

Standardní operační postupy



SOP – standardní operační postup

1. Úvod (všeobecné údaje, oblast použití, princip metody, terminologie, rušivé vlivy, omezení metody, bezpečnost při práci, toxikologické údaje, odpady a jejich likvidace)
2. Normativní odkazy
3. Chemikálie a spotřební materiál (roztoky, činidla, požadavky na jejich čistotu, příprava roztoků, příprava a uchovávání referenčních materiálů, požadavky na laboratorní sklo)
4. Vzorkování (odběry vzorků, zásady odběru, plán odběru, podmínky transportu vzorku do laboratoře, konzervace vzorků, příprava k analýze)
5. Přístroje a pomocná zařízení (příprava přístroje k měření, požadavky na metrologickou návaznost, kalibrační standard, regulační standard, CRM)

6. Kalibrace

7. Postup zkoušky – analytické schéma

8. Kontrola kvality metody (interní kontrola- CRM, regulační diagramy, externí kontrola – MPZ, nejistota stanovení, validační protokol (většinou příloha SOP)

9. Výpočet (vyhodnocení dat, vyjadřování výsledků)

10. Poznámky, doplňky, přílohy (například validační protokol)

Specifické problémy environmentální stopové analýzy:

- stopové koncentrace (riziko kontaminace ve všech krocích, nutnost preseparace a koncentrace, nároky na citlivost a selektivitu)
- omezená stabilita analytů a matrice
- nehomogenita vzorků
- speciace analytů a vazba analytů na složky

Oblast ultrastopových analýz vyžaduje **optimalizaci**

- požadavků normy
- vynaložených ekonomických prostředků
- časové náročnosti

vzhledem k **zabezpečení kvality postupu.**

Použití normovaných metod

Pokud není normovaná metoda převzatá včetně SOP, je třeba jej vytvořit. Musí obsahovat:

- všechny informace uvedené u SOP výše
- jméno autora překladu při převzetí cizojazyčné metody
- jména těch, kdo metodu zaváděli
- informace o validaci metody (selektivita, rozsah, linearita, robustnost, přesnost, správnost, opakovatelnost, reprodukovatelnost)
- systém průběžné kontroly správnosti a přesnosti (regulační diagramy)
- výpočetní postupy, způsob prezentace výsledků
- výpočty nejistoty výsledku

Použití vlastních postupů

musí být zdokumentováno v SOP. SOP musí být srozumitelné a dostupné pro pracovníky, kteří uvedené postupy používají, musí obsahovat:

- všechny informace uvedené u SOP výše
- jména těch, kdo postup vypracovali
- jména těch, kdo postup schvalovali
- jména těch, kdo postup průběžně kontrolují, včetně charakteru a četnosti zkoušek
- informace o validaci metody
- regulační diagramy
- postupy pro výpočet a prezentaci výsledků
- postupy pro výpočet nejistot

Harmonogram optimalizace a validace analytické metody

- úvodní rozvaha (aplikace, dostupné zařízení, ekonomický stav)
- optimalizace analytické metody
 - ověření statistické kontroly (konstantní průměrné hodnoty, dostačující shodnost)
 - ověření přesnosti metody (kontrolní limity)
- validace
 - pilotní studie (aplikovatelnost, výtěžnost, efekty matric, kalibrace, linearita, opakovatelnost)
 - standardní operační postup
 - mezilaboratorní porovnávání (reprodukovatelnost)
 - konečná verze textu

Validace a verifikace

Validace metody je potvrzení přezkoušením a poskytnutí objektivního důkazu, že jsou jednotlivé požadavky na specifické zamýšlené použití splněny. Provádí se pomocí reálných vzorků pro celý předepsaný koncentrační rozsah a různé matrice. Norma uvádí, že laboratoř musí validovat metody nenormalizované, vyvinuté, rozšířené, modifikované, normalizované mimo zamýšlený rozsah. Není nutno provádět při převzetí normovaných metod. Závěrem je vypracování validačního protokolu, který obsahuje získané výsledky, postup využití pro validaci a prohlášení, že metoda vyhovuje zamýšlenému použití.

Verifikace metody je ověření správného fungování metody. Provádí při zavádění všech metod, včetně normovaných, dále při jakýchkoli změnách (personál, materiál, laboratoř,

Software

Norma ČSN ISO/IEC 17 025 uvádí, že laboratoř musí zajistit, aby:

- softwarové vybavení vyvinuté uživatelem bylo dostatečně podrobně zdokumentováno, vhodně validováno a vhodné k danému použití
- byly stanoveny a zavedeny postupy pro ochranu dat. Takové postupy musí zahrnovat věrohodnost a důvěryhodnost vstupních údajů, jejich sběru, ukládání a zpracování
- počítače a automatizovaná zařízení byla udržována za účelem zajištění správné funkce a byly zajištěny podmínky nezbytné k udržení věrohodnosti zkušebních a kalibračních údajů
- musí být zajištěna ochrana dat při přenosu a archivaci a ochrana počítačů a sítě

MS Word a Excel se považují za validované.

Validační parametry

- citlivost, linearita, rozsah
- Přesnost = pravdivost a preciznost
- selektivita, specificita, robustnost
- mez detekce a stanovitelnosti
- opakovatelnost, reprodukovatelnost

Kalibrace a regulační diagramy nejsou nedílnou součástí validace, nicméně:

- z kalibrační křivky lze vyhodnotit citlivost, linearitu, rozsah, mez detekce a mez stanovitelnosti
- regulační diagramy monitorují fungování metody v čase

Definice validačních parametrů

Kalibrace zavádí vztah mezi hodnotami udávanými měřícím systémem a hodnotami odpovídajícími obsahu analytu ve vzorku

Citlivost – velikost nárůstu závisle proměnné vyvolaná nárůstem koncentrace analytu, směrnice kalibrační křivky

Linearita – vlastnost metody poskytnout výsledek zkoušky v určitém rozsahu přímo úměrné koncentraci

Mez detekce – nejmenší množství analytu ve vzorku, které může být detekováno

Mez stanovitelnosti - nejmenší množství analytu které může být stanoveno s přijatelným stupněm správnosti a shodnosti (např. pro chromatografii z poměru signál:šum mez detekce 3:1, mez stanovitelnosti 10:1)

Přesnost (accuracy) je těsnost shody mezi výsledkem měření a přijatou referenční hodnotou

Pravdivost (trueness) těsnost shody mezi průměrnou hodnotou a přijatou referenční hodnotou

Preciznost (precision) těsnost shody mezi navzájem nezávislými výsledky získanými za definovaných podmínek

Selektivita – stupeň nezávislosti na interferencích

Specifičnost – schopnost metody umožnit zjistit analyt v přítomnosti jiných složek

Robustnost – vliv změn matrice na výsledek analytické zkoušky

Opakovatelnost – nezávislé výsledky získané za stejných podmínek

Střednědobá opakovatelnost – regulační diagramy

Reprodukovatelnost – shodnost mezi laboratořemi např. z MPZ

Metrologická terminologie v klinické a analytické laboratoři

www.sekk.cz/terminologie/Text/Terminologie.htm

accuracy = přesnost
trueness = pravdivost
precision = preciznost

přesnost = pravdivost + preciznost

Referenční materiál - látka o dostatečně určené vlastnosti tak, aby mohla být použita pro kalibraci

Certifikovaný referenční materiál - referenční materiál vybavený certifikátem

Přijatá referenční hodnota – odsouhlasená referenční hodnota pro porovnání

Výtěžnost – podíl stanoveného množství analytu na jeho celkovém množství ve vzorku

Vychýlení, odchylka, bias – rozdíl mezi střední hodnotou zkoušek a přijatou referenční hodnotou

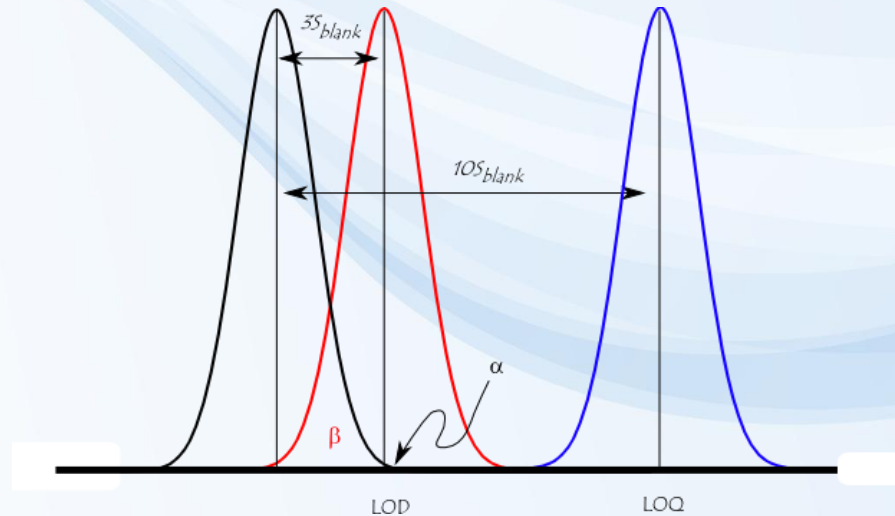
Systematická chyba výsledku se mění předvídatelným způsobem

Náhodná chyba výsledku se mění nepředvídatelně

Faktory rozhodující o výběru postupu

1. Mez detekce – limit of detection (LOD)

- nejnižší množství analytu ve vzorku, které může být detekováno, ale nemusí nutně být kvantifikováno jako exaktní hodnota



- nejnižší signál -
- nejnižší koncentrace –
- Ve většině případů se mez detekce bere jako
- koresponduje s %RSD = 33%

$$x_L = x_{bl} + 3s_{bl}$$

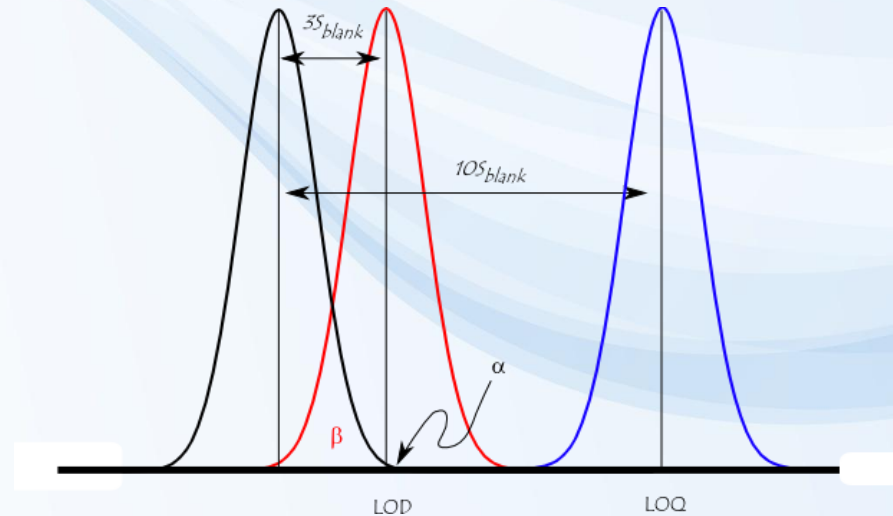
$$LOD = q_L(c_L) = x_L / S = 3s_{bl} / S$$

3 x s_{bl} nebo 3-krát poměr signál/šum.

Faktory rozhodující o výběru postupu

2. Mez stanovitelnosti - limit of quantification (LOQ)

- nejnižší množství analytu ve vzorku, které je možno kvantitativně stanovit s potřebnou nejistotou



- **nejnižší signál** -
- **nejnižší koncentrace** –
- Ve většině případů se mez detekce bere jako
- -koresponduje s %RSD = 10%

$$x_L = x_{bl} + 10s_{bl}$$

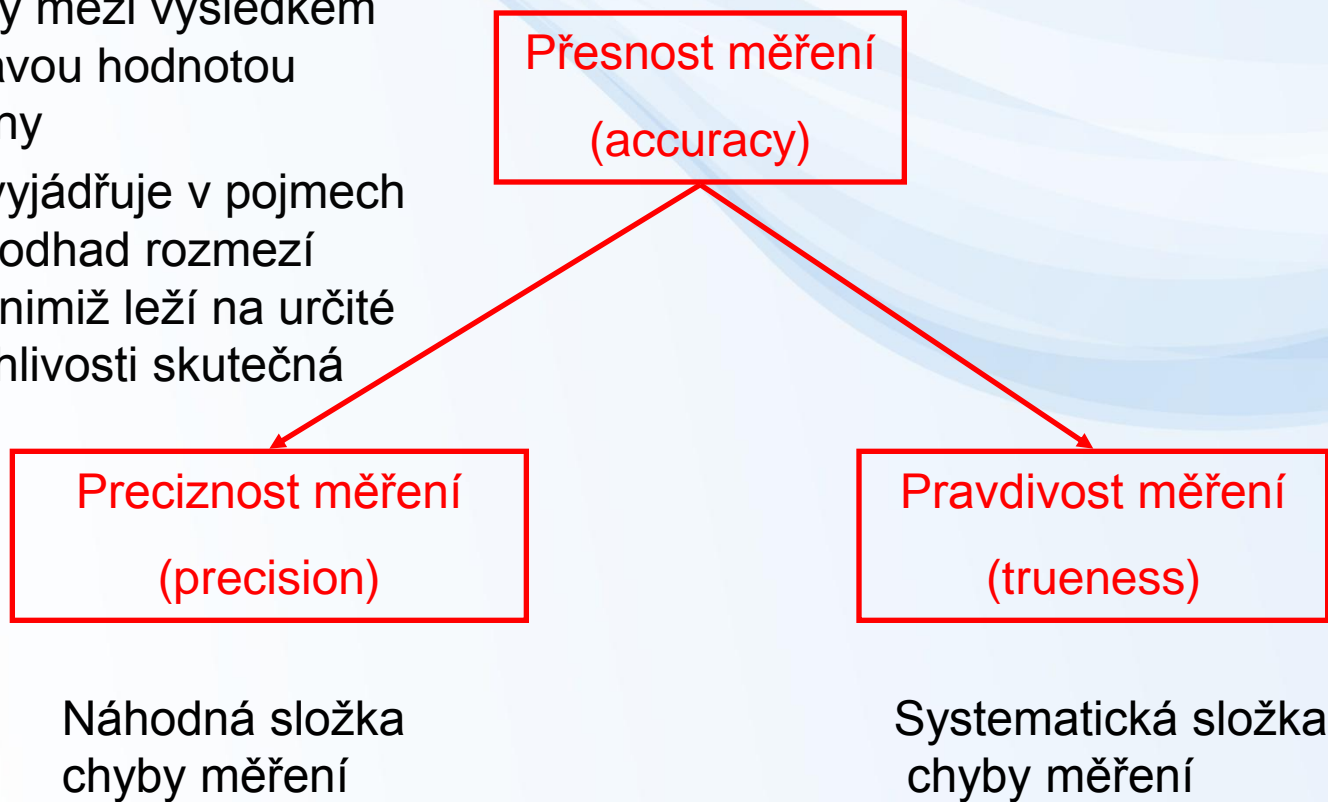
$$LOD = q_L(c_L) = x_L / S = 10s_{bl} / S$$

10 x s_{bl} nebo 10-krát poměr signál/šum

Faktory rozhodující o výběru postupu

3. Přesnost měření - accuracy

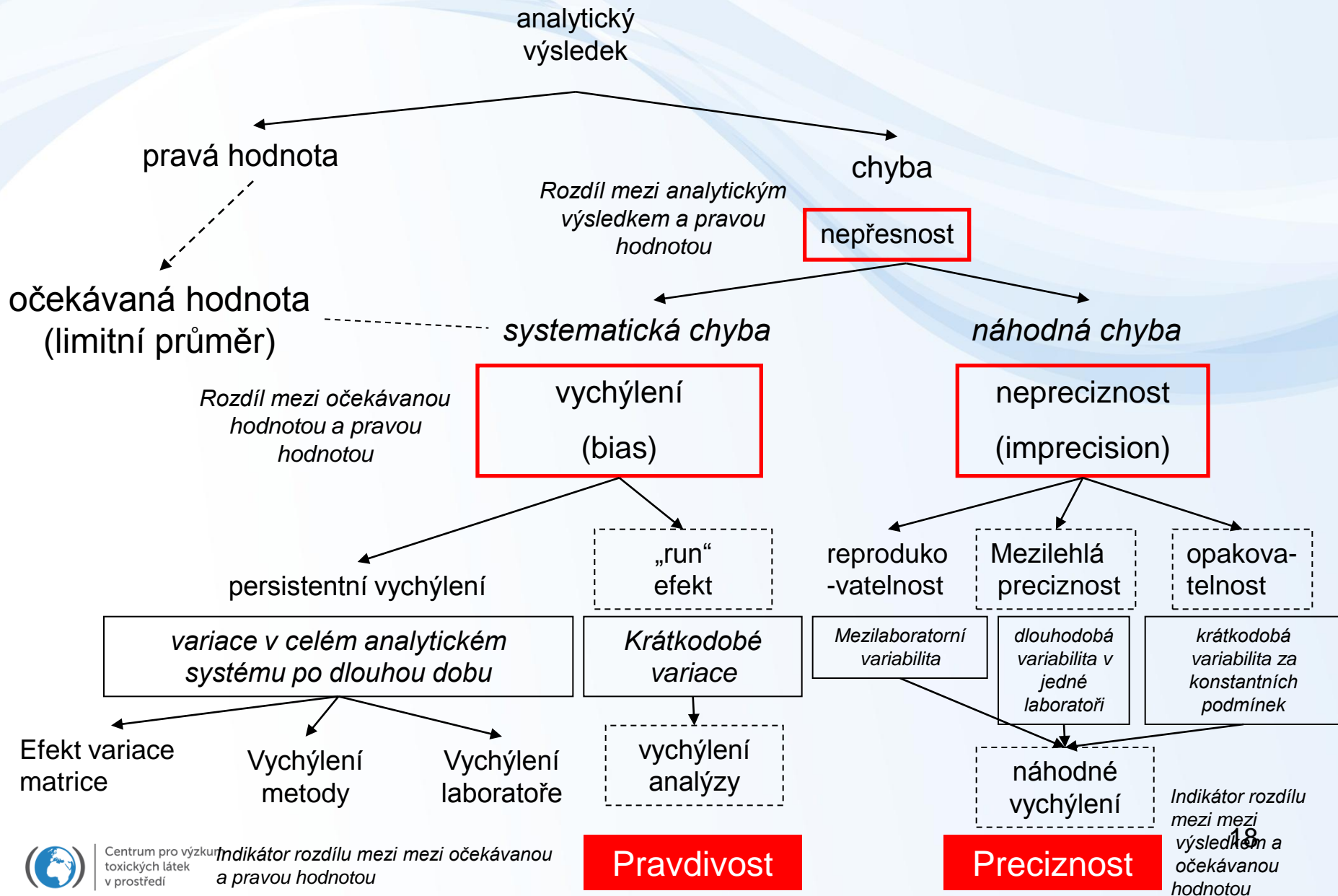
- Těsnost shody mezi výsledkem zkoušky a pravou hodnotou měřené veličiny
- Výsledek se vyjádřuje v pojmech **nejistoty**, t.j. odhad rozmezí hodnot, mezi nimiž leží na určité hladině spolehlivosti skutečná hodnota



POZOR!!! Nová jednotná národní terminologie: *Eurachem ČR 2009, Metodický list 2: „Jak překládat precision, accuracy a trueness?“*

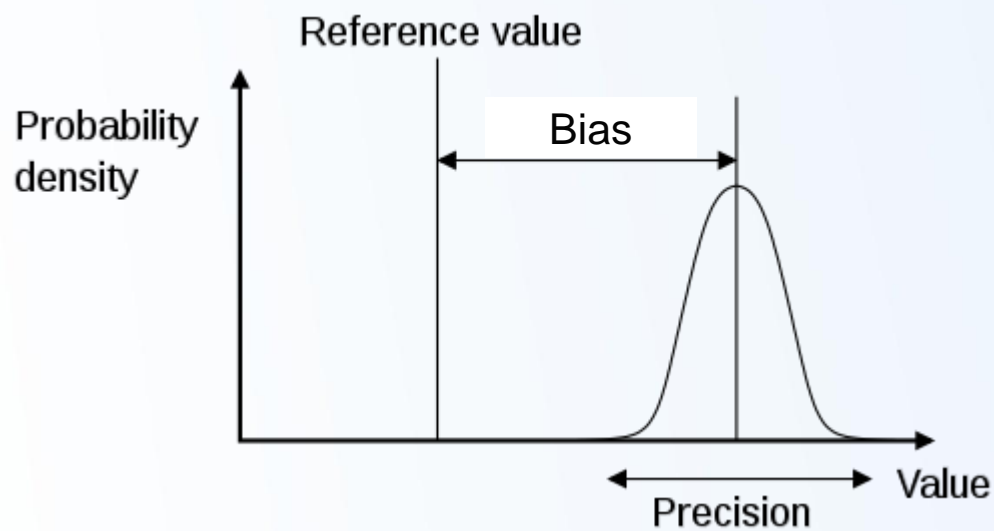
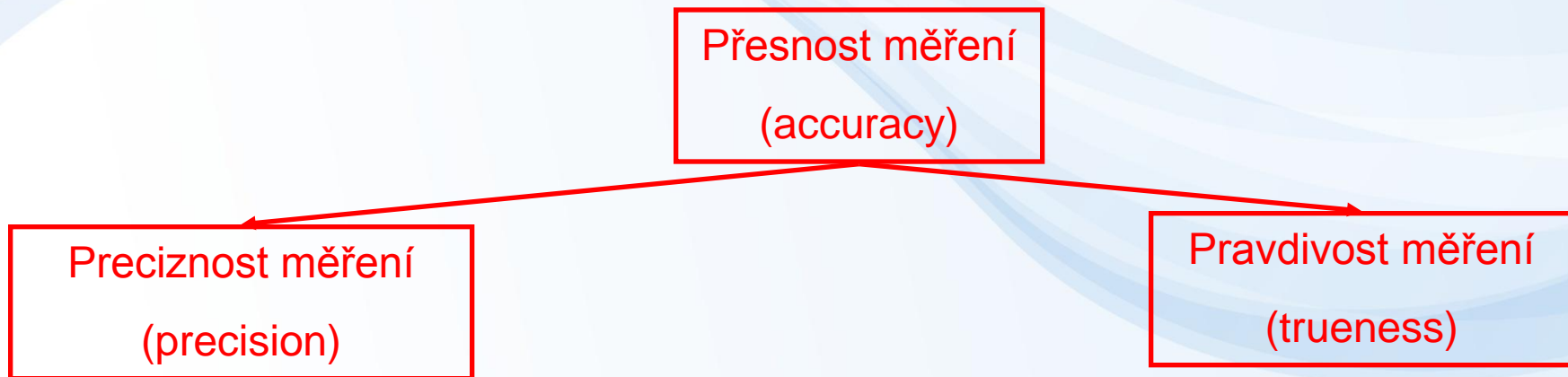


Složky chyby analytického výsledku ve vztahu k přesnosti metody







Faktory rozhodující o výběru postupu

3. Přesnost měření - accuracy

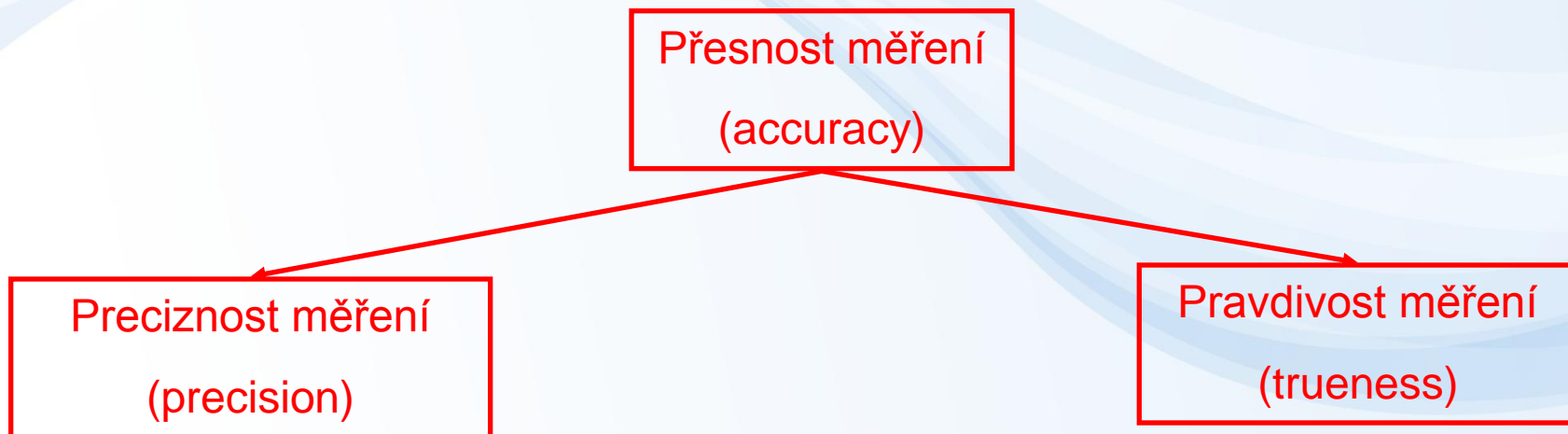


Accuracy (přesnost): **Preciznost** (precision) a **Pravdivost** (trueness)

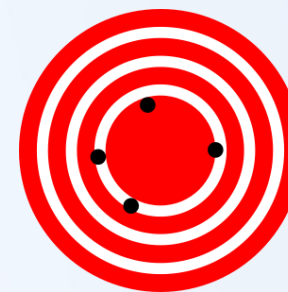
	Nevychýlený Accurate	Vychýlený Inaccurate (systematic error)
Precise Precizní		
Imprecise (reproducibility error) Neprecizní (problém reprodukovatelnosti)		

Faktory rozhodující o výběru postupu

3. Přesnost měření - accuracy



Vysoká preciznost
Velké vychýlení



Nízká preciznost
Malé vychýlení

POZOR!!! Nová jednotná národní terminologie: *Eurachem ČR 2009*,
Metodický list 2: „Jak překládat precision, accuracy a trueness?“



Faktory rozhodující o výběru postupu

4. Preciznost měření - precision

- je těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky zkoušek získaných za dohodnutých podmínek
- závisí pouze na rozdělení náhodných chyb a **nemá žádný vztah ke správné hodnotě**
- Vypočítá se jako směrodatná odchylka výsledků zkoušek z opakovaných měření



Faktory rozhodující o výběru postupu

4. Preciznost měření - precision

Mez opakovatelnosti (r) = repeatability je hodnota, pod níž lze se zadanou pravděpodobností 95 % předpokládat, že leží absolutní rozdíl výsledků dvou jednotlivých zkoušek, získaných stejnou metodou se stejným zkoušeným materiálem za stejných podmínek a neuplatňují se jiné pravděpodobnostní vlivy.

Mezilehlá preciznost vyjadřuje variabilitu uvnitř laboratoře v různých dnech, s různými analytiky, různým vybavením, atd. Běžně se odečítá z regulačních diagramů.

Mez reprodukovatelnosti (R) je hodnota, pod níž lze se zadanou pravděpodobností 95 % předpokládat, že leží absolutní rozdíl výsledků dvou jednotlivých zkoušek, získaných stejnou metodou se stejným zkoušeným materiálem za rozdílných podmínek, a neuplatňují se jiné pravděpodobnostní vlivy.



$$RSD = 100 \times \frac{SD}{\bar{x}}$$

$$r = 2.83 \times SD_r$$

$$R = 2.83 \times SD_R$$

Faktory rozhodující o výběru postupu

4. Preciznost – Horwitzova funkce

Table 4. Horwitz function as an empirical relationship between the precision of an analytical method and the concentration of the analyte regardless of the nature of the analyte, matrix and the method used. Acceptable RSD_R and RSD_r values according to [27] and to AOAC International [8,14] (PVM= Peer Verified Methods (Program))

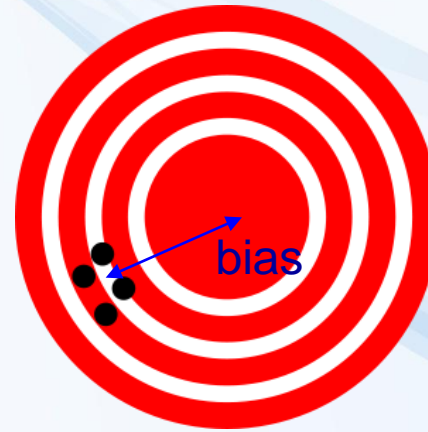
Analyte %	Analyte ratio	Unit	Horwitz %RSD	AOAC PVM %RSD
100	1	100%	2	1.3
10	1.00E-01	10%	2.8	2.8
1	1.00E-02	1%	4	2.7
0.1	1.00E-03	0.10%	5.7	3.7
0.01	1.00E-04	100 ppm	8	5.3
0.001	1.00E-05	10 ppm	11.3	7.3
0.0001	1.00E-06	1 ppm	16	11
0.00001	1.00E-07	100 ppb	22.6	15
0.000001	1.00E-08	10 ppb	32	21
0.0000001	1.00E-09	1 ppb	45.3	30

Trends in Analytical Chemistry, Vol. 23, No. 8, 2004

Faktory rozhodující o výběru postupu

5. Pravdivost - trueness

- Těsnost shody mezi výsledkem aritmetickým průměrem nekonečného počtu opakovaných naměřených hodnot veličiny a přijatou referenční hodnotou
- představuje obecné systematické chyby nebo **vychýlení (bias)**



% vychýlení

Z-skóre = rozdíl mezi naměřenou hodnotou veličiny a certifikovanou referenční hodnotou

Porovnání metody s jinou, referenční metodou

Jestliže není CRM k dispozici:

% výtažnosti (recovery) známého přidaného množství analytu

$$z = \frac{X_{found} - X_{certified}}{\sqrt{\frac{SD_{found}}{n_{found}} + \left(\frac{SD_{certified}}{n_{certified}}\right)^2}}$$

$$z = \frac{X_{found} - X_{certified}}{\sqrt{\frac{SD_{found}}{n_{found}} + \left(\frac{CI}{2}\right)^2}}$$

if CRMs are used:
Z-score $\leq |2|$

Přijatelné hodnoty výtěžnosti – funkce koncentrace analytu

Table 5. Acceptable recovery percentages as a function of the analyte concentration [8]

Analyte%	Analyte ratio	Unit	Mean recovery (%)
100	1	100%	98–102
10	1.00E – 01	10%	98–102
1	1.00E – 02	1%	97–103
0.1	1.00E – 03	0.10%	95–105
0.01	1.00E – 04	100 ppm	90–107
0.001	1.00E – 05	10 ppm	80–110
0.0001	1.00E – 06	1 ppm	80–110
0.00001	1.00E – 07	100 ppb	80–110
0.000001	1.00E – 08	10 ppb	60–115
0.0000001	1.00E – 09	1 ppb	40–120

L. Huber (Ed.), Validation and Qualification in Analytical Laboratories, Interpharm Press, East Englewood, CO, USA, 1998.

Faktory rozhodující o výběru postupu

6. **Specifičnost** - specificity

- míra, do níž se navzájem ovlivňují analyt a ostatní přítomné látky přítomné v matrici nebo z ní extrahované
- schopnost metody stanovit přesně a konkrétně analyt v přítomnosti jiných složek v matrice vzorku za stanovených podmínek zkoušky



Specificita = 100% selektivita

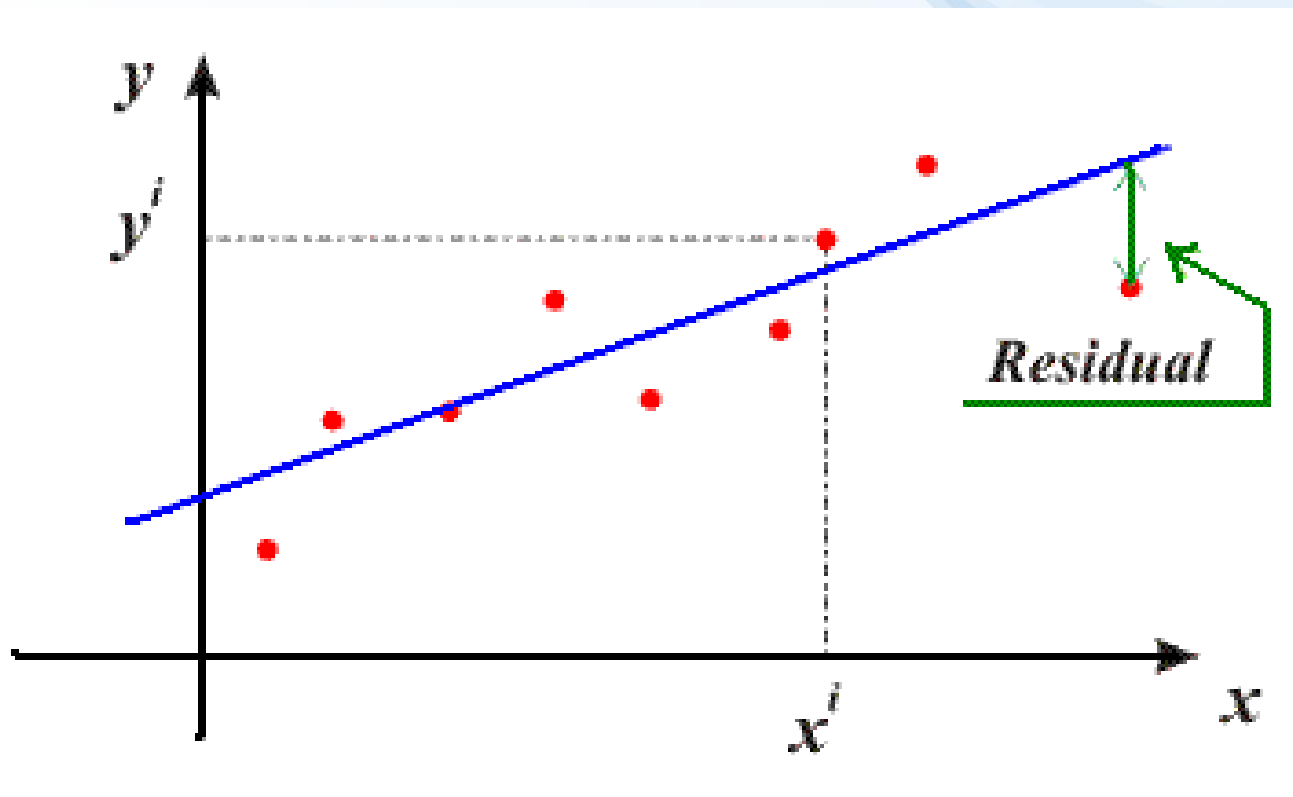
Nedá se vyjádřit, musí se demonstrovat, napr.

- *% správné klasifikace*
- *schopnost diskriminace příbuzných látek*

Faktory rozhodující o výběru postupu

7. Linearita - linearity

- schopnost metody získat výsledek testu úměrný koncentraci analytu (v pracovním rozsahu koncentrací)



Faktory rozhodující o výběru postupu

8. Robustnost - ruggedness/robustness

- Míra kapacity analytického postupu zůstat neovlivněna malými, úmyslnými změnami parametrů metody – demonstruje spolehlivost metody při běžném použití
- *Míra, do níž lze postup modifikovat*

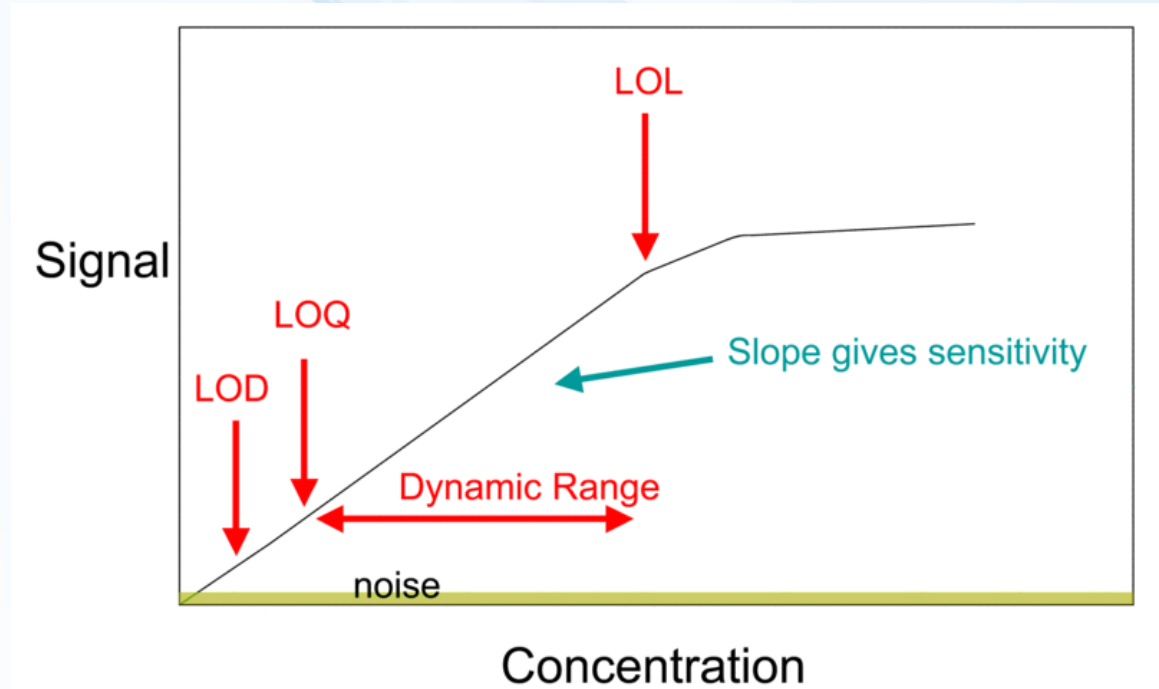
%RSD (inter laboratory)



Faktory rozhodující o výběru postupu

9. Citlivost - Sensitivity

- Metoda se nazývá citlivá, pokud malé změny v koncentraci nebo množství analytu způsobí velkou změnu měřeného signálu



mez detekce (LOD)
limit kvantifikace (LOQ),
dynamický rozsah
limit linearity (LOL).

PŘÍČINY NESPRÁVNÝCH ANALYTICKÝCH VÝSLEDKŮ

- nekvalifikovanost / nedostatečná péče
- nevhodný postup
- kontaminace
- interference
- chyby v kalibraci
- chyby vzorkování
- ztráty / rozklad



preventivní opatření pro zajištění validity výsledků

- Replikace
- Testy výtěžnosti
- Slepý vzorek
- Alternativní postupy
- Alternativní detekce
- Referenční materiály

Validační programy

Existují programy pro validaci, například **EffiChem** a **EffiValidation**. Používají se v akreditovaných laboratořích a farmaceutickém průmyslu, od roku 1998 už stovky uživatelů.

Poskytuje možnost provozu lokálně nebo v síti, možnost různých druhů validace (plná, průzkumová, retrospektivní, převod metody). Obsahuje moduly pro validaci metod, nejistoty, regulační diagramy, kalibrace, mezilaboratorní porovnávání, evidenční knihy, validací software.

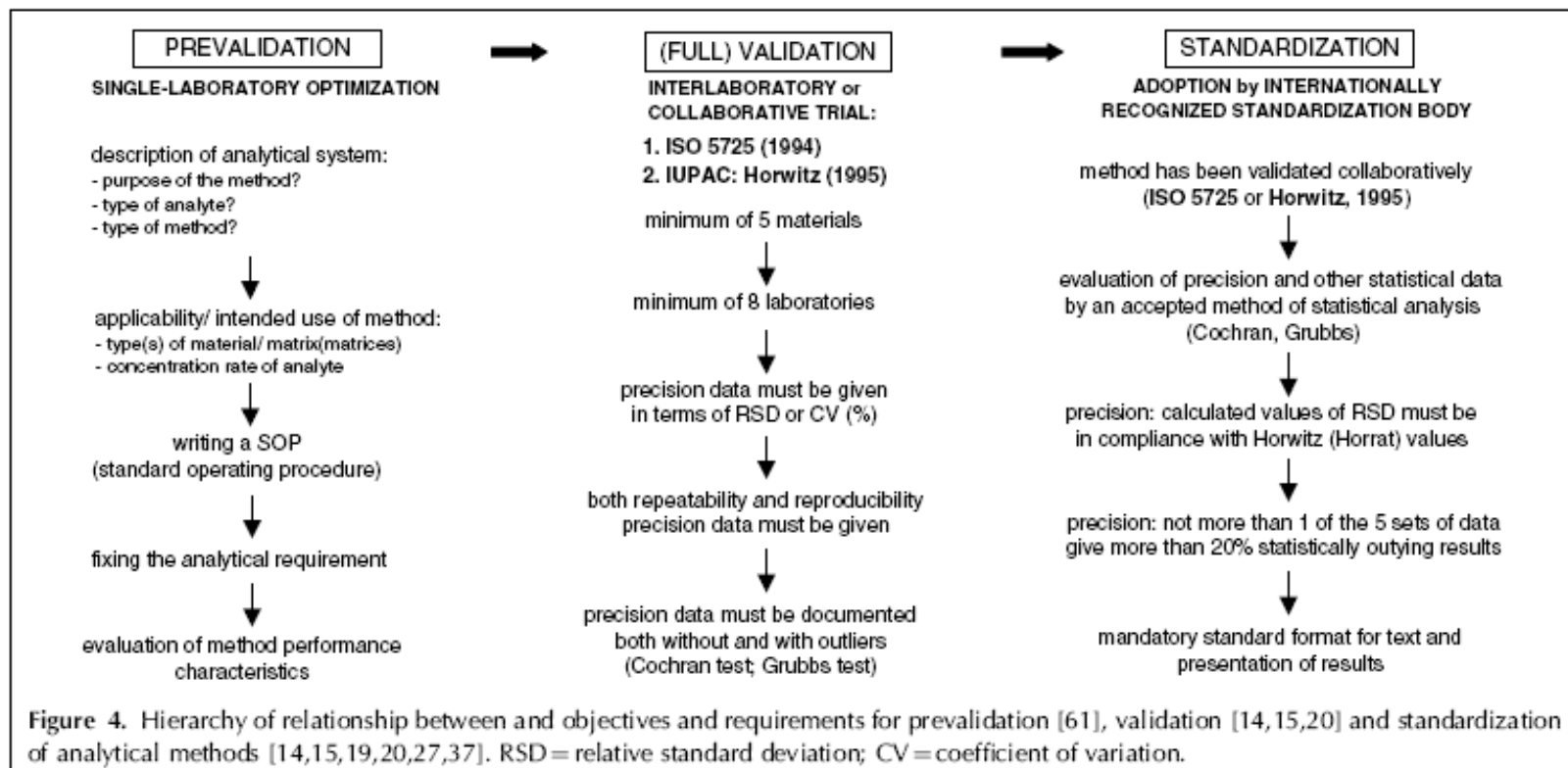
Vyhodnocení poskytuje detailní výsledky a globální závěr, detekci odlehlých bodů, testování normality, grafy. Je možné výsledky tisknout, různě sestavovat, archivovat, exportovat

Kontrola kalibrace v celém rozsahu se provádí při každém podstatném zásahu do systému, nejméně dvakrát ročně. Z ní je možné určit **citlivost** (porovnáním odezvy systému), **linearitu** (testujeme těsnost proložení kalibrační křivky regresní funkcí a vypočteme korelační koeficient), **mez detekce a stanovení** (kontrolu meze detekce provádíme aspoň jednou ročně na deseti vzorcích, porovnáme s dřívějšími hodnotami). S každou sérií měření se provádí **kontrola kalibrace** na jednom standardu.

Pracovní rozsah metody hledáme obvykle v souvislosti s požadavky legislativy. Je to koncentrační oblast, ve které může být dosaženo přijatelné pravdivosti a preciznosti.

Pravdivost a preciznost metody určujeme pomocí opakovaných měření referenčních materiálů, obvykle se vyhodnocuje na dvou významných bodech pracovního rozsahu, kontrola vždy po 50 analýzách, jednou týdně, při nestabilitě systému nebo na začátku důležité série.

VALIDACE ANALYTICKÝCH METOD



Měření



Návaznost měření

Zařízení, které má významný vliv na přesnost nebo platnost výsledků zkoušek nebo vzorkování musí být **kalibrováno**.

Podle metodického pokynu MPA 30-02-97 provádějí kalibrace jen laboratoře Českého metrologického institutu (ČMI) nebo Akreditované kalibrační laboratoře (AKL).

Návaznost je nutná jednak na jednotky SI, jednak na referenční materiály.

Pro zajištění kvality kalibrací a výsledků je nutné

- pravidelné používání CRM (CRM nejvyšší kvality, definovaná nejistota, expirace, RM z MPZ, vlastní RM)
- opakování zkoušek
- pravidelná účast v mezilaboratorním porovnávání způsobilosti laboratoří (MPZ). Podle MPA 30-02-02 má laboratoř povinnost se účastnit dostupných MPZ ve své oblasti působnosti, může se pak prokázat osvědčením o účasti.

KALIBRACE MĚŘENÍ

- **Kalibrování přístroje** - porovnání měřené veličiny s hodnotou reference
 - *primární standardy - systém mezinárodně uznávaných etalonů*
 - *sekundární kalibrační standardy*
 - *přenosné kalibrační standardy*
 - *pracovní kalibrační standardy*
- **návaznost** = schopnost odkazovat zpět k jedinému kalibračnímu standardu
 - kalibrace použitím čistých chemických sloučenin
 - matricové referenční materiály



CHEMICKÉ KALIBRAČNÍ STANDARDY A REFERENČNÍ MATERIÁLY



Referenční materiál

Materiál nebo látka, jejíž jedna nebo více hodnot vlastností je dostatečně homogenní a dobře stanovená, aby mohl(a) být použit(a) ke kalibraci přístroje, posouzení měřicí metody nebo k přiřazení hodnot materiálů

Certifikovaný referenční materiál (CRM)

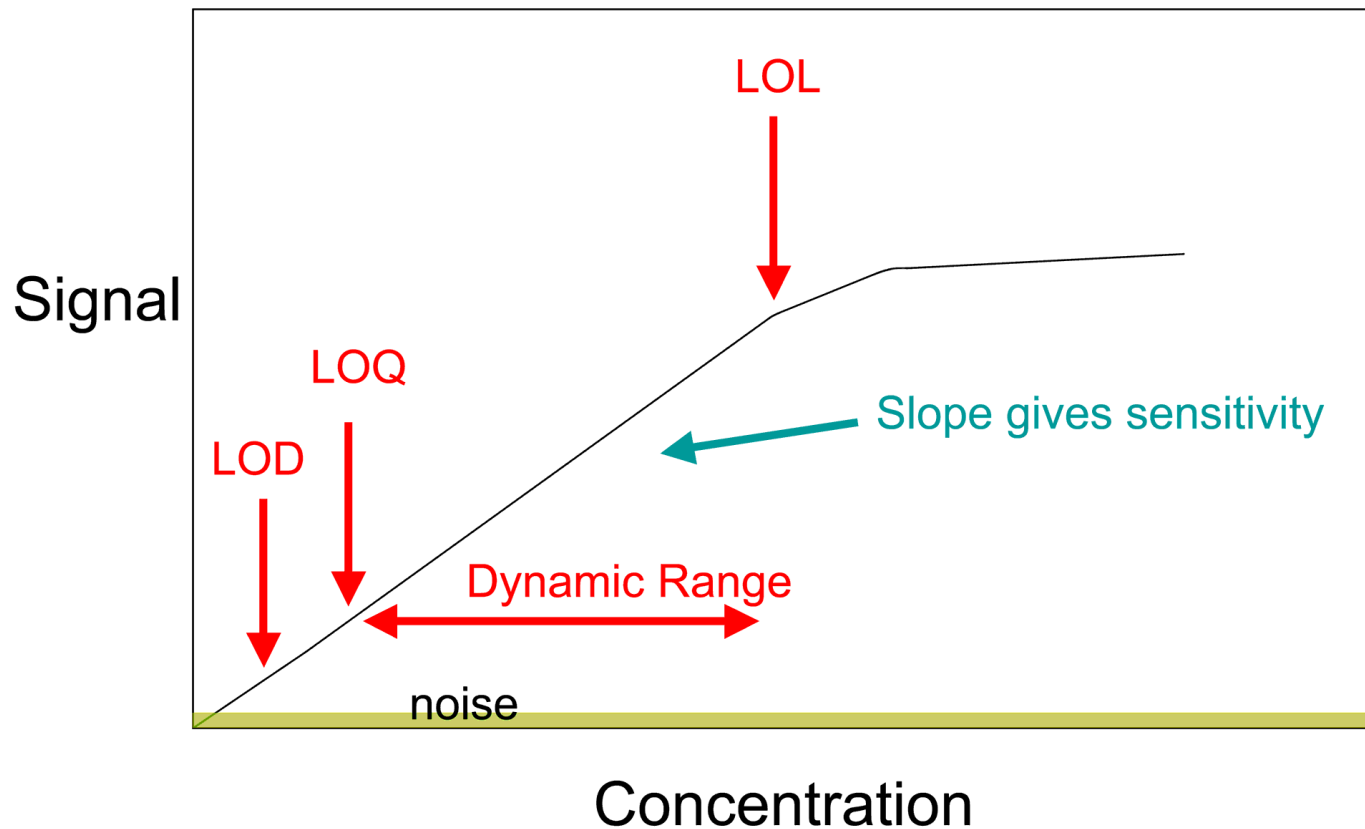
Referenční materiál doprovázený certifikátem, jehož jedna nebo více vlastností jsou certifikovány postupem, který vytváří návaznost na správnou realizaci jednotky, v níž jsou hodnoty vlastností vyjádřeny, a jehož každá certifikovaná hodnota je doprovázena nejistotou na uvedené hladině spolehlivosti

POUŽITÍ CRM

- kalibrace a verifikace měřicích procesů za běžných podmínek,
- interní kontrola kvality a programy zabezpečení kvality,
- ověření správného používání normovaných metod,
- vývoj a validaci nových postupů měření,
- definování hodnot jiných materiálů, které se mohou používat jako sekundární kalibrační standardy.



Externí kalibrace

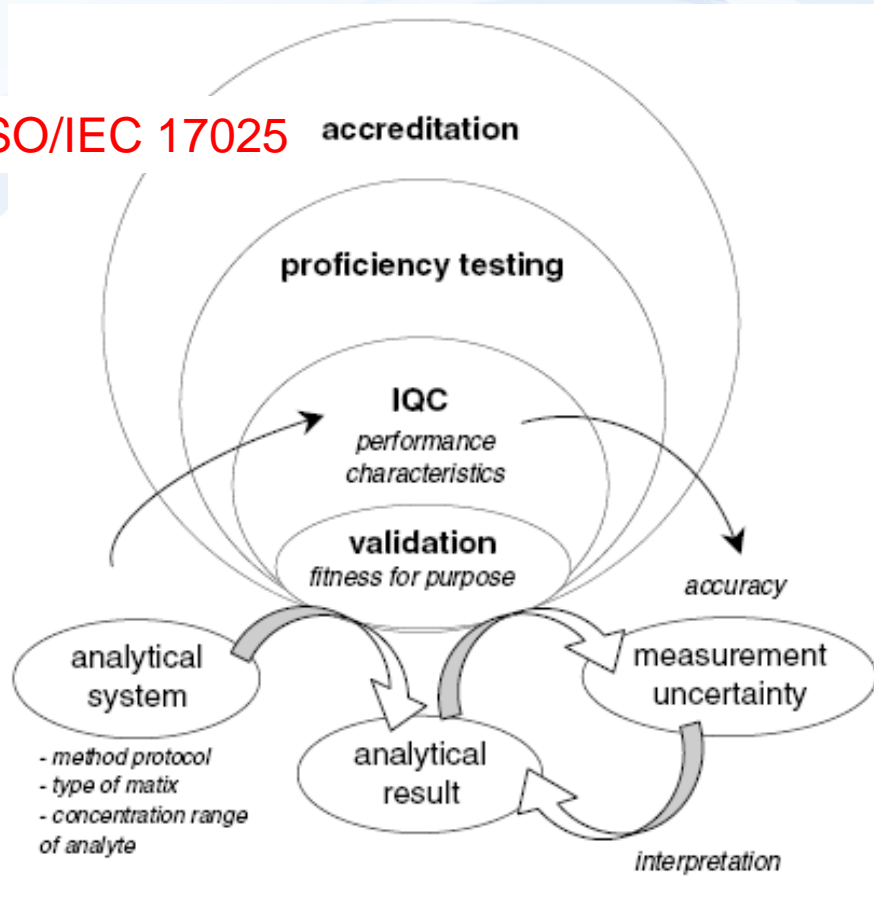


Vnitřní kalibrace

- Zahrnuje přidání chemického kalibračního standardu přímo do vzorku, takže se standard a vzorek měří fakticky současně
- **vnitřní standard** - přímo analyt nebo blízká látka. Ta se obvykle vybírá tak, aby nebyla přítomna ve vzorku, ale aby se chovala v měřicím procesu podobně jako analyt
- **standardní přídavek** - vnitřní standard stejný jako analyt

Úrovně prokazování kvality (QA)

ISO/IEC 17025



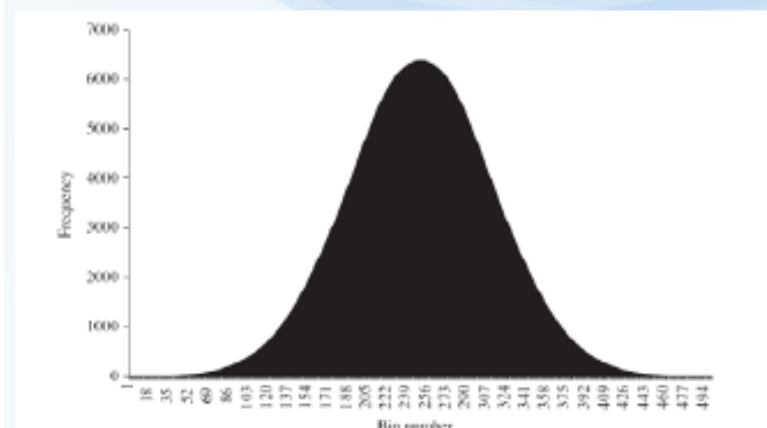
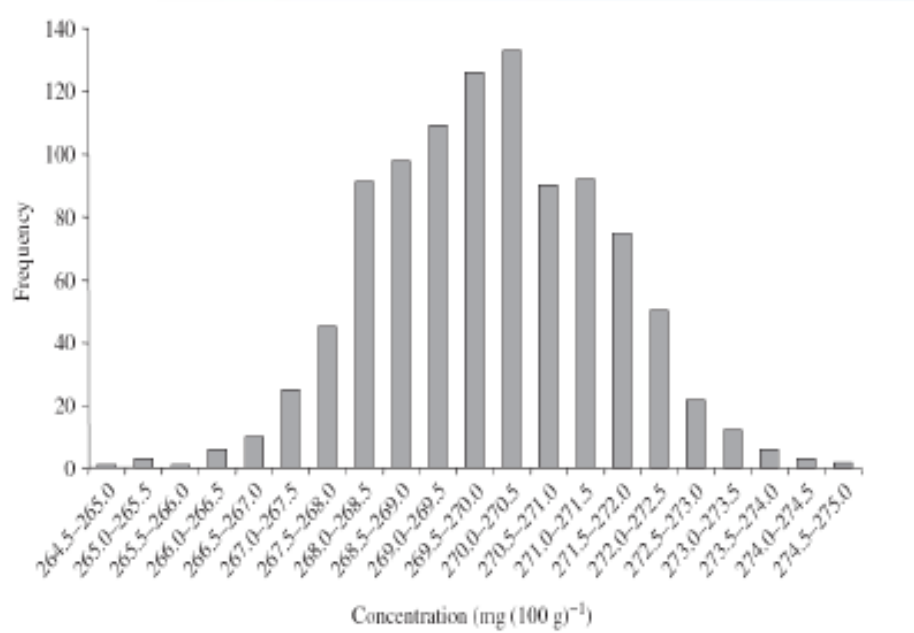
- validace a standardisace metod
- IQC (vnitřní řízení kvality) – použití referenčních materiálů, regulačních diagramů
- účast na mezilaboratorních porovnávacích zkouškách
- akreditace

ŘÍZENÍ KVALITY MĚŘENÍ

- Slepé vzorky
- Vzorky řízení kvality (QC)
- Opakované vzorky
- Tajné kontrolní vzorky
- Chemické kalibrační standardy a přídavky (spiky)

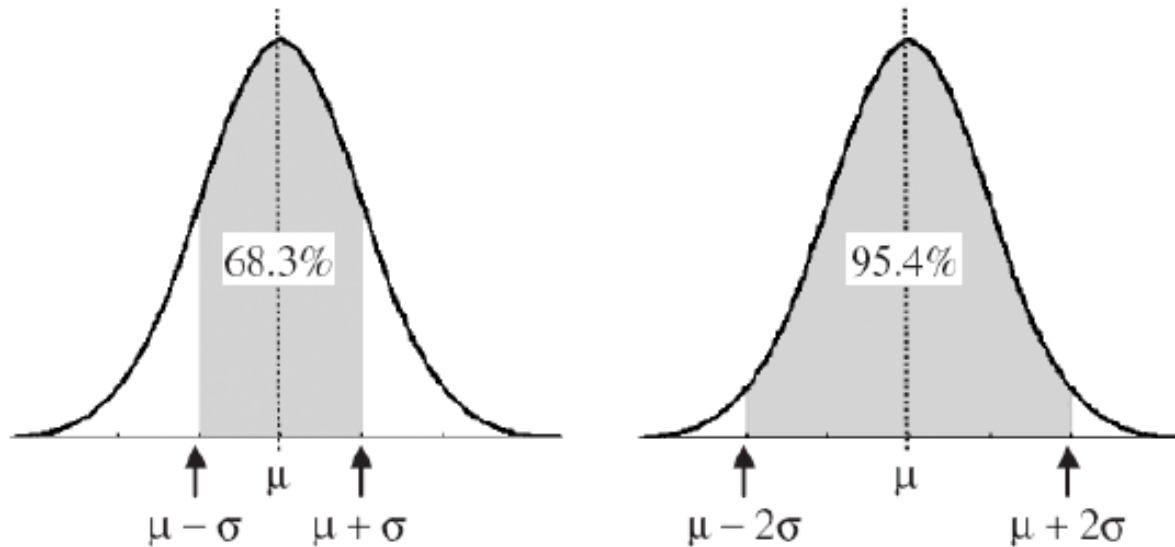
REGULAČNÍ DIAGRAMY

- Soubor výsledků = *populace*
- střední hodnotu = *průměr - μ*
- hodnoty jsou nejčastěji rozděleny symetricky kolem průměru normálním *Gaussovým rozdělením*



REGULAČNÍ DIAGRAMY

- Distribuci hodnot kolem průměru určuje **směrodatná odchylka - σ** .

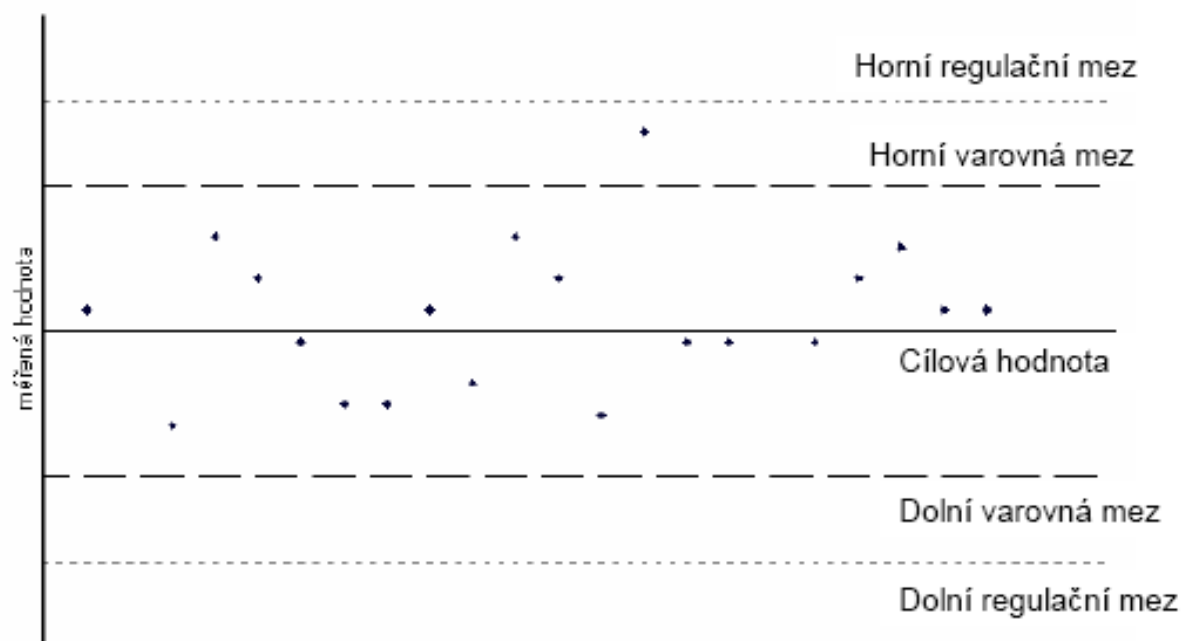


- 68 % hodnot leží uvnitř ± 1 standardní odchylky od střední hodnoty
- 95 % hodnot leží uvnitř ± 2 standardních odchylek od střední hodnoty
- 99,7 % leží uvnitř ± 3 standardních odchylek od střední hodnoty

Pokud tomu tak není, nastala pravděpodobně v měřicím systému nějaká změna, která významně změnila jeho výkonnost a způsobila posunutí průměru nebo zvětšení směrodatné odchylky.

Shewhartův regulační diagram

- nejjednodušší typ regulačního diagramu
- monitorování každodenních variací analytického procesu



Varovné meze – cílová hodnota (průměr) ± 2 směrodatné odchytky

Regulační meze – cílová hodnota (průměr) ± 3 směrodatné odchytky

Regulační diagram

slouží k monitorování výsledků v čase, je založen na periodickém měření referenčních materiálů.

Konstrukce:

- centrální přímka je zjištěná průměrná hodnota X
- horní a dolní varovná mez $X \pm 2\sigma$ (95.5% výsledků uvnitř)
- horní a dolní regulační mez $X \pm 3\sigma$ (99.7% výsledků uvnitř)

Neakceptovatelné je, pokud je

- naměřená hodnota mimo regulační meze
- sedm po sobě jdoucích hodnot klesajících nebo stoupajících
- sedm po sobě jdoucích hodnot pod nebo nad centrální přímkou
- dvě ze tří následujících hodnot mimo varovné meze

Porovnávání laboratoře s jinými



MEZILABORATORNÍ STUDIE

MEZILABORATORNÍ STUDIE

Test výkonnosti
postupu

Test výkonnosti
laboratoře

Několik laboratoří analyzuje společný materiál, který distribuovala centrální laboratoř, odpovědná též za shromáždění dat a jejich vyhodnocení.



PROGRAMY ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI

- Laboratorním účastnícím se programu se předají vzorky a vyzvou se, aby analyzovaly jednu nebo více složek postupy, které pro stanovení určených analytů běžně používají.
- Hodnocení způsobilosti se vyjadřuje v pojmech skóre, které lze snadno interpretovat statistickými termíny.

Organizování programů zkoušení způsobilosti

- **Koordinující orgán stanoví pravidla průběhu testů a postupy interpretace dat.**
- Seznámí s nimi účastníky, aby přesně porozuměli jak program proběhne a jak se budou jejich výsledky vyhodnocovat.
- **Materiály se vybírají tak, aby pokud možno co nejvíce reprezentovaly běžně analyzovaný materiál, co se týká matrice a koncentračního rozsahu analytu.**
- Před distribucí se u materiálu musí testovat homogenita
- Po dokončení analýz vzorků podá laboratoř zprávu o výsledcích koordinátorovi, jenž pro každou laboratoř vytvoří skóre.

Hodnocení testů způsobilosti

- z-skóre

$$z = \left| \frac{x_i - A}{s} \right|$$

x_i je naměřená hodnota koncentrace analytu, A je ‚skutečná‘ hodnota koncentrace analytu, s je zvolená směrodatná odchylka. Organizátoři musí určit pro tuto rovnici dva parametry, A a s .

Odhad ‚skutečné‘ hodnoty A

- Přídavkem známého množství analytu k matrici, která jej neobsahuje.
- Použití konsensuální hodnoty vytvořené skupinou expertních laboratoří s použitím nejlepších dostupných metod
- Použití konsensuální hodnoty vytvořené v založené na výsledcích účastníků

Odhad směrodatné odchyly s

- Použití cílové směrodatné odchyly, která charakterizuje analyt při dané koncentraci
- Výpočet směrodatné odchyly z výsledků dodaných všemi laboratořemi v programu
- směrodatná odchylyka z mezilaboratorních testů, kde všichni účastníci testu používali stejný postup

Z - skóre

- Požadujeme-li 95% spolehlivost svých výsledků, pak jsou meze přijatelných hodnot z $+2$ až -2 .

$|z| \leq 2$ uspokojivé

$2 \leq |z| < 3$ problematické

$|z| > 3$ neuspokojivé

Odhad nejistot

Podle požadavků normy ISO/IEC 17 025 se laboratoř musí přinejmenším pokusit identifikovat všechny složky nejistoty, udělat její přiměřený odhad a zajistit, aby nevzbuzovala nesprávnou představu o hodnotě nejistoty. Takový odhad musí být založen na znalosti provedení metody a na rozsahu měření a musí používat údajů o validaci, měření kontrolních vzorků a předchozích zkušenostech. Nejistota vždy odpovídá dané koncentrační úrovni. Laboratoř musí mít zpracovány postupy pro stanovení nejistoty měření.

Alternativy:

- z regulačních diagramů (z individuálních nebo opakovaných měření)
- z dat pro vyhodnocení preciznosti (vícenásobná měření nebo paralelní měření)
- z parciálních nejistot

Standardní nejistota je nejistota výsledku vyjádřená jako směrodatná odchylka

Kombinovaná standardní nejistota je nejistota výsledku měření, je-li výsledek získán z hodnot odpovídajících několika dalším veličinám (například druhá mocnina rozptylů)

Rozšířená nejistota definuje interval hodnot zahrnující výsledek měření

Vyjadřování výsledků analýz v blízkosti meze detekce

Stanovení mezí detekce a stanovitelnosti (oblast **LOD-LOQ** limit of detection, limit of quantification) je nezbytné pro určení rozumné míry nejistot měření.

Výsledky měření jsou **pravděpodobnostní intervaly** určené střední hodnotou a směrodatnou odchylkou. Relativní směrodatná odchylka roste se snižující se koncentrací. Skutečná hodnota leží s 95% pravděpodobností uvnitř intervalu spolehlivosti, který je dán nulovou koncentrací a dvojnásobkem střední hodnoty. Údaje v oblasti $X < LOD$ nejsou regulérními kvantitativními údaji. Je třeba rozlišit a hlásit dva rozdílné případy:

- $X < LOD$
- nestanoveno (pro případ vlivu interferencí).

Mají-li data v této oblasti pro uživatele význam, je nutné snížit hodnotu LOD.

Před zahájením analýzy

- lokalizovat vzorky;
- přesvědčit se, že má k dispozici platný výtisk **standardního operačního postupu**;
- přečíst si postup, pokud jej zevrubně nezná;
- ověřit, že jsou všechny potřebné přístroje dostupné a v dobrém stavu, čisté a správně kalibrované;
- naplánovat sled činností a náplň každého kroku

Před zahájením analýzy

- uvážit všechna rizika související s postupem a s používáním některých činidel.
- je pro práci vymezena dostatečná a čistá plocha na pracovním stole;
- připadá-li v úvahu zvýšené riziko, může být nutný dozor.
- ověřit, že je potřebné nádobí čisté, neporušené a podle potřeby kalibrované.
- ověřit, že jsou zásoby činidel, kalibračních standardů a referenčních materiálů dostatečné a v odpovídajícím stupni čistoty.
- naplánovat postupy likvidace například použitých vzorků, činidel a kontaminovaných zařízení;
- naplánovat postupy očisty zařízení.

V průběhu analýzy

- zjistěte detaily o každém vzorku, jeho stav a odkazy na připojené doklady;
- ověřte ještě před otevřením vzorkovnic, že vzorky mají správnou teplotu;
- odeberte vzorky a zajistěte, aby byl každý dostatečně označen v každém kroku analýzy, aby byl sledovatelný zpět k původnímu vzorku;
- pokud se používá přístroj vícekrát pro různé vzorky, zajistěte potřebné čištění mezi každým použitím, abyste zamezili vzájemné kontaminaci;
- pokud postup nestanoví jinak, je správný sled činností: potřebná kalibrace; je-li kalibrace uspokojivá, proveďte kontroly kvality; pokud jsou kontroly kvality uspokojivé, proveďte analýzy vzorků. Když se vzorky analyzují v sériích, jsou během série nutné pravidelné kontroly kalibrací a kvality; postupujte přesně podle písemného popisu postupu.
- zaznamenávejte srozumitelně pozorování, data a neobvyklé detaily postupu, tak jak se to doporučuje.

Po analýze

- ze získaných dat vypočítejte požadované odpovědi, přičemž hledejte obvyklé chyby jako je nesouhlas duplikátních vzorků, pozitivní výsledky tam, kde očekáváme negativní, atd.;
- kontrolujte přenosy dat a výpočty, s výhodou někým jiným než osobou, která pracovala na úkolu.;
- vzorky se musí uchovávat alespoň do té doby, než bude napsána vyhovující zpráva.
- Vzorek se může uchovávat i déle podle zásad laboratoře, nebo se může vrátit zákazníkovi nebo zlikvidovat.
- oblast laboratoře používaná k práci, příslušné vybavení a přístroje se musí dekontaminovat, očistit a ponechat pro další práci vyčištěné

Uvádění výsledků

Protokol o zkoušce musí obsahovat

- název a identifikaci protokolu
- název a adresu laboratoře
- název a adresu zákazníka
- identifikaci použitých metod
- popis zkoušené položky
- datum přijetí vzorku a provedení analýz
- odkaz na plán a postup vzorkování
- výsledky zkoušek včetně jednotek
- identifikace osob podepisujících protokol