично финансировалось Министерством бизнеса, энергетики и промышленной стратегии правительства Великобритании (BEIS).

Рабочая группа проекта

Vicki Barwick (редактор)	LGC (Великобритания)
Burcu Biniçi	UME (Турция)
Helen Cantwell	The State Laboratory (Ирландия)
John Clancy	Henkel Ireland (Ирландия)
Pieter Dehouck	European Commission (Европейский союз)
Stephen L. R. Ellison	LGC (Великобритания)
Elin Gjengedal	Norwegian University of Life Sciences (Норвегия)
Emanuela Gregori	Istituto Superiore di Sanità (Италия)
Nineta Hrastelj	Metrology Institute of the Republic of Slovenia (Словения)
Anders Karlsson	RISE Research Institute of Sweden (Швеция)
Guy Lamon	SGS (Бельгия)
Pedro P. Morillas Bravo	Canal de Isabel II (Испания)
Ulf Örnemark	Emendo Dokumentgranskning (Швеция)
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanità (Италия)
Francisco Raposo	CSIC (Испания)
Lorens P. Sibbesen	Labquality International (Дания)
Perihan Yolci Ömeroglu	Bursa Uludag University (Турция)

Название оригинала

V. Barwick (ed.), Planning and Reporting Method Validation Studies – Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods (2019). Публикация доступна на сайте www.eurachem.org.

Планирование и отчётность исследований по методам валидации

Издание на английском языке

Первое издание 2019

Авторские права © 2019

Авторские права на этот документ принадлежат авторам. Все запросы относительно воспроизведения на любом носителе, включая перевод, следует направлять в секретариат Eurachem.

Содержание

Предисловие	1
1 Сокращения и символы	2
2 Введение	2
3 Вопросы, которые следует учитывать при планировании валидационного исследования	3
4 Примечания по заполнению плана валидации для каждой эксплуатационной характеристики	5
5 Пример документа планирования и отчётности	6
Приложение 1: Чек-лист для валидационного исследования	21
Приложение 2: Экспериментальный план - пример иерархического экспериментального плана	24
Библиография	26

Предисловие

«Пригодность аналитических методов для конкретного применения. Руководство для лабораторий по валидации методов и смежным вопросам» (2-е изд.) было опубликовано в 2014 году. С тех пор рабочая группа по валидации методов определила области, в которых могут потребоваться дополнительные рекомендации. Эти дополнительные рекомендации были разработаны в форме вспомогательных документов. Этот вспомогательный документ не предназначен для отдельного использования, его следует использовать вместе с руководством.

1 Сокращения и символы

В данном дополнении использованы следующие аббревиатуры, акронимы и символы.

ANOVA	дисперсионный анализ	k	коэффициент охвата, используемый для расчёта расширенной неопределённости измерения
(C)RM	(аттестованный) стандартный образец	k_Q	коэффициент, используемый при расчёте предела количественного определения
ILC	межлабораторное сличение	s'_0	стандартное отклонение, используемое для вычисления LOD или LOQ
IQC	внутренний контроль качества	s_I	стандартное отклонение промежуточной прецизионности
LOD	предел обнаружения	s_r	стандартное отклонение повторяемости
LOQ	предел количественного определения		
PT	проверка квалификации		
%RSD	относительное стандартное отклонение в процентах		

2 Введение

Это дополнение предназначено для планирования и составления отчётов о валидационных исследованиях. Цель состоит в том, чтобы предоставить чёткий план для целого валидационного исследования, охватывающего характеристики метода, которые будут исследованы, целевое значение для каждой характеристики, материалы, которые будут проанализированы, уровень репликации и порядок экспериментов, любой статистический анализ, который будет использоваться, и то, как метод будет оценён как соответствующий целевому назначению. Обратите внимание, что пример документа планирования и отчётности, содержащийся в этом дополнении (см. раздел 5), не должен рассматриваться как окончательный шаблон. Лаборатория должна подготовить свой собственный шаблон (шаблоны) с учётом всех конкретных нормативных требований и требований аккредитации.

Документ по планированию и отчётности структурирован таким образом, что после завершения экспериментальной работы его можно легко преобразовать в отчёт по валидации.

Этот документ содержит следующие разделы:

- Титульный лист. Содержит заголовок и ссылку на метод, а также обзор состояния метода и цели исследования.
- Требования к анализу. Предоставить информацию о необходимой области применения метода, цели исследования, эксплуатационных характеристиках, которые будут исследованы, эксплуатационных требованиях к методу, любых существующих эксплуатационных данных и материалах, доступных для исследования.
- Эксплуатационные характеристики. Для каждой характеристики есть отдельный раздел. Разделы должны включать подробную информацию о валидационном исследовании (критерии принятия, материалы, которые будут проанализированы, количество и порядок измерений, как будут оцениваться результаты и проведённая работа в целом).
- Сводная информация. Приводятся сводные данные о значениях и/или другая информация, полученная для каждой эксплуатационной характеристики, а также итоговое заключение о том, были ли достигнуты цели исследования и соответствует ли метод своему назначению.
- Утверждение. Подписать план валидации и отчёт валидации.
- Вопросы для изучения. Выделить любую ключевую информацию, полученную в результате валидации, такую как критические этапы в методе или требования для будущего контроля качества.

Документ содержит рекомендации о том, как заполнить каждый раздел плана валидации. Он также включает ссылки на соответствующие разделы руководства Eurachem «Пригодность аналитических методов для конкретного применения. Руководство для лабораторий по валидации методов и смежным вопросам» для правил по количеству необходимых измерений и анализу данных [1].

3 Вопросы, которые следует учитывать при планировании валидационного исследования

Приложение 1 содержит чек-лист, чтобы помочь с планированием валидации.

3.1 Метод для валидации

До начала валидационного исследования должна быть в наличии подробная письменная процедура (например, стандартная операционная процедура), описывающая метод, подлежащий оценке. Формально валидация должна рассматриваться отдельно от любой деятельности по разработке метода. Валидацию проходит окончательная версия метода – после завершения его разработки.

3.2 Критические этапы метода и требования к оборудованию

До начала валидационного исследования исследователь должен ознакомиться с методом и иметь представление о любых критических действиях, которые требуют особого внимания. Также необходимо учитывать любые специфические требования к оборудованию и приборам.

3.3 Дополнительная информация

Может быть доступна информация, которая поможет в планировании валидационного исследования и/или демонстрации пригодности для цели метода. Она включает в себя данные об участии в межлабораторных сличениях (ILC), таких как программы проверки квалификации (PT), результаты внутреннего контроля качества (IQC) и результаты предыдущего практического использования подобных методов.

3.4 Степень валидации

Одной из основных проблем, стоящих перед лабораториями при планировании валидации, является решение о том, какие характеристики следует изучить и какой уровень воспроизведения требуется. В руководстве Eurachem [1] приведены рекомендации по данным вопросам.

3.5 Порядок оценки характеристик

При тщательном планировании можно получить информацию о ряде характеристик из одной серии экспериментов (например, см. план эксперимента, изложенный в приложении 2). Тем не менее, существуют некоторые характеристики, которые по возможности должны оцениваться перед проведением исследования полной прецизионности или смещения. Селективность, как правило, изучается в процессе валидации очень рано, так как без знания того, что селективность является приемлемой, другие характеристики будут иметь небольшое значение. В некоторых ситуациях может быть выгодно провести исследование устойчивости до исследований полной прецизионности или смещения, поскольку оно предоставит информацию о критических этапах в процессе измерения, которые необходимо контролировать. Тем не менее, нормативные требования в некоторых секторах (например, ссылка 2) предусматривают, что исследование устойчивости следует проводить в качестве заключительной стадии валидации.

3.6 Материалы для анализа

Руководство по типам материалов (например, стандартные образцы (RM), образцы для испытаний), которые могут быть проанализированы, дано в разделах для отдельных характеристик. При планировании исследования следует учитывать область метода. Цель состоит в том, чтобы валидация охватывала репрезентативный диапазон типов образцов с точки зрения уровня матрицы и аналита. Это может потребовать анализа ряда различных материалов, включая аттестованные стандартные образцы (CRM), образцы с внутренним стандартом и образцы для испытаний. Также важно установить, сколько каждого материала потребуется во время валидации, чтобы обеспечить наличие достаточного количества материала.

3.7 План эксперимента

Выбор подходящих планов эксперимента является ключевой частью планирования валидации. При

соответствующем планировании можно максимально увеличить количество информации, полученной из конкретного эксперимента. Например, можно получить информацию о более чем одной характеристике. Существует ряд планов эксперимента, которые можно использовать в валидационном исследовании. Они включают:

- Простая реплика. Включает в себя серию измерений на одном материале. Это полезно для оценки прецизионности (в частности повторяемости). Если эталонное значение доступно (например, если анализируемый материал представляет собой CRM), результаты исследования простой реплики также можно использовать для оценки смещения.
- Линейная калибровка. Этот тип плана обычно используется для калибровки прибора, а также для исследования линейности и рабочего диапазона. Этот тип плана включает в себя наблюдения на разных уровнях (обычно при разных концентрациях аналита).
- Иерархический (гнездовой) план. Это экспериментальный план, в котором каждый уровень определённого фактора присутствует только в одном уровне любого другого фактора. Например, в исследовании повторяемости и промежуточной прецизионности повторные измерения, полученные за короткий промежуток времени, «вкладываются» в дни или аналитические серии. На рисунке 1 показан пример однофакторного иерархического плана.

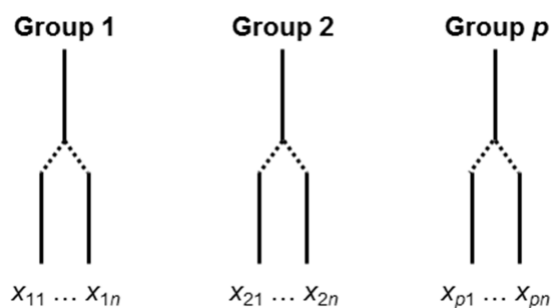


Рисунок 1: Пример «гнездового плана» эксперимента, на основании которого можно оценить различные показатели прецизионности, если группы представляют различные аналитические серии (по возможности выполненные в разные дни).

Этот тип плана обсуждается в приложении 2. Результаты этого типа эксперимента могут быть проанализированы с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), как описано в приложении С руководства Eurachem по валидации методов [1].

- План дробного факторного эксперимента. Это факторный план*, из которого были удалены некоторые тщательно выбранные комбинации уровней. Это уменьшает общее количество измерений, требуемых в исследовании, и в то же время предоставляет полезную информацию. План дробного факторного эксперимента, обычно используемый при валидации методов, представляет собой простой semifакторный план, известный как план Плакетта-Бермана [3]. (*Факторные планы позволяют изучать множество параметров на двух или более уровнях. Полный факторный план – это план, в котором изучаются все комбинации уровней).

4 Примечания по заполнению плана валидации для каждой эксплуатационной характеристики

В примере документа по планированию и отчётности (раздел 5) каждая характеристика имеет отдельный раздел, в котором должна быть задокументирована информация, касающаяся эксплуатационных критериев, запланированных экспериментов и анализа данных. После завершения исследования те же разделы могут быть использованы для обобщения данных и записи результатов валидации. Примечания ниже дают рекомендации относительно информации, которая будет включена в каждый раздел.

4.1 Критерии выполнения

Укажите критерии, по которым будет оцениваться эксплуатационная характеристика (например, целевые значения для прецизионности, смещения или предела обнаружения (LOD)).

4.2 Эксперименты

Описать эксперименты, которые будут проводиться для оценки характеристик, включая информацию о:

- Материалах, которые будут проанализированы - например, (C)RM, образцы для испытаний, калибровочные эталоны
- Плана эксперимента, включая:
 - Количество повторных измерений, которые будут сделаны на каждом материале
 - Условия измерения и порядок анализа (например, если измерения должны проводиться в разные дни и/или разными исследователями и/или с использованием разных измерительных приборов).

4.3 Оценка данных

Описать, как будут оцениваться данные, включая информацию о:

- Любых статистических параметрах, которые должны быть рассчитаны на основе данных (например, среднее значение, стандартное отклонение).
- Как рассчитать значения характеристик на основе данных.
- Любых статистических процедурах, которые будут использоваться.
- Как будет оцениваться «соответствие заданной цели» для эксплуатационной характеристики.

4.4 Примечания

- Включить любую другую информацию относительно оценки характеристики.
- Включить информацию о любых данных измерения за прошедший период, которые могут быть доступны.

4.5 Заключение

- По завершении оценки характеристики в этот раздел следует включить заявление о соответствии критериев эффективности.

5 Пример документа планирования и отчётности

Наименование метода

Определение А {аналит или измеряемая величина} в присутствии В {влияющие компоненты} в С {матрица} с применением D {принцип определения}

При необходимости включить ссылочный номер метода

A: Какое количество измеряется?

B: Есть ли какие-либо известные влияющие компоненты, которые могут допускаться методом?

C: Какие типы образцов/матрицы будут проанализированы с использованием метода?

D: Какие принципы измерения/измерительное оборудование будут использоваться?

Статус метода

Является ли метод, например, опубликованный стандартный метод (без изменений), основанный на опубликованном стандартном методе (с изменениями) методом, разработанным лабораторией?

Цель исследования

Указать цель исследования, например, валидация нового метода, разработанного лабораторией, верификация в лаборатории опубликованного стандартного метода, валидация с целью расширения области применения метода.

Требования к анализу	
Аналит	Укажите аналит(ы) (например, медь, креатинин, шестивалентный хром).
Измеряемая величина	Указать измеряемую величину (количество, предназначенное для измерения). Например, «общая» концентрация присутствующего аналита, «извлечённое» количество при определённых условиях или результат, полученный в результате определённой (стандартной) процедуры измерения. Указать единицы, в которых будут представляться результаты измерений. Указать требуемый диапазон (например, диапазон концентрации в образцах).
Матрица и форма	Указать матрицу/матрицы образцов и их физическую форму.
Цель измерения	Указать, почему требуются измерения (например, для проверки соответствия конкретным правилам или регламенту производства).

Цель исследования	Указать цель исследования, например: • Полная валидация метода, разработанного внутри лаборатории. • Верификация реализации опубликованного метода, для которого доступны данные о характеристиках. • Валидация при изменении области применения метода. • Повторная валидация после изменения условий эксплуатации. • Повторная валидация после периода неиспользования.
Характеристики	Перечислить характеристики (например, селективность, LOD, LOQ, прецизионность и т. д.), которые необходимо оценить во время исследования. Обосновать любые исключения (например, устойчивость не имеет значения, так как используется опубликованный стандартный метод).
Эксплуатационные требования	Как должен выполняться метод для достижения результатов, которые соответствуют цели? Суммарно привести целевые значения эксплуатационных характеристик, которые будут оцениваться во время исследования. Указать и обосновать, как были определены эксплуатационные требования. Целевые значения эффективности могут быть: • Определены в стандартах/регламентах • Заявлены в опубликованном стандартном методе (можно ли достичь заявленных требований?) • Относятся к техническим характеристикам продукции, проверяемым при производственном контроле качества. • Основаны на выполнении известных аналогичных процедур, которые соответствуют назначению. • Определены на основе текущего состояния дел (каковы возможности метода?).

Иные аспекты	Имеются ли какие-либо данные о применении метода за прошедший период? Требуется ли отбор образцов/«подобразцов» (и будет ли это сделано в лаборатории)? Есть ли ограничения по размеру или доступности образцов? Является ли аналит распределённым или локализованным в образцах? Есть ли известные влияющие факторы? Перечислить любые коммерчески доступные CRM с указанием матрицы и значений свойств, аналогичных образцам для испытаний. Указать любые другие (C)RM, которые могут использоваться в ходе валидационного исследования (например, стандартные образцы вещества, используемые для приготовления образцов с внутренним стандартом).
	См. раздел 5.6 руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации по определению аналитических требований.

Характеристика	Селективность
Описание	Способность метода реагировать только на целевой анализ(ы) в присутствии других компонентов, которые, как ожидается, будут присутствовать в образцах.
Критерии выполнения	Продемонстрировать, что другие компоненты, которые могут присутствовать в образцах для испытаний, не влияют на результаты измерений.
Эксперименты	• Проанализировать холостые реактивы и холостые пробы (образцы, содержащие компоненты матрицы, но не представляющие интерес для анализа) [4]. • Проанализировать образцы для испытаний и RM с помощью валидируемого и других независимых (подтверждающих) методов. • Добавить известное количество возможных/предполагаемых влияющих компонентов в репрезентативные образцы для испытаний (на уровнях, ожидаемых в образцах для испытаний). ○ Применить метод с влияющими компонентами и без них к образцам для испытаний. • Для нескольких возможных влияющих компонентов провести исследование устойчивости, чтобы определить влияние ряда влияющих компонентов. ○ Сравнить результаты образцов для испытаний с влияющим компонентом и без него, чтобы установить, есть ли существенное влияние на результаты.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.1 и краткая справка 1 – селективность. Раздел 6.8 и краткая справка 8 – устойчивость.
Примечания	
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Предел обнаружения (LOD)
Описание	Самая низкая концентрация аналита, которую можно обнаружить методом с заданным уровнем достоверности.
Критерии выполнения	Указать требуемый LOD (обычно выражается в тех же единицах, что и результаты измерений). Если ожидается, что концентрация аналита в образцах для испытаний будет значительно выше LOD, для подтверждения этого требуется ориентировочное значение.
Эксперименты	• Выполнить многократные измерения на подходящем материале (для того, чтобы получить расчёт прецизионности около нуля): ○ Если холостые пробы реагируют, проанализировать холостую пробу (образец, содержащий компоненты матрицы, но не содержащий интересующий аналит). ○ Если холостая проба недоступна или стандартное отклонение холостых измерений равно нулю, проанализировать образец для испытаний с низкой концентрацией или внутренний стандарт с низкой концентрацией. • В обоих случаях повторить всю процедуру измерения, включая подготовку образцов. Обычно измерения проводятся в условиях повторяемости. См. раздел 6.2 (Предел обнаружения и предел количественного определения) и краткая справка 2 (предел обнаружения) руководства Eurachem [1] для рекомендаций по количеству повторений.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.2, краткая справка 2 и приложение В.
Примечания	Также может быть необходимо до общего исследования LOD определить инструментальную составляющую LOD, чтобы определить вклад инструментальной составляющей. В этом случае анализируется подготовленный образец (повторяется только конечный этап измерения, а не подготовка образца). Для методов с областью, охватывающей очень разные матрицы, может потребоваться определить стандартное отклонение и рассчитать LOD для каждой матрицы отдельно. Если LOD является критической характеристикой, рекомендуется, чтобы оценка, полученная в ходе валидационного исследования, была подтверждена во время обычного использования метода.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Предел количественного определения (LOQ)
Описание	Самая низкая концентрация аналита, которая может быть определена количественно с приемлемой эффективностью метода (например, приемлемая неопределённость измерения).
Критерии выполнения	Как правило нижний предел рабочего диапазона. Продемонстрировать, что LOQ совместим с рабочим диапазоном, указанным в аналитическом требовании.
Эксперименты	Как правило, расчёты LOQ основаны на оценке стандартного отклонения, полученной из исследования LOD.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.2 (Предел обнаружения и предел количественного определения) и краткая справка 3 (предел количественного определения)
Примечания	Если LOQ является критической эксплуатационной характеристикой, следует подтвердить, что любая оценка, полученная с помощью вычислений (например, с использованием $LOQ = k_Q \times s'_0$, как описано в руководстве Eurachem), достижима. Это может быть сделано путём анализа образца в прецизионном исследовании с концентрацией, близкой к рассчитанному LOQ.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Рабочий диапазон
Описание	Интервал, в пределах которого метод обеспечивает результаты с приемлемой неопределённостью.
Критерии выполнения	Рабочий диапазон метода должен быть указан в области метода. <u>Рабочий диапазон оборудования</u> • Убедиться, что предложенная модель калибровки (например, линейная зависимость) является приемлемой. • Продемонстрировать, что рабочий диапазон оборудования совместим с аналитическими требованиями (диапазон концентраций аналита, ожидаемых в образцах для испытаний). <u>Рабочий диапазон метода</u> • Продемонстрировать, что метод может использоваться в пределах интервала, указанного в области применения метода. • Убедиться, что предложенная процедура калибровки оборудования, указанная в методе, является пригодной.
Эксперименты	<u>Рабочий диапазон оборудования</u> • Подготовить холостую пробу плюс ряд образцов с концентрациями, равномерно распределёнными по требуемому рабочему диапазону (если возможно, подготовить образцы независимо). • Если возможно, провести хотя бы двукратные измерения на каждом образце (это позволяет провести первичную оценку повторяемости). • Определить случайный порядок анализа образцов, если это возможно. <u>Рабочий диапазон метода</u> • Откалибровать оборудование в соответствии с предложенной процедурой калибровки. • Проанализировать холостую пробу плюс несколько стандартных образцов или образцов с внутренним стандартом с концентрациями, равномерно распределёнными по интересующему диапазону. • Образцы могут иметь разные матрицы (например, если существуют определённые типы образцов, которые всегда будут с низкой концентрацией аналита, и другие, которые всегда будут с высокой концентрацией). • Если возможно, провести хотя бы двукратные измерения на каждом образце. • Определить случайный порядок анализа образцов, если возможно. См. раздел 6.3 (Рабочий диапазон) и краткая справка 5 (Рабочий и линейный диапазон) руководства Eurachem [1] для рекомендаций по количеству образцов и уровню повторения.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: См. раздел 6.3 (Рабочий диапазон) и краткая справка 5 (Рабочий и линейный диапазон).

Примечания	Для оценки рабочего диапазона оборудования приемлемы образцы, приготовленные в растворителе (а не в матрице проб). Если данные доступны из исследований смещения и прецизионности, которые охватывают интересующий диапазон, отдельное исследование рабочего диапазона метода может не потребоваться. Эксперименты по оценке рабочего диапазона оборудования также предоставят информацию об аналитической чувствительности (наклон калибровочной кривой).
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Смещение
Описание	Разница между средним значением результатов измерений и опорным значением.
Критерии выполнения	Указать допустимое смещение, установленное с точки зрения смещения (или относительного смещения) или степени извлечения.
Эксперименты	Оценка смещения требует сравнения результатов измерений с контрольным значением. Есть три основных подхода: • Анализ аттестованных стандартных образцов • Анализ образцов с внутренним стандартом ○ Проанализировать матрицу без добавок, чтобы убедиться, что она холостая, или установить базовую концентрацию • Сравнение с альтернативным методом ○ Измерить RM или образец для испытаний, используя валидируемый метод и альтернативный метод. Возможно, потребуется проанализировать более одного материала, чтобы полностью охватить весь диапазон метода. При оценке смещения обычно используются простые реплики и иерархические планы. См. раздел 6.5 и краткую справку 6 (Правильность) руководства Eurachem [1] для рекомендаций по количеству повторений.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.5 и краткую справку 6
Примечания	В целом, анализ CRM является предпочтительным подходом, если имеется подходящий материал. Сравнение результатов с альтернативным методом даёт значение смещения относительно этого метода. Альтернативным методом может быть референтный метод или, если предполагается заменить один метод другим, и необходимо продемонстрировать эквивалентную эффективность, метод, который в настоящее время используется в лаборатории. Сам альтернативный метод может иметь смещение, и в этом случае эксперимент не обеспечит абсолютную меру правильности. В случаях, когда измеряемая величина определяется самим методом (валидируется эмпирический метод), сравнение с референтным методом не применимо.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Прецизионность, повторяемость
Описание	Прецизионность – степень соответствия между независимыми результатами измерений, полученными при оговоренных условиях. Повторяемость – мера изменчивости результатов, когда измерения выполняются в одной лаборатории одним исследователем с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени («внутрисерийная» прецизионность).
Критерии выполнения	Указать целевую повторяемость (выраженную как стандартное отклонение s_r или относительное стандартное отклонение %RSD _r).
Эксперименты	Следующие материалы подходят для исследований прецизионности: • Избыточные образцы для испытаний • Образцы с внутренним стандартом • RM Возможно, потребуется проанализировать более одного материала, чтобы репрезентативно охватить область применения метода. При оценке прецизионности эталонное значение не требуется. Поэтому исследования прецизионности могут основываться на анализе избыточных испытываемых образцов. Обратите внимание, что использование RM для оценки прецизионности может неправильно определять прецизионность, полученную для образцов для испытаний. Это связано с тем, что RM обычно гораздо более однородны, чем обычные материалы для испытаний. Тем не менее, если во время исследования прецизионности используются RM или образцы с внутренним стандартом, также возможно будет оценить смещение. Исследования простой реплики и иерархические планы обычно используются для оценки прецизионности. Исследование простой реплики в условиях повторяемости даст оценку повторяемости для изучаемого материала. Иерархический план также позволит оценить промежуточную прецизионность (см. раздел по промежуточной прецизионности). См. раздел 6.6 (Прецизионность) и краткую справку 7 (Повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость) руководства Eurachem [1] для рекомендаций по количеству повторений. Также см. приложение 2 настоящего документа.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.6 (Прецизионность), краткая справка 7 (Повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость) и приложение С (Дисперсионный анализ (ANOVA))
Примечания	Если нет предварительной информации о прецизионности метода, рекомендуется провести ограниченные исследования повторяемости (простая реплика) перед проведением исследования с полной повторяемостью/промежуточной прецизионностью.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Прецизионность, промежуточная прецизионность
Описание	Прецизионность – степень соответствия между независимыми результатами измерений, полученными при оговоренных условиях. Промежуточная прецизионность – мера разброса результатов, когда измерения производятся в одной лаборатории, но в условиях, которые являются более изменчивыми, чем условия повторяемости (измерения, сделанные в разные дни, например, различными исследователями и/или с использованием различных приборов).

Критерии выполнения	Указать целевую промежуточную прецизионность (выраженную как стандартное отклонение s_r или относительное стандартное отклонение %RSD _r).
Эксперименты	Определить подходящие материалы (избыточные образцы для испытаний, образцы с внутренним стандартом, RM), охватывающие область метода (уровень аналита и матрица проб). Эффективный подход для получения оценки промежуточной прецизионности заключается в использовании иерархического плана. Данные такого исследования предоставят информацию, необходимую для оценки как повторяемости, так и промежуточной прецизионности, с использованием однофакторного ANOVA. <u>Иерархический план</u> Для каждого материала: • Аналитические серии (выполняемые в условиях повторяемости) повторяются в разные дни. • Если возможно, серии проводятся с участием различных исследователей и использованием различного оборудования. • Требуется минимум 2 повторения на материал за серию. ○ Количество повторов в каждой серии необходимо будет увеличить, если количество серий уменьшится (чтобы получить достаточно данных для оценки повторяемости). И наоборот, 2 повторения приемлемы, если количество серий увеличено. • Рассмотреть возможность подготовки свежих реактивов/калибровочных мер и т. д. между сериями. • Случайным образом распределить порядок анализа различных материалов в серии, если возможно. См. раздел 6.6 (Прецизионность) и краткую справку 7 (Повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость) руководства Eurachem [1] для рекомендаций по количеству повторений. Также см. приложение 2 настоящего документа.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.6 (Прецизионность), краткая справка 7 (Повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость) и приложение С (Дисперсионный анализ (ANOVA)).

Примечания	Существует много разных способов планирования иерархического плана (количество «групп» данных и количество повторов на группу). Цель состоит в том, чтобы получить достаточные данные (степени свободы) для разумной оценки вариаций внутри группы и между группами. Например, 6 групп с 3 повторами на группу дают в результате 5 степеней свободы для оценки межгрупповой дисперсии и 12 степеней свободы для термина внутри группы. Однако 11 групп с 2 повторениями на группу дают 10 степеней свободы для оценки межгрупповой дисперсии и 11 степеней свободы для термина внутри группы. Если в исследовании участвовали разные лаборатории, полученная оценка прецизионности будет представлять воспроизводимость, а не промежуточную прецизионность.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Характеристика	Устойчивость
Описание	Мера способности метода оставаться незатронутым изменениями в условиях эксплуатации.
Критерии выполнения	Определить экспериментальные параметры, которые могут изменяться во время применения метода, что может повлиять на результаты измерений. Некоторые типичные параметры перечислены ниже: • масса образца • время • температура • pH • концентрация/объёмы реактивов. Определить, оказывают ли предопределённые вариации этих параметров существенное влияние на результаты измерений.
Эксперименты	Для одновременного определения влияния ряда параметров эффективное решение обеспечивают методы планирования эксперимента. Например, план Плакетта-Бермана (тип план дробного факторного эксперимента) позволяет изучить 7 параметров в 8 экспериментах. См. раздел 6.8 и краткую справку 8 руководства Eurachem [1] для рекомендаций по планированию исследований устойчивости.
Оценка данных	См. следующие разделы руководства Eurachem [1] для получения дополнительной информации: Раздел 6.8 и краткая справка 8
Примечания	Исследование устойчивости обычно не требуется для стандартных (опубликованных) методов или хорошо разработанных методов. Исследование устойчивости не требует CRM (хотя его можно использовать при наличии). Поскольку исследование устойчивости оценивает изменения в результатах при изменении параметров метода, нет необходимости знать точную концентрацию аналита в используемом образце. Поэтому исследование устойчивости может быть выполнено с использованием образцов для испытаний.
Заключение	По завершении оценки характеристики указать, соответствует ли она критериям выполнения.

Рабочий параметр	Неопределённость измерений*
Описание	Параметр, связанный с результатом измерения, который выражает диапазон значений, которые могут быть обоснованно отнесены к измеряемой величине.

Основные источники неопределённости	Источники информации
Составить перечень основных источников неопределённости: • входные величины, входящие в уравнение, используемое для расчёта результата измерения • другие этапы процедуры измерения (например, извлечение образца и очистка) • условия окружающей среды • параметры оборудования.	Использовать данные из валидационного исследования и/или внутреннего контроля качества: • Оценка промежуточной прецизионности • Оценка смещения и его неопределённость • Для источников неопределённости, недостаточно охваченных данными о прецизионности/смещении, дополнительную информацию можно получить из: ○ информации о производителе ○ паспортных данных ○ дополнительных экспериментов.
Выразить оценки неопределённости как стандартные отклонения (или относительные стандартные отклонения). Получить объединённую стандартную неопределённость, используя правило «квадратного корня из суммы квадратов». Отчёт как расширенная неопределённость – умножить объединённую стандартную неопределённость на коэффициент охвата, k. Как правило $k = 2$ для расширенной неопределённости при уровне достоверности приблизительно 95%.	

Примечания	Неопределённость измерений описана в разделе 6.7 руководства Eurachem [1]. Для получения подробной информации об оценке неопределённости см. руководство Eurachem/Citac по количественной оценке неопределённостей в аналитических измерениях [5]. *В узком смысле, неопределённость измерений не является характеристикой конкретной методики измерения, а представляет собой свойство результатов, полученных с использованием этой методики измерения.
Заключение	Включить заявление о том, соответствует ли неопределённость измерения предназначению. Рекомендации по установлению целевых значений для неопределённости измерений доступны в руководстве Eurachem/Citac «Установление и использование целевой неопределённости в химических измерениях» [6].

Сводная информация

Характеристики	Включить сводную информацию по значениям/доказательствам, полученным для каждой характеристики, и заявление о том, были ли достигнуты критерии выполнения.
Комментарии	Включить любые дополнительные комментарии по валидации в целом.
Заключение	Включить итоговое заявление о том, были ли достигнуты цели исследования и считается ли метод пригодным для данной цели.

Утверждение

Итоговое подписание	План валидации должен быть утверждён до начала любой экспериментальной работы. После того, как исследование завершено, на последнем этапе утверждают результаты валидации и подтверждают соответствие метода предназначению.
----------------------------	---

Вопросы валидации, требующие изучения

	Также полезно документировать любые конкретные вопросы для изучения, выявленные во время валидации. Они могут включать: • информацию о критических этапах метода • требования к контролю качества, когда метод находится в обычном использовании.
--	---

Приложение 1: Чек-лист для валидационного исследования

Валидация метода всегда должна быть запланирована. Это дополнение и соответствующее руководство Eurachem [1] содержат рекомендации по планированию и проведению валидационных исследований с акцентом на выборе подходящих материалов и соответствующих экспериментальных планов. В дополнение к этим аспектам, процесс планирования должен также включать тщательную оценку состояния лаборатории с точки зрения её готовности к проведению исследования. Это включает в себя оценку наличия персонала с соответствующими знаниями и опытом, обеспечение доступа к соответствующему оборудованию и понимание сложности выполняемой задачи. Лаборатории должны взять на себя ответственность за свои собственные валидационные исследования и разработать протоколы, отвечающие требованиям конкретного исследования.

Целью данного чек-листа является помощь лабораториям в обеспечении учёта всех ключевых аспектов в процессе планирования, а также определение любых действий, которые необходимо предпринять.

А. Аналитическое требование			
A.1	Аналит указан?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.2	Измеряемая величина указана?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.3	Матрица и форма проб указаны?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.4	Предполагаемые уровни/требуемый рабочий диапазон указаны?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.5	Предназначение метода хорошо понятно?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.6	Использование результатов чётко указано?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.7	Какие-либо конкретные нормативные требования?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.8	Должны ли результаты использоваться для принятия важных решений?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.9	Характеристики для исследования определены?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.10	Целевые значения для характеристик заявлены?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.11	Интенсивность практического использования метода известна?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
A.12	Какой срок для начала практического использования метода?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
В. Цель валидационного исследования			
B.1	Цель валидации указана?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
B.2	Валидируемый метод предназначен для использования в другой лаборатории?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			

С. Знание выбранного метода			
C.1	Метод/аналогичные методы хорошо известны в лаборатории?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
C.2	Чёткое и однозначное описание метода доступно (например, стандартная рабочая процедура)?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
C.3	Какие-либо известные/предсказуемые критические шаги?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
C.4	Требуются ли дополнительные стандартные рабочие процедуры?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
C.5	Проблемы со здоровьем/безопасностью?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
D. Особые требования к выполнению метода			
D.1	Особые требования к обработке/хранению образцов?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
D.2	Особые требования к приготовлению образцов?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
D.3	Особые требования к калибровке оборудования?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
D.4	Особые требования к контролю за окружающей средой?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
E. Компетентность для валидации			
E.1	Ответственный за исследование назначен?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
E.2	Исследователь, проводящий валидацию, знаком с методом?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
E.3	Дополнительное обучение требуется?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
E.4	Контроль при валидации требуется?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
F. Оборудование и оснащение			
F.1	Особое оборудование для приготовления образцов требуется?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
F.2	Требуемое измерительное оборудование доступно?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
F.3	Измерительное оборудование правильно откалибровано?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
F.4	Измерительное оборудование правильно обслуживается?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
F.5	Оснащение приемлемо для применения метода?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
F.6	Условия окружающей среды под контролем??	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			

G. Доступные для валидации инструменты			
G.1	Пригодные холостые пробы имеются?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
G.2	RM/CRM имеются?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
G.3	Добавки в образцы нужны/требуются?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
G.4	Избыточные тестовые образцы доступны?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
G.5	Стабильность валидационных материалов под контролем?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
G.6	Эталонные методы имеются?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
H. Оценка индивидуальных характеристик			
H.1	Целевой показатель указан?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
H.2	Материалы для анализа указаны и достаточно ли материала?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
H.3	План эксперимента определён(количество повторений, порядок исследований)?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
H.4	Анализ данных определён (включая статистические тесты)?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
H.5	Критерии оценки пригодности для предназначения указаны?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
I. Дополнительная информация для обеспечения оценки эффективности метода			
I.1	Имеются ли данные за прошедший период (IQC или результаты практического применения метода)?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
I.2	Возможно ли участвовать в РТ в ходе валидации?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
I.3	Возможно ли участвовать в/организовать другие ILC?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
J. Утверждение плана валидации			
J.1	План валидации подписан соответствующим лицом?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			
K. Завершение исследования			
K.1	Оценка пригодности для цели завершена для каждой характеристики и метода в целом?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
K.2	Отчёт по валидации подписан?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
K.3	Итоговая документация по методу (например, стандартная операционная процедура) подготовлена и подписана?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
K.4	Текущие требования к контролю качества установлены?	☐ ДА ☐ НЕТ	Действие:
Другие комментарии/действия:			

Приложение 2: Экспериментальный план - пример иерархического экспериментального плана

Существует множество способов разработки экспериментов для предоставления данных, необходимых для валидационного исследования. При тщательном планировании можно получить данные о ряде характеристик в рамках одной серии экспериментов. План, показанный в Таблице 1, является примером иерархического плана. Повторные измерения на каждом материале сгруппированы по аналитическим сериям (от 1 до p) и выполняются в условиях повторяемости (n повторениями на серию). Если серии проводятся в разные дни (и, если возможно, разными исследователями, использующими разное оборудование), можно получить оценку повторяемости и промежуточной прецизионности. Включая в эксперимент CRM (от 1 до q) и/или образцы с внутренним стандартом (от 1 до z), также можно получить оценку смещения. Материалы, включённые в исследование, будут зависеть от области метода, области валидации и доступных материалов. Типовые материалы включены в качестве примеров. Цель должна заключаться в том, чтобы охватить область применения метода с точки зрения уровня аналита и матрицы проб.

Сокращения к Таблице 1

p	номер серии
n	номер повтора в каждой серии
Холостая проба	образец, не содержащий интересующего аналита(-ов)
Образец 1...Образец m	избыточные образцы для оценки прецизионности
CRM 1...CRM q	аттестованные стандартные образцы, используемые для оценки смещения. Может использоваться для оценки прецизионности
Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	образец с добавкой на уровне, близком к ожидаемому/ранее оценённому LOQ, чтобы подтвердить, что это достижимо
Образец с внутренним стандартом 1... Образец с внутренним стандартом z	образцы с внутренним стандартом, используемые для оценки извлечения (обратите внимание, что также будет необходимо проанализировать материалы перед добавкой). Может также использоваться для оценки прецизионности.

План предусматривает несколько различных серий (p) с количеством повторений (n) в каждой серии. Серии должны проводиться в разные дни, но все серии не должны заканчиваться в разные дни. Например, если запланировано 10 серий, было бы приемлемо завершить исследование за 5 дней, выполняя по две серии в день. Тем не менее, факторы, которые варьируются между каждой серией (исследователь, измерительный прибор и т. д.), должны учитываться для обеспечения получения надёжной оценки промежуточной прецизионности.

Для получения надёжных оценок характеристик желательно, чтобы для оценки вариабельности внутри серии и между сериями было от 5 до 14 степеней свободы. Данные из плана эксперимента, показанного выше, могут быть проанализированы с использованием однофакторного ANOVA (см. приложение С руководства по пригодности для конкретного применения [1]). При применении ANOVA количество степеней свободы внутри группы составляет $p(n-1)$ (при условии, что в каждой группе одинаковое количество повторов), а для между группами – $p-1$. Поэтому существует ряд комбинаций количества серий и повторений внутри серии, которая обеспечит достаточность данных.

Таблица 1. Пример иерархического экспериментального плана

Серия	Повт.	Материал/эксплуатационная характеристика							
		Холостая проба • LOD • LOQ	Образец 1 • Повторяемость • Промежуточная прецизионность	Образец m • Повторяемость • Промежуточная прецизионность	CRM 1 • Смещение • Повторяемость • Промежуточная прецизионность	CRM q • Смещение • Повторяемость • Промежуточная прецизионность	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом • Подтверждение LOQ	Образец с внутренним стандартом 1 • Извлечение • Повторяемость • Промежуточная прецизионность	Образец с внутренним стандартом z • Извлечение • Повторяемость • Промежуточная прецизионность
1	1	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z
1	...	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z
1	n	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z
...									
p	1	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z
p	...	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z
p	n	Холостая проба	Образец 1	Образец m	CRM 1	CRM q	Низкоуровневый образец с внутренним стандартом	Образец с внутренним стандартом 1	Образец с внутренним стандартом z

Библиография

Список текущих нормативных ссылок, касающихся качества в аналитических измерениях, см. в «Списке литературы» Eurachem в разделе «Публикации» на сайте Eurachem, www.eurachem.org.

- 1 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. Available from www.eurachem.org.
- 2 2002/657/EC Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, Official Journal of the European Communities, L221/8-36, 17.8.2002.
- 3 W. J. Youden, E. H. Steiner, Statistical Manual of the AOAC, AOAC International, 1975, ISBN 0-935584-15-3.
- 4 H. Cantwell (ed.) Blanks in Method Validation – Supplement to Eurachem Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods, (1st ed. 2019). Available from www.eurachem.org.
- 5 S. L. R. Ellison and A. Williams (eds.), Eurachem/CITAC Guide CG4: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (3rd ed., 2012), ISBN 978-0-948926-30-3. Available from www.eurachem.org.
- 6 R. Bettencourt da Silva and A. Williams (eds.), Eurachem/CITAC Guide: Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement (1st ed. 2015), ISBN 978-989-98723-7-0. Available from www.eurachem.org.