

# برازش هدف

## متدهای تجزیه

ویرایش دوم – ۲۰۱۴



# برازش هدف متدهای تجزیه

## راهنمای آزمایشگاهی صحه‌گذاری متد و موضوعات مرتبط

ویرایش دوم - ۲۰۱۴

### قدردانی

این سند، از سوی اعضای گروه کاری صحه‌گذاری متد در یوراکم (EURACHEM) و دیگر نفرات منتخب برای این کار ایجاد شده است.

### Project group

Vicki Barwick	LGC (UK)
Pedro P. Morillas Bravo	Canal de Isabel II Gestion (ES)
Stephen L. R. Ellison	LGC (UK)
Joakim Engman	National Food Agency (SE)
Elin L. F. Gjengedal	Norwegian University of Life Sciences (NO)
Ulla Oxenbøll Lund	Eurofins Miljø A/S (DK)
Bertil Magnusson (editor)	SP Technical Research Institute of Sweden (SE)
Hans-Thomas Muller	Mersin (TR)
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanita (IT)
Barbara Pohl	Merck KGaA (DE)
Piotr Robouch	European Commission (EU)
Lorens P. Sibbesen (chairman)	Labquality International (DK)
Elvar Theodorsson	University Hospital in Linköping (SE)
Florent Vanstapel	University Hospital Leuven, Leuven (BE)
Isabelle Vercauteren	BELAB (BE)
Aysun Yilmaz	Cevre Food and Industrial Analysis Laboratory (TR)
Perihan Yolci Omeroglu	Okan University (TR)
Ulf Ornemark (editor)	Emendo Dokumentgranskning (SE)

### حقوق انحصاری اثر ©

حقوق انحصاری این سند در اختیار نویسندگان همکار می‌باشد. تمام درخواست‌های مربوط به تکثیر این سند به هر طریقی، نظیر ترجمه می‌بایست با دبیرخانه یوراکم در میان گذاشته شود. متن سند نمی‌تواند برای فروش مجدد کپی برداری شود.

### نقل قول پیشنهادی

این اثر می‌بایست با عنوان ذیل ذکر شود:

B. Magnusson and U. Ornemark (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.

قابل دسترس از طریق [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)



## فهرست مطالب

۱	پیش‌گفتار ویرایش دوم
۲	پیش‌گفتار ویرایش اول
۳	کوتاه‌نوشت‌ها و نمادها
۵	۱. مقدمه
۵	۱.۱ مبنای منطقی و دامنه کاربرد این راهنما
۶	۲.۱ نکاتی در مورد استفاده از این راهنما
۶	۱.۲.۱ واژه‌شناسی
۶	۲.۲.۱ مراجع خلاصه
۷	۲. صحه‌گذاری متد چیست؟
۷	۱.۲ تعاریف
۷	۲.۲ تفاوت بین صحه‌گذاری و تصدیق
۹	۳. ضرورت صحه‌گذاری متد
۹	۱.۳ اهمیت اندازه‌گیری تجزیه
۹	۲.۳ وظیفه حرفه‌ای شیمیدان تجزیه
۱۰	۳.۳ توسعه متد
۱۱	۴. چه زمانی می‌بایست متدها صحه‌گذاری یا تصدیق شوند؟
۱۱	۱.۴ صحه‌گذاری متد
۱۱	۲.۴ تصدیق متد
۱۳	۵. متدها چگونه می‌بایست صحه‌گذاری شوند؟
۱۳	۱.۵ چه کسانی صحه‌گذاری متد را انجام می‌دهند؟
۱۳	۱.۱.۵ رویکردهای صحه‌گذاری متد
۱۳	۲.۱.۵ رویکرد بین آزمایشگاهی
۱۳	۳.۱.۵ رویکرد آزمایشگاه تک
۱۳	۲.۵ گسترده‌گی مطالعات صحه‌گذاری
۱۴	۳.۵ طرح و گزارش صحه‌گذاری
۱۵	۴.۵ ابزارهای صحه‌گذاری
۱۵	۱.۴.۵ بلانک‌ها
۱۵	۲.۴.۵ نمونه‌های آزمایشی روتین
۱۵	۳.۴.۵ مواد/ محلول‌های نشانه‌دار
۱۵	۴.۴.۵ مواد بارشده
۱۶	۵.۴.۵ استانداردهای اندازه‌گیری
۱۶	۶.۴.۵ علم آمار
۱۶	۵.۵ الزامات صحه‌گذاری
۱۶	۶.۵ فرایند صحه‌گذاری متد
۱۹	۶. مشخصه‌های عملکردی متد
۱۹	۱.۶ گزینش‌پذیری
۱۹	۱.۱.۶ اصطلاح‌ها و تعاریف
۱۹	۲.۱.۶ اثرات مزاحمت‌ها
۱۹	۳.۱.۶ ارزیابی گزینش‌پذیری
۲۰	۲.۶ حد تشخیص و حد تعیین کمی
۲۰	۱.۲.۶ اصطلاح‌ها و تعاریف
۲۱	۲.۲.۶ تعیین انحراف استاندارد در سطوح پایین
۲۳	۳.۲.۶ تخمین LOD

۲۴.....	۴.۲.۶ تخمین LOQ.....
۲۵.....	۵.۲.۶ روش‌های اجرایی جایگزین.....
۲۶.....	۶.۲.۶ توانایی تشخیص آنالیز کیفی.....
۲۶.....	۳.۶ گستره‌ی کاری.....
۲۶.....	۱.۳.۶ تعریف.....
۲۶.....	۲.۳.۶ ملاحظات مطالعه صحه‌گذاری.....
۲۷.....	۳.۳.۶ گستره‌ی کاری دستگاه و متد.....
۲۷.....	۴.۳.۶ ارزیابی گستره‌ی کاری دستگاه.....
۲۸.....	۵.۳.۶ ارزیابی گستره‌ی کاری متد.....
۳۰.....	۴.۶ حساسیت تجزیه‌ای.....
۳۰.....	۱.۴.۶ تعریف.....
۳۰.....	۲.۴.۶ کاربردها.....
۳۰.....	۵.۶ درستی.....
۳۰.....	۱.۵.۶ واژگان توصیف کیفیت اندازه‌گیری.....
۳۱.....	۲.۵.۶ تعیین بایاس.....
۳۴.....	۳.۵.۶ تفسیر اندازه‌گیری‌های بایاس.....
۳۵.....	۶.۶ دقت.....
۳۵.....	۱.۶.۶ تکرار.....
۳۵.....	۲.۶.۶ شرایط دقت.....
۳۶.....	۳.۶.۶ حدود دقت.....
۳۶.....	۴.۶.۶ تعیین هم‌زمان دقت میانی و تکرارپذیری.....
۳۸.....	۷.۶ عدم قطعیت اندازه‌گیری.....
۳۸.....	۸.۶ استحکام.....
۳۸.....	۱.۸.۶ تعریف.....
۳۸.....	۲.۸.۶ آزمون استحکام.....
۴۱.....	۷. استفاده از متدهای صحه‌گذاری شده.....
۴۳.....	۸. استفاده از داده‌های صحه‌گذاری در طراحی کنترل کیفیت.....
۴۳.....	۱.۸ مقدمه.....
۴۳.....	۲.۸ کنترل کیفیت داخلی.....
۴۴.....	۳.۸ کنترل کیفیت خارجی.....
۴۵.....	۹. مستندسازی متدهای صحه‌گذاری شده.....
۴۵.....	۱.۹ از پیش‌نویس تا نسخه نهایی.....
۴۵.....	۲.۹ توصیه‌ها.....
۴۵.....	۱.۲.۹ بازبینی دستورالعمل‌ها.....
۴۵.....	۲.۲.۹ توصیه‌های استانداردها.....
۴۵.....	۳.۲.۹ کنترل سند.....
۴۷.....	۱۰. استفاده از داده‌های صحه‌گذاری در محاسبه و گزارش نتایج.....
۴۹.....	پیوست A. پروتوکل مستندسازی متد.....
۵۳.....	پیوست B. مبنای آماری محاسبات حد تشخیص.....
۵۴.....	پیوست C. تحلیل واریانس (ANOVA).....
۵۶.....	پیوست D. نکاتی در مورد آنالیز کیفی.....
۵۹.....	کتاب‌شناسی.....

## پیش‌گفتار ویرایش دوم

از زمان ویرایش اول این راهنما در سال ۱۹۹۸ تاکنون توسعه‌های مهم زیادی در کیفیت اندازه‌گیری‌های تجزیه رخ داده است. اولاً، سری استانداردهای ISO 9000 که به طور گسترده جهت ایجاد زیربنایی برای سیستم مدیریت کیفیت استفاده می‌شوند، دو مرتبه تجدید نظر شده‌اند. فلسفه آن، ایجاد یک بخش منسجم از استانداردها و راهنماهای ارزیابی انطباق بین‌المللی است که زیربنای الزامات صلاحیت آزمایشگاه‌ها، تأمین‌کنندگان آزمون مهارت (PT) و تولیدکنندگان مواد مرجع (RM) را تشکیل می‌دهد. تمامی این مستندات بر اهمیت استفاده از متدهای صحت‌گذاری شده تأکید می‌کنند.

ثانیاً، چند راهنمای عمومی و راهنمای بخش ویژه در رابطه با صحت‌گذاری متد، تجدید نظر شده و یا توسعه یافته‌اند. قوانین اتحادیه اروپا شامل الزامات اجباری برای اندازه‌گیری‌های تجزیه در بسیاری از بخش‌ها می‌باشند.

ثالثاً، در این مدت جامعه تجزیه تلاش کرده تا نسبت به گذشته، بیشتر از مفهوم عدم قطعیت استفاده کند. برای مثال، آیوپاک در دستورالعمل‌های هماهنگ شده خود برای صحت‌گذاری متدهای آنالیزی آزمایشگاه تک (2002) پیش‌بینی کرد که «... شیمی‌دان‌های تجزیه با تکیه بر عدم قطعیت اندازه‌گیری به عنوان شاخص کلیدی برازش هدف و اعتمادپذیری نتایج، رفته‌رفته صحت‌گذاری اندازه‌گیری را برای تأیید تخمین عدم قطعیت اجرا خواهند کرد...» در سال‌های گذشته، نهادهای تأیید صلاحیت، خط مشی‌ها و مستندات راهنمایی را منتشر کرده‌اند که در آن‌ها به طور آشکار استفاده از داده‌های صحت‌گذاری متد در فرایند تخمین عدم قطعیت اندازه‌گیری به رسمیت شناخته شده است.

به علاوه، واژگان اندازه‌شناسی بین‌المللی؛ مفاهیم پایه و عمومی و اصطلاح‌های مرتبط (VIM) با گنجاندن اندازه‌گیری‌های شیمیایی و بیولوژیکی در آن‌ها به طور چشمگیری تجدید نظر شده‌اند. گرچه واژه‌شناسی مرتبط با صحت‌گذاری متد، هنوز از هماهنگ‌سازی کامل فاصله زیادی دارد، اما وضعیت نسبت به گذشته بهبود یافته است. VIM، همچنین یک سند دستوری برای آزمایشگاه‌های اکریدیت، برای مثال آزمایشگاه‌های دارای ISO/IEC 17025 و ISO 15189 به شمار می‌آید.

هدف ویرایش دوم این راهنما، انعکاس تغییرات در راهنماهای مستند و استانداردهای بین‌المللی و تأکید کمتر بر واژگان و تعاریف می‌باشد. در این رابطه، راهنما به VIM و دیگر منابع با دسترسی آسان ارجاع می‌دهد. در نتیجه، فهرست واژگان و تعاریف از پیوست حذف شده است. نوشته‌های علمی استفاده شده در ویرایش این راهنما در کتاب‌نامه پایانی آورده شده است. منابع اضافی و مقالات علمی مرتبط با توسعه متد و صحت‌گذاری به شکل یک «فهرست مطالب خواندنی» (Reading List) تحت آیت‌م منوی «نشریات» (Publications) در وب سایت یوراکم به آدرس [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org) در دسترس می‌باشند.

پیوست A، به خاطر تغییرات ISO 78-2 مورد بازبینی قرار گرفته است. این ویرایش توسعه یافته و در آن اطلاعات مربوط به پایه آماری محاسبات حد تشخیص (پیوست B)، تحلیل واریانس (پیوست C) و آنالیز کیفی (پیوست D) نیز گنجانده شده است.

رفته‌رفته در آزمایشگاه‌های روتین، به خصوص بخش بالینی این امر متداول می‌شود که از سیستم‌های اندازه‌گیری در دسترس تجاری استفاده کنند. این بدان معنی است که مسئولیت صحت‌گذاری به طور عمده بر عهده سازنده می‌باشد. لذا آزمایشگاه بر تصدیق داده‌های عملکردی منتشر شده از سوی سازنده تمرکز داشته و نشان خواهد داد که آیا متد بر اساس پیش‌فرض‌های کاربر کار می‌کند یا خیر.

هر چند با نگاهی به مقدمه اولین ویرایش، نتیجه می‌گیریم که شش اصول بیان شده در آنجا هنوز هم مطرح است و با الزامات استانداردهای بین‌المللی نظیر ISO/IEC 17025 مطابقت دارند.

## پیش گفتار ویرایش اول<sup>۱</sup>

مرجع قانونی پیشتاز در بریتانیا جهت ارتقای شایسته در اندازه‌گیری تجزیه، شش اصل عملیات تجزیه را شناسایی می‌کند که همگی آن‌ها با هم به عنوان مؤلفه‌های بهترین عملیات تجزیه در نظر گرفته می‌شوند. شش اصلی که با جزئیات بیشتر در یک راهنمای جدا توصیف می‌شوند،<sup>۲</sup> عبارتند از:

۱. «اندازه‌گیری‌های تجزیه می‌بایست برای برآورده نمودن یک الزام توافقی انجام شوند.» (یعنی برای یک هدف تعریف شده).
  ۲. «اندازه‌گیری‌های تجزیه می‌بایست با استفاده از مندها و تجهیزاتی انجام شوند که اطمینان برازش هدف آن‌ها مورد آزمایش قرار گرفته باشند.»
  ۳. «پرسنل اجرای اندازه‌گیری‌های تجزیه می‌بایست آموزش دیده و برای اجرای وظیفه محوله دارای صلاحیت باشند.» (و نشان داده شود که آن‌ها می‌توانند آنالیز را به طور صحیح اجرا کنند).
  ۴. «می‌بایست یک ارزیابی مستقل و منظم از عملکرد فنی آزمایشگاه وجود داشته باشد.»
  ۵. «اندازه‌گیری‌های تجزیه انجام شده در یک مکان می‌بایست با دیگر اندازه‌گیری‌های انجام شده در مکان‌های دیگر سازگار باشند.»
  ۶. «سازمان‌هایی که اندازه‌گیری تجزیه انجام می‌دهند می‌بایست دارای روش‌های اجرایی کنترل کیفیت و تضمین کیفیت با تعریف روشن باشند.»
- این اصول، چه برای آزمایشگاه‌هایی که جداگانه کار می‌کنند و چه آزمایشگاه‌هایی که لازم است نتایج تولیدی آن‌ها با نتایج دیگر آزمایشگاه‌ها مقایسه شوند، به یک اندازه مطرح می‌باشند.
- هدف این سند در اصل یاری رساندن به آزمایشگاه‌ها برای اجرای اصل ۲، با ارائه راهنمایی‌های لازم در رابطه با برآورد مندهای آزمایشی جهت نشان دادن برازش هدف آن‌ها می‌باشد.

۱. ویرایش اول (۱۹۹۸) این راهنما توسط گروه کاری یوراکم و از پیش‌نویس ارائه شده از سوی LGC توسعه پیدا کرد. افراد زیر، اعضای گروه یوراکم در آن زمان بودند:

D. Holcombe, P. De Bievre, D. Bottger, 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. Meyers-Verbeke, R. Stephany, M. Suchanek, C. Vandervoort, H. Verplaetse, H. Wallien, M. Walsh, W. Wegscheider, D. Westwood, H. J. van de Wiel.

۲. راهنمای مدیر VAM، دپارتمان صنعت و تجارت بریتانیا، برنامه اندازه‌گیری تجزیه معتبر. منتشر شده به شکل اصول VAM. M.Sargent. Anal.Proc, 1995, 32, 201-202.



## کوتهنوشته‌ها و نمادها

مخفف‌ها، کوتهنوشته‌ها و نمادهای زیر در این سند استفاده می‌شوند.

AMC	کمیته متدهای تجزیه‌ای
ANOVA	تحلیل واریانس
AOAC International	سازمان جهانی رسمی توسعه استانداردهای AOAC
ASTM International	سازمان جهانی رسمی توسعه استانداردهای ASTM
BIPM	اداره بین‌المللی اوزان و مقیاس‌ها
CCQM	کمیته مشورتی مقدار ماده اندازه‌شناسی در شیمی
CEN	کمیته اروپایی استانداردسازی
CITAC	انجمن قابلیت ردیابی بین‌المللی در شیمی تجزیه
CLSI	انستیتوی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی
CRM	ماده مرجع گواهی‌دار
EA	انجمن اروپایی تایید صلاحیت
EC	کمیسیون اروپایی
EPA	آژانس حفظ محیط زیست
EQA	ارزیابی کیفیت خارجی
EU	اتحادیه اروپا
GUM	ارزیابی داده‌های اندازه‌گیری - راهنمای بیان عدم قطعیت اندازه‌گیری
ICH	کنفرانس بین‌المللی هماهنگ‌سازی الزامات فنی برای ثبت مواد دارویی با مصارف انسانی
IEC	کمیسیون الکترونیک بین‌المللی
ISO	سازمان جهانی استانداردسازی
IUPAC	اتحادیه بین‌المللی شیمی محض و کاربردی
JCGM	کمیته مشترک راهنماها در اندازه‌شناسی
LOD	حد تشخیص
LOQ	حد تعیین کمی
NATA	انجمن ملی مراجع آزمون
QA	تضمین کیفیت
QC	کنترل کیفیت
RSC	انجمن سلطنتی شیمی
SANCO	مدیریت کل کمیسیون اروپایی بهداشت و مصرف‌کنندگان
SOP	روش اجرایی استاندارد
PT	آزمون مهارت
RM	ماده مرجع
RSD	انحراف استاندارد نسبی
UV/VIS	ماوراء بنفش / مرئی
VIM	واژگان بین‌المللی اندازه‌شناسی - مفاهیم پایه و عمومی و واژگان مرتبط

$b$	بایاس مطلق
$b(\%)$	بایاس نسبی به (%)
$k_Q$	ضریب استفاده شده در محاسبه حد کمی‌سازی
$m$	تعداد اندازه‌گیری‌ها
$n$	تعداد مشاهدات تکراری معدل‌گیری شده هنگام گزارش نتایج
$n_b$	تعداد مشاهدات بلانک معدل‌گیری شده هنگام محاسبه تصحیح بلانک
$r$	حد تکرارپذیری
$R$	حد تجدیدپذیری
$R(\%)$	بازیابی نسبی (بازیابی ظاهری) به درصد
$R'(\%)$	بازیابی نشانه نسبی به درصد
$s$	انحراف استاندارد
$s_0$	انحراف استاندارد تخمینی نتایج تک در غلظت صفر و یا نزدیک صفر
$s'_0$	انحراف استاندارد استفاده شده برای محاسبه LOD یا LOQ
$s_l$	انحراف استاندارد دقت میانی
$s_r$	انحراف استاندارد تکرارپذیری
$s_R$	انحراف استاندارد تجدیدپذیری
$u$	عدم قطعیت استاندارد
$\bar{x}$	مقدار میانگین (معدل ریاضی)
$x_{ref}$	مقدار مرجع
$\bar{x}_{ref}$	مقدار میانگین اندازه‌گیری‌ها با متد جایگزین، برای مثال یک متد مرجع
$\bar{x}'$	مقدار میانگین نمونه نشانه‌دار در آزمایش بازیابی
$x_{spike}$	غلظت افزوده شده در آزمایش بازیابی

## ۱. مقدمه

رابطه با جنبه‌های فنی خاص صحنه‌گذاری، مراجع لازم برای مطالعات بیشتر را نیز شامل می‌شود.

هدف این راهنما صحنه‌گذاری متدهای کمی می‌باشد. با این حال، بعضی از اصول توصیف شده آن، برای متدهای کیفی جهت تعیین حضور یک یا تعداد بیشتری آنالیت، برای مثال مفاهیم گزینش‌پذیری و حد تشخیص (LOD)، نیز کاربرد دارند.

راهنما به توضیح مفاهیم آماری نمی‌پردازد، هر چند بدون شک افرادی که دارای دانش کاربردی از آمار مقدماتی باشند، درک پروسه صحنه‌گذاری متد و به کارگیری آن برایشان آسان‌تر خواهد شد. چند مرجع چاپ شده در رابطه با نشریات آمار پایه برای شیمی‌دان‌ها وجود دارد [4, 5, 6].

این واقعیت که بسیاری از اصطلاح‌های فنی و اندازه‌شناسی استفاده شده جهت توصیف فرایندهای ارزیابی متدها در بخش‌های مختلف اندازه‌گیری تجزیه هم از لحاظ معنا و هم از لحاظ روش تعیین با یکدیگر فرق می‌کنند، درک تجزیه‌گر از صحنه‌گذاری متد را محدود کرده است. این راهنما نمی‌تواند بگوید که کجا یک اصطلاح مورد استفاده صحیح و یا غلط می‌باشد، هر چند سعی می‌کند شفاف‌سازی‌هایی را در این زمینه فراهم کند. بهترین توصیه هنگام استفاده از یک واژه که ممکن است از آن برداشت غلط شود، بیان منبع و قرارداد مورد استفاده در آن می‌باشد.

در پروسه صحنه‌گذاری متد، به طور ضمنی این نکته وجود دارد که مطالعات انجام شده جهت تعیین مشخصه‌های عملکردی متد<sup>۱</sup> با استفاده از تجهیزات انجام می‌شوند که درون ویژگی‌های دستگاه به شکل صحیح کار می‌کنند و به اندازه کافی کالیبره می‌شوند. بنابراین، این راهنما به خصوص مفاهیم مربوط به «صلاحیت تجهیز» یا «صلاحیت دستگاهی» را پوشش نمی‌دهد. به همین صورت، تجزیه‌گر نیز می‌بایست در زمینه کاری تحت مطالعه، دارای صلاحیت و دانش کافی مرتبط با کار باشد، طوری که بتواند حین پیشرفت مطالعه بر اساس مشاهدات انجام شده، تصمیم‌های مناسب را نیز اتخاذ کند.

۱. هم‌معنی‌هایی که به طور معمول برای مشخصه‌های عملکردی متد استفاده می‌شوند، عبارتند از «پارامترهای عملکردی متد»، «مشخصه‌های اندازه‌شناسی» و «ویژگی‌های عملکردی».

## ۱.۱ مبنای منطقی و دامنه کاربرد این راهنما

صحنه‌گذاری متد، یک الزام مهم در عملیات آنالیز شیمیایی است. اکثر شیمی‌دان‌های تجزیه از اهمیت آن آگاه هستند، اما این که چرا و چه زمانی می‌بایست انجام شود و دقیقاً چه نیازهایی می‌بایست در آن برآورده شوند، همیشه برای آن‌ها روشن نیست.

بعضی از تجزیه‌گرها عادت کرده‌اند که صحنه‌گذاری متد را به صورت فرایندی ببینند که فقط با مشارکت دیگر آزمایشگاه‌ها قابل اجراست و در نتیجه از آن خودداری می‌کنند. الزامات استانداردهایی نظیر ISO/IEC 17025 [1]، ISO 15189 [2] و ISO 15195 [3] به شفاف‌سازی این موضوع کمک کرده‌اند. برای مثال، در بند 5.4.2، ISO/IEC 17025 بر ضرورت این که آیا متدها برازنده هدف هستند، تأکید می‌شود:

«آزمایشگاه باید از متدهای کالیبراسیون و/ یا آزمایش، از جمله متدهایی برای نمونه‌برداری استفاده کند که نیازهایی مشتری را برآورده کند و متناسب با آزمایش‌ها و/ یا کالیبراسیون‌هایی باشد که بر عهده می‌گیرد...» و در ادامه: «وقتی مشتری متد مورد استفاده را مشخص نکند، آزمایشگاه باید متدهای مناسب را انتخاب کند...»

هدف این راهنما بحث درباره مسائل مربوط به صحنه‌گذاری متد و افزایش فهم و درک خوانندگان در مورد مراحل انجام و چرایی اهمیت آن و ارائه ایده‌هایی در مورد چگونگی انجام آن‌ها می‌باشد. انتظار می‌رود که این راهنما بیش از همه برای الف) مدیران مسئول آزمایشگاه جهت کسب اطمینان از اعتبار کافی متدهای تحت نظارت آن‌ها و ب) تجزیه‌گرهای مسئول برنامه‌ریزی و اجرای مطالعات روی متدها برای اهداف صحنه‌گذاری، مفید واقع شود. دیگر پرسنل - پرسنل ارشد از دیدگاه مدیریت و پرسنل زیردست از دیدگاه آموزشی یا فنی - نیز می‌توانند از این راهنما به عنوان یک منبع اطلاعاتی استفاده کنند.

تمرکز راهنما بر صحنه‌گذاری آزمایشگاه تک می‌باشد. هدف آن، راهنمایی خواننده به سمت پروتوکلهایی است که از قبل وجود داشته و در مواردی که آن‌ها وجود ندارند، مقدمه‌ی ساده‌ای را در رابطه با فرایندهای درگیر در صحنه‌گذاری ارائه داده و بعضی از ایده‌های اساسی را در اختیار خوانندگان قرار می‌دهد تا آن‌ها خود بتوانند راهکارهای صحنه‌گذاری را طراحی کنند. این راهنما، در

در پروسه‌های نمونه‌برداری، ممکن است از اصطلاح‌های آنالیز و نمونه‌برداری نظیر «هدف نمونه‌برداری»، «نمونه اولیه»، «جزء فزایشی»، «نمونه مرکب»، «زیرنمونه»، «نمونه آزمایشگاهی»، «نمونه آزمایشی»، «بخش آزمایشی» و «محلول آزمایشی» استفاده شود [15, 16]. در این راهنما، ما به طور نرمال از واژه‌ی عمومی «نمونه» یا «نمونه آزمایشی» استفاده می‌کنیم [17]. اصطلاح‌های مهم استفاده شده در این راهنما در متن تعریف می‌شوند. هر جا که امکان داشته، تعریف‌های VIM، ISO 9000، [9] و آیوپاک [17, 18] ارائه شده‌اند. واژگان مرتبط با شیمی تجزیه در VIM، با جزئیات بیشتر در راهنمای یوراکم با نام «واژه‌شناسی در اندازه‌گیری تجزیه» [8]، آورده شده است. کاربرها می‌بایست به این نکته توجه کنند که هنوز یک توافق‌همگانی در رابطه با تعریف بعضی از اصطلاح‌های مورد استفاده در صحنه‌گذاری متد وجود ندارد.

### ۲.۲.۱ مراجع خلاصه

در بخش ۶، مستطیل‌های سایه‌دار، پیشنهاد «مراجع خلاصه» در رابطه با مشخصه عملکردی خاص یک متد را نشان می‌دهند. هر چند که در اغلب موارد، آزمایشگاه‌ها برای اجرای آزمایش‌ها با جزئیات ارائه شده، از وقت و منابع کافی برخوردار نیستند. با این حال اجرای عملیات‌های توصیف شده در مستطیل‌ها و استفاده از تکرارهای کمتر از مقدار پیشنهاد شده نیز می‌توانند به اطلاعات مفیدی منجر شوند و یقیناً انجام این کار از این که اصلاً هیچ کاری در این زمینه انجام نشود بهتر است. با این حال، در مقایسه با حالتی که از تکرارهای کامل استفاده می‌شود، اطلاعات به دست آمده کمتر قابل اطمینان می‌باشند.

### ۲.۱ نکاتی در مورد استفاده از این راهنما

#### ۱.۲.۱ واژه‌شناسی

این راهنما اولین بار پانزده سال پیش منتشر شده است، لذا در بازنگری جدید، تمرکز اصلی، به‌روزرسانی واژگان و نوشته‌های علمی مرجع برای انعکاس پیشرفت‌های حاصل در این زمینه بوده است. با توجه به واژه‌شناسی که ما در اختیار داریم، هر جا که امکان داشته از ویرایش سوم VIM، چاپ اول، سال ۲۰۰۷، تبعیت شده است [7, 8] و هر جا که لازم بوده، جهت توصیف اصطلاح‌های متداول مورد استفاده در آزمایشگاه‌های تجزیه، واژه‌شناسی مورد استفاده در ISO/IEC 17025:2005 [1]، مستندات ISO، [9,10,11] و راهنماهای هماهنگ آیوپاک برای صحنه‌گذاری آزمایشگاه تک، 2002، [12]، به شکل مکمل آورده شده است.

در بعضی موارد، هنگامی که از چند اصطلاح یا واژه مشابه استفاده می‌شود، تصمیم‌گیری در مورد این که کدام اصطلاح را می‌بایست استفاده کرد، ممکن است مشکل باشد. برای شفافیت، استفاده از یک اصطلاح یا واژه به طور منسجم در سرتاسر این راهنما مهم تلقی شده است. یک مثال، اصطلاح استفاده شده برای توصیف سندی است که شرح جامعی از متد صحنه‌گذاری را با استفاده از پرسنل و تجهیزات در یک آزمایشگاه خاص ارائه می‌کند. برای آنالیز کمی، در VIM به روش اجرایی/اندازه‌گیری، در ISO/IEC 17025، به متد، در [2] ISO 15189، به روش اجرایی آزمایش و در بسیاری از آزمایشگاه‌ها به روش اجرایی عملیاتی استاندارد (SOP) تعبیر می‌شود. گروه کاری تصمیم گرفت تا به تعبیر ISO/IEC 17025 وفادار مانده و از اصطلاح کلی متد در این راهنما استفاده کند.

در نتیجه این راهنما از اصطلاح شناخته شده و متداول «صحنه‌گذاری متد» استفاده می‌کند، هر چند که «صحنه‌گذاری روش اجرایی» می‌توانست معنای دقیق‌تری داشته باشد. اصطلاح‌های «استحکام» و «گزینش‌پذیری» بر اصطلاح‌های «استواری» و «ویژگی» ترجیح داده می‌شوند [13]، زیرا دو اصطلاح اولی توسط آیوپاک استفاده می‌شوند [12].

برای توصیف کار آزمایشگاهی از اصطلاح‌های مختلفی نظیر «کالیبراسیون»، «اندازه‌گیری»، «آزمون»، «آنالیز» و «آزمایش» استفاده می‌شود. این راهنما از واژه‌ی «آنالیز» در مفهوم کلی خود استفاده کرده و هر جا که لازم باشد، شرایط مربوطه را توضیح خواهد داد. به شکل مشابه، این راهنما، علی‌رغم این که کمیت‌های دیگری نیز به طور منظم در آزمایشگاه شیمی بررسی می‌شوند، اغلب هنگام استفاده از واژه آنالیز به غلظت اندازه‌گیری شده اشاره دارد [14].

۱. نمونه آزمایشی: نمونه تهیه شده از نمونه آزمایشگاهی که از درون آن بخش‌های آزمایشی برای آزمایش یا برای آنالیز برداشته می‌شوند [17].

## ۲. صحه‌گذاری متد چیست؟

### ۱.۲ تعاریف

تعاریف صحه‌گذاری از سه سند بین‌المللی در جدول ۱ ارائه شده‌اند. صحه‌گذاری متد، اساساً فرایند تعریف یک الزام تجزیه‌ای و تأیید این نکته است که آیا قابلیت‌های متد مورد نظر با کاربردهای آن مطابقت دارند یا خیر. مسأله ذاتی در اینجا ضرورت ارزیابی عملکرد متد است. قضاوت درباره‌ی مناسبیت و شایستگی متد مهم است، هر چند که در گذشته توجه صحه‌گذاری متد تنها بر ارزیابی ویژگی‌های عملکردی متمرکز بود.

صحه‌گذاری متد معمولاً رابطه‌ی تنگاتنگی با توسعه متد دارد. بسیاری از ویژگی‌های عملکردی متد (جدول ۲) که با صحه‌گذاری متد مرتبط می‌باشند، معمولاً حداقل به شکل تقریبی و به عنوان بخشی از توسعه متد ارزیابی می‌شوند. با این حال، به خاطر داشته باشید که صحه‌گذاری رسمی نسخه‌ی نهایی متد (روش اجرایی مستند) نیز می‌بایست انجام شود.

بعضی از بخش‌ها از مفاهیم «صحه‌گذاری اولیه» و «صحه‌گذاری ثانویه» استفاده می‌کنند، که مورد دوم در مفهوم تصدیق به کار برده می‌شود [19]. به نظر می‌رسد مفاهیم «صلاحیت» و «تأیید اندازه‌شناسی» [20] نیز اصطلاح تصدیق را پوشش دهند (جدول ۱).

### ۲.۲ تفاوت بین صحه‌گذاری و تصدیق

ISO 9000 [9]، تصدیق را به صورت «تأیید از طریق فراهم آوردن شواهد عینی که بتواند الزامات معینی را برآورده کند» تعریف می‌کند. این تعریف خیلی شبیه به تعریف صحه‌گذاری در جدول ۱ است. VIM تصدیق را به شکل «فراهم آوردن شواهد عینی که در آن یک آیتم معین الزامات خاصی را برآورده می‌کند» تعریف کرده و «جایی که الزامات تعیین شده برای استفاده مورد نظر کافی می‌باشند»، صحه‌گذاری همان تصدیق است.

یک آزمایشگاه ممکن است یک روش اجرایی معتبر، برای مثال یک استاندارد منتشر شده را پذیرفته و یا سیستم اندازه‌گیری کاملی را جهت کاربرد خاص از یک شرکت تجاری بخرد. در هر دو مورد اگر چه کار صحه‌گذاری پایه قبلاً انجام شده است، اما با این حال لازم است تا آزمایشگاه توانایی‌اش را در به کارگیری متد تأیید کند، که این همان تعریف تصدیق است. یعنی برای آن که نشان داده شود متد در آزمایشگاه کاربر به درستی کار می‌کند، می‌بایست مقداری کار آزمایشگاهی انجام گیرد. هر چند در مقایسه با صحه‌گذاری متد که درون سازمان توسعه پیدا کرده، احتمالاً حجم کاری به مقدار قابل ملاحظه‌ای کمتر خواهد بود.

اصطلاح‌های صحه‌گذاری و تصدیق در راهنمای یوراکم با نام «واژه‌شناسی در اندازه‌گیری تجزیه» بیشتر بحث می‌شوند [8].

جدول ۱. تعاریف مفهوم «صحه‌گذاری» در ISO 9000، ISO/IEC 17025 و VIM

مرجع	تعریف
ISO 9000 [9] <sup>a</sup>	تأیید از طریق فراهم آوردن شواهد عینی که الزامات مورد نظر و یا کاربرد معین در آن برآورده می‌شوند.
ISO/IEC 17025 [1]	تأیید از طریق بررسی و فراهم آوردن شواهد عینی که الزامات خاص برای استفاده مورد نظر برآورده می‌شوند.
VIM [7] <sup>b</sup>	تصدیق است، جایی که الزامات خاص برای استفاده مورد نظر کافی باشند.
<p>a. ISO 9000، «فرایند شایستگی» را به شکل «فرایندی برای نشان دادن توانایی جهت برآورده نمودن الزامات معین» تعریف می‌کند.</p> <p>b. VIM، «تصدیق» را به شکل «فراهم آوردن شواهد عینی که در آن یک آیتم معین، الزامات تعیین شده را برآورده می‌سازد» تعریف می‌کند.</p>	

جدول ۲. مرور کلی مشخصه‌های عملکردی که معمولاً هنگام صحنه‌گذاری متد ارزیابی می‌شوند

مشخصه‌های عملکردی
گزینش پذیری
حد تشخیص (LOD) و حد کمی‌سازی یا تعیین (LOQ)
گستره‌ی کاری
حساسیت تجزیه‌ای
درستی
• بایاس، بازیابی
دقت
• تکرارپذیری، دقت میانی و تجدیدپذیری
عدم قطعیت اندازه‌گیری <sup>a</sup>
استحکام (استواری)
a. در معنای دقیق، عدم قطعیت اندازه‌گیری، مشخصه عملکردی یک روش اجرایی اندازه‌گیری خاص به حساب نمی‌آید، بلکه در واقع ویژگی نتایج به دست آمده با استفاده از روش اجرایی اندازه‌گیری می‌باشد.

### ۳. ضرورت صحه‌گذاری متد

برای این که نتیجه یک تجزیه برای استفاده‌ی مورد نظر برانده باشد، آن نتیجه می‌بایست به اندازه کافی قابل اعتماد باشد تا بتوان بر پایه آن هر تصمیم اتخاذ شده را با اطمینان بیان کرد. بنابراین، عملکرد متد می‌بایست صحه‌گذاری شده و عدم قطعیت نتیجه نیز می‌بایست در یک سطح اطمینان معین تخمین زده شود. تخمین عدم قطعیت می‌بایست به شکلی بیان شود که به طور گسترده به رسمیت شناخته شده باشد، بدین معنا که از لحاظ داخلی منسجم بوده و به راحتی تفسیر شود [21]. بسیاری از اطلاعات لازم جهت تخمین عدم قطعیت می‌تواند حین صحه‌گذاری متد به دست آید. این موضوع به طور خلاصه در بخش ۷.۶ مطرح شده و با جزئیات بیشتر در راهنمای یوراکم/سیتک با عنوان «تعیین کمی عدم قطعیت در اندازه‌گیری تجزیه» ارائه شده است [22].

بدون ملاحظه این نکته که یک متد تا چه اندازه شایسته است و چقدر ماهرانه از آن استفاده می‌شود، یک مشکل تجزیه‌ای می‌تواند به راحتی با آنالیز نمونه‌ها حل شود، البته به شرطی که آن نمونه‌ها برای مسأله تجزیه‌ای مناسب باشند. نمونه‌برداری مناسب کار ماهرانه‌ای است که مستلزم درک مسأله و شیمی مرتبط با آن می‌باشد. آزمایشگاه، هر جا که امکان داشته باشد، می‌بایست توصیه‌هایی را به مشتری در رابطه با نمونه‌برداری‌ها، به عنوان بخشی از وظیفه خدمات مشتری خود، مطرح کند. آشکار است که وضعیت‌هایی وجود خواهند داشت که خود آزمایشگاه نمی‌تواند نمونه‌برداری‌ها را انجام داده و یا برفرایند نمونه‌برداری‌ها تأثیر داشته باشد. در این مواقع، نتایج آنالیز می‌بایست بر پایه نمونه‌های دریافتی گزارش شده و گزارش نیز می‌بایست این تمایز را آشکارا نشان دهد. ما اغلب (و به درستی) بر هدف کلی اجرای صحه‌گذاری متد، یعنی نشان دادن این که آیا متدها «برانده هدف» هستند تمرکز کرده‌ایم. با این حال، می‌بایست اذعان کرد که مطالعه صحه‌گذاری متد مزایای اضافی دیگری نیز برای آزمایشگاه اجراکننده صحه‌گذاری به همراه خواهد داشت. صحه‌گذاری متد، تجربه و دانش کامل از جزئیات عملی اجرای متد، از جمله کسب آگاهی از هر مرحله بحرانی در فرایند را فراهم می‌کند. صحه‌گذاری به آزمایشگاه و کارکنانش کمک می‌کند تا اطمینان بیشتری به نتایج خود داشته باشند.

#### ۱.۳ اهمیت اندازه‌گیری تجزیه

هر روز میلیون‌ها آزمایش، اندازه‌گیری و تست در هزاران آزمایشگاه در سرتاسر دنیا انجام می‌شوند. دلایل بی‌شماری وجود دارند که علت انجام آن‌ها می‌باشند، برای مثال: روشی برای ارزش‌گذاری کالاها جهت اهداف تجاری، تأمین و حمایت از بخش بهداشتی، بازبینی کیفیت آب آشامیدنی، غذا، خوراک دام، آنالیز ترکیب عنصری آلیاژ جهت تأیید مناسب آن برای استفاده در ساخت هواپیما و آنالیز پزشکی قانونی سیالات بدن در تحقیقات جنایی. تقریباً هر جنبه از جامعه تا اندازه‌ای توسط کار تجزیه‌ای پشتیبانی می‌شود.

هزینه انجام این اندازه‌گیری‌ها بالا است و هزینه‌های اضافی نیز ممکن است بر اثر تصمیم‌های گرفته شده بر اساس این نتایج ناشی شوند. برای مثال، آزمایش‌هایی که نشان می‌دهند غذا برای مصرف نامناسب است ممکن است به ادعاهای پرداخت غرامت منجر شوند، آزمایش‌های تأییدکننده حضور داروهای ممنوع می‌توانند به جریمه، زندان یا حتی در بعضی کشورها به اعدام منجر شوند. آشکار است که اجرای اندازه‌گیری صحیح و توانایی در نشان دادن این که نتیجه صحیح است، مهم می‌باشد.

#### ۲.۳ وظیفه حرفه‌ای شیمیدان تجزیه

اگر آنالیز آنطور که باید به درستی انجام نشده باشد، نتیجه آنالیز قابل اعتماد نبوده و از ارزش کافی نیز برخوردار نخواهد بود. وقتی مشتری‌ها کار تجزیه‌ای را از یک آزمایشگاه درخواست می‌کنند، فرض بر این است که آن آزمایشگاه از میزانی دانش تخصصی برخوردار می‌باشد که خود مشتری‌ها فاقد آن هستند. مشتری‌ها انتظار دارند که بتوانند بر گزارش نتایج اعتماد کنند و معمولاً تنها زمانی آن‌ها را زیر سؤال ببرند که اختلاف نظری پیش آید. بنابراین آزمایشگاه و پرسنلش با ارائه جواب صحیح به بخش تجزیه‌ای مسأله، از مسئولیت آشکاری در جلب اعتماد مشتری برخوردارند. به عبارت دیگر، تنها نتایجی که «برازش هدف» قابل اثبات دارند، می‌بایست بیان شوند. بدان معنا که می‌بایست آزمایش‌های انجام شده برای بخش تجزیه‌ای مسأله با آنچه که مشتری خواهان حل آن است، تناسب داشته باشد و گزارش نهایی داده‌های تجزیه به شکلی بیان شود که مشتری به راحتی آن را درک کرده و نتیجه‌گیری مناسب را اتخاذ کند. شیمیدان‌ها با صحه‌گذاری متد می‌توانند نشان دهند که یک متد «برانده هدف» است.

**۳.۳ توسعه متد**

کار صحنه‌گذاری قبل از فاز توسعه انجام می‌شود و ممکن است پرسنل مختلف در آن درگیر شوند و شکل‌های مختلفی به خود بگیرد.

از یک سو، فاز توسعه ممکن است شامل پذیرش متد موجود با اعمال تغییرات جزئی روی آن و برازنده‌سازی آن جهت یک کاربرد جدید باشد. برای مثال، متد لازم برای تعیین تولوئن در آب ممکن است از روی متد ایجاد شده برای بنزن در آب، اقتباس و تنظیم شده باشد. ماتریکس یکسان است و دو آنالیت در کل دارای خواص مشابه می‌باشند. احتمال دارد که اصول یکسان جداسازی، شناسایی و تعیین کمی که برای بنزن به کار می‌رود، بتواند برای تولوئن نیز به کار رود. از سوی دیگر، چنانچه به متدی برای تعیین بنزن در خاک نیاز باشد، ممکن است اقتباس و تنظیم آن از روی متد بنزن در آب بهترین انتخاب نباشد. اقتباس آن از دیگر مندهای تعیین مواد آلی در خاک ممکن است نقطه آغاز بهتری باشد.

از سوی دیگر، شیمیدان تجزیه ممکن است با ایده‌های کلی شروع کرده و تجربه و مهارت خود را برای طراحی یک متد مناسب به کار گیرد. در اینجا، آشکار است که نیاز به کار بیشتری بوده و در رابطه با این که آیا متد نهایی موفقیت‌آمیز خواهد بود یا خیر، همواره میزانی از شک و تردید وجود خواهد داشت. قبل از انتخاب متد نهایی در توسعه متد، کار روی ایده‌های مختلف به طور همزمان، امری طبیعی به حساب می‌آید.

بدون ملاحظه میزان کار انجام شده در توسعه متد، تضمینی وجود ندارد که متد حین صحنه‌گذاری بتواند به طور رضایت‌بخش (یا تحت شرایط روتین در یک آزمایشگاه خاص) اجرا شود. وقتی پرسنل مختلف درگیر فاز صحنه‌گذاری و توسعه متد شوند، امکان بازبینی دستورالعمل‌هایی (روش‌های اجرایی اندازه‌گیری) که می‌بایست به درستی درک شده و به کار گرفته شوند نیز وجود خواهد داشت.



## ۴. چه زمانی می‌بایست متدها صحه‌گذاری یا تصدیق شوند؟

### ۱.۴ صحه‌گذاری متد

وقتی لازم باشد که نشان داده شود مشخصه‌های عملکردی متد برای استفاده خاص رضایت‌بخش است یا خیر، متد می‌بایست صحه‌گذاری شود. برای مثال در بند ۲.۵.۴.۵ ISO/IEC 17025 بیان شده که آزمایشگاه می‌بایست:

- متدهای غیراستاندارد
- متدهای توسعه یافته یا طراحی شده آزمایشگاهی
- متدهای استاندارد استفاده شده خارج از دامنه کاربرد مورد نظر
- متدهای استاندارد بسط یافته یا اصلاح شده

را صحه‌گذاری کند.

گسترده‌گی صحه‌گذاری می‌بایست تا اندازه‌ای باشد که بتواند الزامات مرتبط با کاربرد خاص را برآورده کند [۲۳]. میزان «سطح»، «دامنه» صحه‌گذاری، به کاربرد متد، طبیعت تغییرات ایجاد شده و شرایطی که قرار است متد در آن استفاده شود، بستگی دارد. به علاوه، زمانی که لازم باشد یکسانی نتایج به دست آمده از یک متد توسعه یافته جدید و متد استاندارد یا نظارتی موجود نشان داده شود، نیز به صحه‌گذاری نیاز خواهد بود.

### ۲.۴ تصدیق متد

برای متدهای استاندارد (شده)، نظیر متدهای منتشر شده از سوی، ISO یا ASTM، صحه‌گذاری آن از سوی آزمایشگاه استفاده‌کننده این متدها ضروری نمی‌باشد. هر چند، آزمایشگاه لازم است تا عملکرد متد را که جزئیات آن در بند ۲.۴.۵، ISO/IEC 17025 آمده تصدیق کند.

بند ۲.۴.۵: ... آزمایشگاه قبل از معرفی آزمایش‌ها یا کالیبراسیون‌ها، می‌بایست تأیید کند که می‌تواند متدهای استاندارد را به طور صحیح اجرا کند.

تصدیق، همچنین زمانی که یک تغییر مهم نظیر ورود دستگاه جدید و در عین حال مشابه، جابجایی تجهیزات و غیره وجود دارد، نیز ضروری است.

در آزمایشگاه پزشکی، اکثر اندازه‌گیری‌ها و تست‌ها بر اساس روش‌های اجرایی تجاری انجام می‌شوند که قبلاً از سوی سازنده صحه‌گذاری شده و تنها لازم است تا از سوی کاربر تصدیق شوند [24]. ISO 15189 تأکید می‌کند که؛ می‌بایست روش‌های اجرایی آزمایش که بدون اصلاح انجام می‌شوند، قبل از استفاده در کارهای روتین، از سوی آزمایشگاه در معرض تصدیق مستقل قرار گیرند. همچنین زمانی که یک دستگاه با نرم‌افزار جدید روزآمد شده یا وقتی که کنترل کیفیت نشان دهد عملکرد یک متد ایجاد شده با زمان در حال تغییر است، باز هم نیاز به تصدیق می‌باشد.



## ۵. متدها چطور می‌بایست صحه‌گذاری شوند؟

### ۳.۱.۵ رویکرد آزمایشگاه تک

بعضی اوقات آزمایشگاه‌ها متوجه می‌شوند که به متدی نیاز دارند اما این متد به شکل یک استاندارد منتشر شده در دسترس آن‌ها نمی‌باشد. اگر متد برای استفاده در یک آزمایشگاه توسعه یابد، برای مثال، به خاطر این که توجه همگانی به متد وجود نداشته یا به خاطر این که دیگر آزمایشگاه‌ها رقیب به حساب می‌آیند، رویکرد آزمایشگاه تک مناسب می‌باشد [12].

این که آیا متدهای صحه‌گذاری شده در یک آزمایشگاه برای اهداف نظارتی قابل قبول خواهند بود یا خیر به دستورالعمل‌های پوشش‌دهنده بخش اندازه‌گیری بستگی دارد. معمولاً اخذ یک بیانیه خطمشی شفاف از مجموعه نظارتی مناسب، می‌بایست امکان‌پذیر باشد.

### ۲.۵ گستردگی مطالعات صحه‌گذاری

آزمایشگاه در مورد این که لازم است کدام مشخصه‌های عملکردی جهت صحه‌گذاری متد بررسی شوند و در بعضی موارد در مورد میزان جزئیات بررسی یک مشخصه عملکردی تک نیز می‌بایست تصمیم‌گیری کند. پروتوکل آیوپاک [12] فهرست تعدادی از وضعیت‌ها را نشان می‌دهد که در میان آن‌ها، وضعیت متد و صلاحیت آزمایشگاه را نیز لحاظ می‌کند.

برای یک سازمان یا بخش، هر جا که دامنه کاربرد آنالیز به خوبی تعریف شود و کاربردهای آن نیز با گذشت زمان شبیه یکدیگر باشند، صدور دستورالعمل‌های کلی برای میزان مطالعات صحه‌گذاری امکان‌پذیر می‌باشد. مثالی از بخش دارویی در جدول ۳ نشان داده شده است.

شروع کار با ویژگی تجزیه‌ای دقیق که در دامنه کاربرد روش اجرایی مستند ارائه می‌شود (بخش A.5، در پیوست A را ببینید)، مبنای خوبی را برای برنامه‌ریزی فرایند صحه‌گذاری فراهم می‌کند، هر چند نشان داده شده که در عمل این وضعیت همیشه امکان‌پذیر نیست. در اینجا ارزیابی عملکرد متد ممکن است محدود شود. این موضوع در ISO/IEC 17025 بند ۳.۵.۴.۵ بدین شکل اعلام می‌شود، صحه‌گذاری همیشه توازن بین هزینه‌ها، خطرات و امکانات فنی می‌باشد. در این زمینه آزمایشگاه می‌بایست تمام تلاش خود را علی‌رغم محدودیت‌های تحمیل شده به کار گرفته و الزامات نظارتی، الزامات مشتری، تجربه موجود از متد، ابزارهای در دسترس (بخش ۴.۵) و همین‌طور ضرورت سازگاری

### ۱.۵ چه کسانی صحه‌گذاری متد را انجام می‌دهند؟

#### ۱.۱.۵ رویکردهای صحه‌گذاری متد

بعد از آن که توسعه متد اولیه به پایان رسید، آزمایشگاه باید روش اجرایی اندازه‌گیری را با جزئیات مربوطه (پیوست A را ببینید) مستند کند و در پایان این روش اجرایی مستند شده است که مبنای صحه‌گذاری رسمی قرار می‌گیرد.

دو رویکرد اصلی به صحه‌گذاری متد وجود دارد: رویکرد مقایسه بین آزمایشگاهی و رویکرد آزمایشگاه تک. بدون ملاحظه این که کدام رویکرد به کار گرفته شود، مسئولیت ایجاد اطمینان برزندگی متد برای استفاده‌ی مورد نظر و در صورت لزوم، اجرای کار بیشتر جهت تکمیل داده‌های صحه‌گذاری موجود، بر عهده خود آزمایشگاه استفاده‌کننده متد است.

### ۲.۱.۵ رویکرد بین آزمایشگاهی

تا کنون مقاله‌های علمی زیادی در رابطه با صحه‌گذاری متد از طریق مقایسه‌های بین آزمایشگاهی اختصاصی که اغلب با نام «مطالعات مشترک» یا «مطالعات جمعی» از آن‌ها یاد می‌شود، منتشر شده است. چندین پروتوکل مرتبط با این نوع صحه‌گذاری [25, 26, 27, 28]، همین‌طور استانداردهای ISO 5725 [29] در این زمینه وجود دارند که می‌توان آن‌ها را به عنوان پرکاربردترین پروتوکل‌های عمومی در نظر گرفت. اگر متدی در حال توسعه باشد که در آینده دارای استفاده وسیعی باشد، مثلاً به شکل یک روش اجرایی استاندارد منتشر شده، در این صورت احتمالاً یک مطالعه مشترک، شامل گروهی از آزمایشگاه‌ها می‌تواند روش ترجیحی صحه‌گذاری باشد. نشان داده شده که متد منتشر شده‌ی صحه‌گذاری شده بدین روش، یک متد محکم است. اطلاعات منتشر شده معمولاً شامل دقت (تکرارپذیری، تجدیدپذیری و/یا حدود دقت متناظر) و بعضی اوقات تخمین‌های بایاس می‌باشند. جایی که یک متد از سوی استانداردهای تصویب شده سازمان‌های بین‌المللی نظیر ISO، CEN یا AOAC صحه‌گذاری شده باشد، در این صورت لازم است کاربر فقط داده‌های عملکردی منتشره را تصدیق و/یا داده‌های عملکردی را برای استفاده خودشان از متد ایجاد کنند. در نتیجه، این رویکرد حجم کاری آزمایشگاه برای استفاده از متد را کاهش می‌دهد.

تعیین شده باشند. اغلب انجام یک مجموعه خاص از آزمایش‌ها به اطلاعاتی در رابطه با چند مشخصه عملکردی منجر می‌شوند، لذا با برنامه‌ریزی دقیق، تلاش لازم جهت کسب اطلاعات ضروری می‌تواند به حداقل رسانده شود.

اندازه‌شناسی [7] با دیگر متدهای مشابهی که قبلاً درون آزمایشگاه یا دیگر آزمایشگاه‌ها استفاده می‌شده را نیز در نظر داشته باشد. بعضی از مشخصه‌های عملکردی ممکن است به طور تقریبی هنگام مرحله توسعه متد یا اجرای متد

**جدول ۳.** گستردگی کار صحنه‌گذاری برای چهار نوع کار تجزیه. مثال از بخش دارویی [13].  
«x» به مشخصه عملکردی دلالت دارد که معمولاً صحنه‌گذاری می‌شود.

نوع کاربرد تجزیه‌ای				مشخصه عملکردی
تعیین کمی مؤلفه اصلی	آزمایش حد برای ناخالصی	آزمایش کمی برای ناخالصی	آزمایش شناسایی	
x	x	x	x	گزینش پذیری
	x			حد تشخیص
		x		حد تعیین
x		x		گستره کاری خطی
x		x		درستی (بایاس)
x		x		دقت (تکرارپذیری و دقت میانی)

نکته: جدول ساده شده و با ساختار واژه‌شناسی مورد استفاده در این راهنما مطابقت داده شده است.

- **عنوان:** این بخش می‌بایست متد، زمان و شخص اجراکننده کار را معرفی کند. اطلاعات مختصری درباره دامنه کاربرد متد و شرح مختصر متد، همین‌طور جزئیات وضعیت متد (برای مثال، یک استاندارد بین‌المللی، متد توسعه‌یافته درون سازمانی و غیره)، آنالیت، اندازه‌ده، واحد اندازه‌گیری، انواع نمونه و استفاده مورد نظر می‌بایست ارائه شوند. نمونه‌برداری و زیرنمونه‌برداری می‌تواند بخشی از روش اجرایی اندازه‌گیری باشد، که در این‌گونه موارد، آن‌ها نیز می‌بایست صحنه‌گذاری شوند. حتی اگر این مراحل در جای دیگری انجام شده باشند، گنجانیدن اطلاعات مربوط به آن‌ها در طرح/ گزارش صحنه‌گذاری مفید است.

- **طرح‌ریزی:** این بخش می‌بایست طرح کلی هدف، برای مثال صحنه‌گذاری کامل یک متد جدید، تصدیق عملکرد یک متد استاندارد شده، دامنه کاربرد متد و غیره را بیان کند. به گستره‌ی کاری صحنه‌گذاری، یعنی مشخصه‌های عملکردی مورد بررسی و هرگونه الزامات مرتبط نیز می‌بایست اشاره شود.

- **مشخصه‌های عملکردی:** در این بخش می‌بایست توصیف مختصری از ویژگی عملکردی و تکرار هرگونه الزام خاص و طرح کلی آزمایش‌هایی را که قرار است انجام شوند، همین‌طور چگونگی ارزیابی نتایج ارائه شوند. نتایج و

پیامدهای محدودیت‌های بحث شده در بالا، به خصوص جایی که قرار نیست از متد به شکل روتین استفاده شود، بحرانی می‌باشند. پروسه‌ی صحنه‌گذاری متدهایی که قرار است به صورت روتین استفاده شوند، به خوبی تعریف شده‌اند. آشکار است که برای آنالیز خاص نیز همانند آزمایش روتین اصول یکسانی به کار می‌روند. داشتن سطح مناسب اطمینان از نتایج تولید شده الزامی می‌باشد. ایجاد تعادل بین محدودیت‌های زمانی و هزینه‌ها و ضرورت صحنه‌گذاری متد مشکل است. در بعضی شرایط، بستن قرارداد با پیمانکار فرعی و ارجاع آنالیزها به آزمایشگاه دیگر که آنالیزها در آنجا می‌توانند به شکل روتین انجام شوند، ممکن است مناسب‌تر باشد.

### ۳.۵ طرح و گزارش صحنه‌گذاری

کار صحنه‌گذاری می‌بایست بر اساس یک روش اجرایی مستند اجرا و نتایج آن گزارش شوند. طرح کلی برنامه صحنه‌گذاری («پروتوکول صحنه‌گذاری») و گزارش صحنه‌گذاری ممکن است در دستورالعمل‌های مربوط به بخش مورد نظر بیان شده باشند (بخش ۵.۵ را ببینید). مجموعه‌های تایید صلاحیت ملی ممکن است به حداقل الزامات لازم برای این مستندسازی اشاره کرده باشند [23]. با این حال، یک الگوی ساده برای طرح صحنه‌گذاری ترکیبی و گزارش صحنه‌گذاری می‌تواند، برای مثال شامل بخش‌های زیر باشد:

### ۳.۴.۵ مواد/ محلول‌های نشانه‌دار

مواد یا محلول‌هایی هستند که آنالیت(ها)ی مورد نظر به شکل عمدی به آن‌ها اضافه شده‌اند. از آنجا که این مواد یا محلول‌ها ممکن است از قبل دارای آنالیت مورد نظر باشند، برای اطمینان از این که نشانه‌گذاری به سطوح آنالیت خارج از گستره‌ی کاری متد منجر نشود، می‌بایست احتیاط لازم صورت گیرد. نشانه‌گذاری با مقدار معلوم از آنالیت، باعث افزایش پاسخ آنالیت در اندازه‌گیری می‌شود و اگر حتی مقادیر مطلق آنالیت حاضر، قبل و بعد از افزایش نشانه معلوم نباشند، محاسبه غلظت آنالیت بر اساس مقدار افزوده شده انجام خواهد شد. توجه داشته باشید که در بیشتر متدهای نشانه‌گذاری، آنالیت به شکلی اضافه می‌شود که به اصطلاح خیلی به ماتریکس نمونه نچسبد؛ وضعیتی که در حالت حضور طبیعی آنالیت مشاهده نمی‌شود. لذا انتظار می‌رود که تخمین‌های بایاس به دست آمده با نشانه‌گذاری خیلی خوش‌بینانه باشند.

نشانه‌گذاری نمی‌بایست الزاماً به آنالیت مورد نظر محدود شود، بلکه می‌تواند شامل هر چیزی باشد که جهت اندازه‌گیری اثر افزایش به نمونه افزوده می‌شود. برای مثال، جهت قضاوت در مورد غلظت عامل مزاحم که در آن غلظت، تعیین آنالیت به طور نامطلوبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، نمونه می‌تواند با مقادیر متغیر از یک مزاحمت خاص نشانه‌گذاری شود. آشکار است که در اینجا طبیعت نشانه نیز می‌بایست شناخته شود.

### ۴.۴.۵ مواد بارشده

موادی هستند که در آن‌ها، آنالیت مورد نظر در اصل بیگانه به حساب می‌آید و در نقطه‌ای قبل از نمونه‌برداری ماده وارد توده شده است. بنابراین آنالیت در مقایسه با افزایش نشانه، در این وضعیت بیشتر به ماتریکس چسبیده است. مقدار آنالیت، به مقادیر آنالیت در تماس با ماده، آهنگ جذب و واجذب آن از ماتریکس و دیگر اتلاف‌ها از طریق متابولیسم، فروپاشی خودبه‌خودی یا دیگر پروسه‌های شیمیایی یا فیزیکی وابسته خواهد بود. سودمندی نمونه‌های بارشده برای اهداف صحه‌گذاری به این بستگی دارد که تا چه اندازه بتوان مقدار آنالیت را مشخص کرد. موارد زیر مثال‌هایی از مواد بار شده هستند:

۱. علف‌کش‌ها در آرد غلات، که حین رشد اسپری می‌شوند.
۲. اجزای سازنده فعال در فرمولاسیون‌های فرآورده‌های دارویی که در مرحله فرمولاسیون اضافه می‌شوند.
۳. پودر سفیده تخم‌مرغ (با مقدار پروتئین معلوم) که هنگام بررسی آلرژن‌ها، قبل از پخت به خمیر کوکی اضافه می‌شود.

نتیجه‌گیری‌های به دست آمده از آزمایش‌ها نیز می‌بایست بیان شوند. برای هر مشخصه عملکردی بخش‌های جدا مورد استفاده قرار می‌گیرند.

- خلاصه: بخش آخر می‌بایست خلاصه‌ای از کار صحه‌گذاری و نتایج آن را ارائه دهد. پیامدهای ضمنی مربوط به استفاده روتین، کنترل کیفیت داخلی و خارجی می‌بایست ارائه شوند، و مهمتر از همه در مورد برازندگی هدف متد نیز می‌بایست یک بیانیه نهایی ارائه شود. توجه داشته باشید که این موضوع در ISO/IEC 17025 یک الزام است [1].

### ۴.۵ ابزارهای صحه‌گذاری

#### ۱.۴.۵ بلانک‌ها

استفاده از انواع مختلف بلانک‌ها ما را در ارزیابی این که چه مقدار از سیگنال اندازه‌گیری شده قابل استناد به آنالیت و چه مقدار از آن قابل استناد به علل دیگر می‌باشد، توانمند می‌سازد. انواع مختلف بلانک در دسترس تجزیه‌گر وجود دارند:

- **بلانک‌های واکنشگر:** واکنشگرهای استفاده شده حین فرایند تجزیه (شامل حلال‌های مورد استفاده برای استخراج یا انحلال) جهت تعیین این که آیا آن‌ها سهمی در سیگنال اندازه‌گیری شده دارند یا خیر، آنالیز می‌شوند.
- **بلانک‌های نمونه:** در اصل ماتریکس‌های نمونه بدون حضور آنالیت می‌باشند، برای مثال، نمونه ادرار انسان بدون یک ماده‌ی مخدر خاص یا نمونه گوشت بدون باقیمانده‌های هورمونی. ممکن است به دست آوردن نمونه‌های بلانک مشکل باشد، اما وجود چنین موادی برای ارائه تخمین واقع‌بینانه از مزاحمت‌هایی که ممکن است در آنالیز نمونه‌های آزمایشی مشاهده شوند، ضروری و لازم می‌باشند.

#### ۲.۴.۵ نمونه‌های آزمایشی روتین

نمونه‌های آزمایشی روتین به خاطر فراهم آوردن اطلاعاتی در رابطه با دقت، مزاحمت‌ها و غیره که می‌توانند به شکل واقع‌بینانه در کار روزانه مشاهده شوند، مفید هستند. چنانچه غلظت آنالیت یک ماده آزمایشی به طور صحیح معلوم باشد، از آن می‌توان برای ارزیابی بایاس اندازه‌گیری استفاده کرد. ارزیابی صحیح مقدار آنالیت می‌تواند با استفاده از یک متد مرجع به دست آید، هر چند چنین متدهایی همیشه در دسترس نیستند.

۱. بلانک واکنشگری که مرحله به مرحله کل روش اجرایی تجزیه را پشت سر می‌گذارد را گاهاً «بلانک روش اجرایی» نیز می‌نامند.

## ۵.۴.۵ استانداردهای اندازه‌گیری

هنگام ارجاع به «استانداردها» می‌بایست احتیاط کرد، چرا که این اصطلاح معمولاً برای سندهای مکتوب، نظیر استانداردهای ISO به کار می‌رود. جایی که این اصطلاح به مواد مورد استفاده برای کالیبراسیون یا اهداف شناسایی اشاره می‌کنند، بهتر آن است که استانداردهای اندازه‌گیری یا کالیبران/ کالیبراتورها نامیده شوند [7]. این مواد به طور سنتی محلول‌های مواد تک در نظر گرفته می‌شوند، اما در عمل آن‌ها می‌توانند هر چیزی باشند که در آن یک پارامتر خاص یا خاصیت توصیف شده بتواند به عنوان یک مرجع اندازه‌شناسی به کار رود.

تشخیص بین مواد مرجع (RM) و مواد مرجع گواهی‌دار [7, 30] (CRM)، به خاطر تفاوت عمده‌ای که در چگونگی استفاده آن‌ها در پروسه‌ی صحنه‌گذاری متد وجود دارد، مهم است (6.5.2). RM‌ها می‌توانند تقریباً هر ماده‌ای باشند که به عنوان یک مبنا برای مرجع مورد استفاده قرار می‌گیرند و عملاً شامل واکنشگرهای آزمایشگاهی با خلوص معلوم، مواد شیمیایی صنعتی یا دیگر دست‌ساخته‌ها می‌باشند. لازم است تا خاصیت یا آنالیت مورد نظر پایدار و همگن باشد، اما ضرورتی وجود ندارد که آن ماده دارای میزان بالای توصیف ویژگی، قابلیت ردیابی اندازه‌شناسی، عدم قطعیت و سندسازی مرتبط با CRM‌ها باشد.

معمولاً در توصیف پارامتر مورد نظر در یک CRM در مقایسه با یک RM سخت‌گیری و کنترل بیشتری وجود دارد، به علاوه، مقدار ارائه شده در CRM با قابلیت ردیابی اندازه‌شناسی و عدم قطعیت مستند شده گواهی می‌شود. معمولاً تعیین ویژگی با استفاده از چندین متد مختلف و یا یک روش اندازه‌گیری اولیه تک انجام می‌شود، بدین ترتیب تا آنجا که امکان دارد، هرگونه بایاس احتمالی در تعیین ویژگی کاسته یا حتی حذف می‌شود. برای ارزیابی بایاس به یک نقطه مرجع قابل اعتماد، ترجیحاً یک CRM با ماتریکس و غلظت‌های آنالیت یکسان، همانند نمونه‌های آزمایشی نیاز می‌باشد.

## ۶.۴.۵ علم آمار

متدهای آماری برای خلاصه‌سازی داده‌ها و ارائه قضاوت‌های عینی در رابطه با اختلاف‌های بین مجموعه‌های داده‌ها (آزمون‌های معناداری) ضروری می‌باشند. تجزیه‌گرها می‌بایست حداقل با اصول پایه تئوری آمار، به خصوص جهت ارزیابی دقت، بایاس، گستره‌ی خطی، LOD و LOQ و عدم قطعیت اندازه‌گیری آشنا باشند. تعدادی از کتاب‌های مفید و مقدماتی آمار برای شیمی تجزیه در پیوست معرفی شده‌اند [6, 31, 32, 33, 34].

## ۵.۵ الزامات صحنه‌گذاری

الزامات چگونگی اجرای صحنه‌گذاری متد ممکن است در دستورالعمل‌های درون بخش خاص مرتبط با متد مشخص شوند [برای مثال 13، 25 و 35]. جایی که یک چنین الزاماتی وجود داشته باشد، پیشنهاد می‌شود که از آن‌ها تبعیت شود. این وضعیت، این اطمینان را ایجاد می‌کند که واژه‌شناسی صحنه‌گذاری خاص، همراه با آماره‌های استفاده شده به شکلی تفسیر شوند که با بخش مرتبط سازگار باشند. ممکن است در تایید رسمی یک متد جهت توصیف الزامات به مطالعه مشترک نیاز باشد.

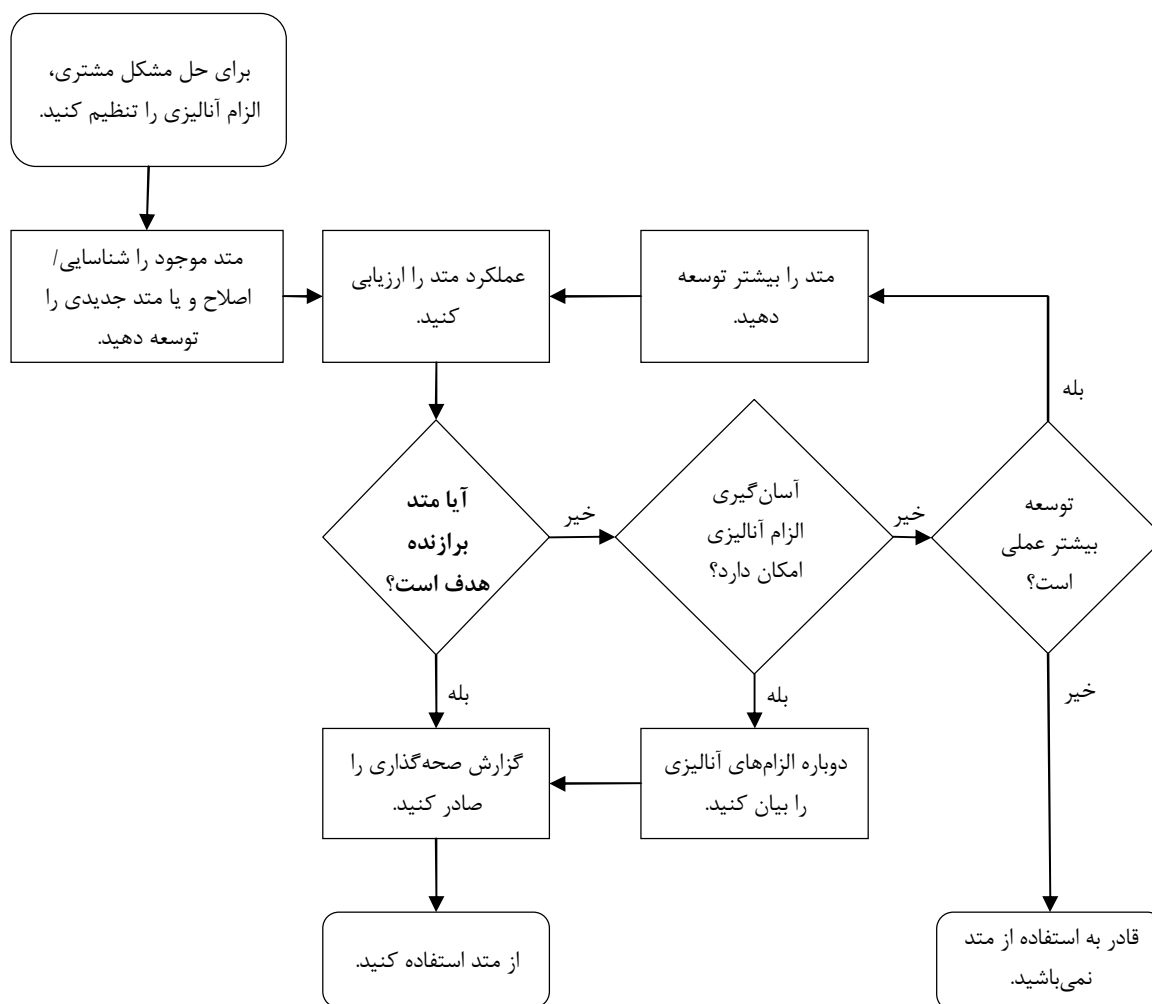
## ۶.۵ فرایند صحنه‌گذاری متد

آزمایشگاه هنگام مواجه با یک مشکل خاص مربوط به مشتری، ابتدا می‌بایست الزام آنالیزی مشخصه‌های عملکردی متد را که می‌بایست مشکل را حل کنند، تعریف و تنظیم کند (شکل ۱). در پاسخ به این الزامات، آزمایشگاه می‌بایست یک متد موجود و مناسب را شناسایی و یا چنانچه لازم باشد یک متد را توسعه/ و یا اصلاح کند. توجه داشته باشید که بعضی مقررات ممکن است برای پیگیری به متد خاصی نیاز داشته باشند. جدول ۴، نوع پرسش‌هایی را که ممکن است در تدوین یک الزام تجزیه مطرح شوند (ستون ۱) و مشخصه‌های عملکردی متناظر متد را که ممکن است نیاز به ارزیابی داشته باشند (ستون ۲) نشان می‌دهد. آزمایشگاه مشخصه‌های عملکردی مرتبط را شناسایی و ارزیابی کرده و سپس آن‌ها را در برابر الزام تجزیه‌ای بازبینی می‌کند. فرایند صحنه‌گذاری با این نتیجه‌گیری و بیانیه به پایان می‌رسد که آیا الزام تجزیه‌ای برآورده شده است یا خیر. اگر الزام تجزیه‌ای برآورده نشود، توسعه بیشتر متد ضروری خواهد بود. این فرایند توسعه و ارزیابی آنقدر ادامه پیدا می‌کند تا این که متد قادر به برآورده نمودن آن الزام باشد.

در واقعیت، یک الزام تجزیه‌ای به ندرت با خواسته مشتری از قبل به صورت یک روش رسمی مطابقت دارد. مشتری‌ها معمولاً الزاماتشان را بر مبنای قیمت و/ یا زمان تعریف کرده و به ندرت از نحوه‌ی اجرای مناسب متدها مطلع هستند. با این حال، در جایی که متدها از یک الزام نظارتی حمایت کرده و یا وقتی که انطباق با یک مشخصه مطرح باشد، الزامات عملکردی متدها نیز می‌توانند تعیین شوند. برای مثال، اتحادیه اروپا الزاماتی را جهت آنالیز آب آشامیدنی [36]، به منظور اجرای آنالیزها در دستورالعمل چارچوب آب [37]، همین‌طور الزاماتی را جهت تعیین سطوح پسماندهای داروهای دامپزشکی در غذاهای با منشأ حیوانی [38] و باقیمانده‌های آفت‌کش‌ها در غذا و خوراک دام [39] منتشر

ممکن است توسعه متدی که یک الزام تجزیه‌ای خاص را برآورده می‌سازد، از لحاظ محدودیت‌های مالی یا از نظر اقتصادی امکان‌پذیر نباشد. در هر حال، می‌بایست بین آسان‌گیری یک الزام آنالیزی تا رسیدن به سطح قابل دسترس و یا تفکر مجدد در مورد توجیه آنالیز انتخابی تصمیم‌گیری شود.

کرده است [39]. با این حال، معمولاً تصمیم‌گیری در مورد این که چه عملکردی لازم است، به صلاح‌دید تجزیه‌گر بستگی خواهد داشت. اغلب این به معنای تنظیم یک الزام تجزیه‌ای هم‌جهت با قابلیت معلوم متد (برای مثال، به شکل منتشر شده در متدهای استاندارد، به شکل نتایج مشاهده شده در برنامه‌های آزمون مهارت (PT) یا تخمین زده شده از مدل‌های ریاضی نظیر تابع هورویتر [40]) می‌باشد.



شکل ۱. فرایند صحه‌گذاری متد: از مشکل مشتری تا تصمیم آزمایشگاهی مبنی بر این که آیا خواست مشتری می‌تواند با یک متد شناسایی شده برآورده شود یا خیر. نکته: صحه‌گذاری متد شامل مرحله‌ای است که در آن مشخصه‌های عملکردی ارزیابی شده و سپس با الزامات تجزیه مقایسه می‌شوند. برازش هدف، بدون توجه به این که کدام داده‌های عملکردی ممکن است برای متد در دسترس باشند و ملاحظه این که چطور متد توسط تجزیه‌گر برگزیده، با تجهیزات/ امکانات موجود اجرا می‌شود، به شکل مناسب تعیین خواهد شد.

جدول ۴. سؤالاتی که ممکن است هنگام به رسمیت شناختن الزام تجزیه‌ای پرسیده شوند، همین‌طور مشخصه‌های عملکردی مربوطه با ارجاع به بخش‌های مناسب در این راهنما.

سؤال	مشخصه‌های عملکردی	بخش	نکته
آیا محدودیت‌های منابع، پرسنل، زمان، پول، تجهیزات، واکنشگرها و امکانات آزمایشگاه لحاظ شده‌اند؟			
آیا به نمونه‌برداری یا زیرنمونه‌برداری نیاز می‌باشد (و آیا این کار درون آزمایشگاه انجام می‌شود)؟			a
آیا محدودیت‌هایی در رابطه با اندازه‌ی نمونه/ یا در دسترس‌پذیری نمونه وجود دارند؟			
طبیعت شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی ماتریکس چیست؟			
آیا آنالیت به صورت پخش شده یا متمرکز می‌باشد؟			
آیا پاسخ کیفی یا کمی مورد نیاز است؟	گزینش‌پذیری LOD و LOQ	6.1 6.2	
آنالیت‌های مورد نظر و سطوح احتمالی موجود (ng/g, µg/g,%) و غیره... کدام‌ها می‌باشند؟ آیا آنالیت‌ها در بیش از یک فرم شیمیایی (برای مثال، حالت‌های اکسیداسیون و ایزومرهای فضایی مختلف) در محیط حاضر می‌باشند؟ و آیا تمایزگذاری بین اشکال مختلف لازم است؟	گزینش‌پذیری LOD و LOQ گستره‌ی کاری و خطی	6.1 6.2 6.3	
چه کمیتی قرار است اندازه‌گیری شود؟ (اندازه‌ده)؟ آیا غلظت «کل» آنالیت موجود، مدنظر می‌باشد یا «مقدار استخراج شده» تحت شرایط خاص؟	بازیابی	6.5	
به چه میزان از درستی و دقت نیاز می‌باشد؟ عدم قطعیت هدف چیست؟ و چطور باید بیان شود؟	درستی و بازیابی تکرارپذیری، دقت میانی تجدیدپذیری، عدم قطعیت	6.5 6.6 6.7	
مزامت‌های احتمالی برای آنالیت (ها) کدام‌ها هستند؟	گزینش‌پذیری	6.1	b
آیا حدود تولرانس برای تمام پارامترهایی که برای اجرای آنالیز بحرانی هستند (مثل، زمان استخراج و دمای انکوباسیون)، ایجاد شده‌اند؟	استحکام	6.8	c
آیا لازم است نتایج با نتایج دیگر آزمایشگاه‌ها مقایسه شوند؟	عدم قطعیت	6.7	b
آیا لازم است نتایج با مشخصات خارجی مقایسه شوند؟	عدم قطعیت	6.7	b
<p>a. تمام عناصر الزامات تجزیه‌ای به طور مستقیم با الزامات صحت‌گذاری متد مرتبط نمی‌باشند، هر چند به طور کلی تعیین می‌کنند که آیا تکنیک‌های خاص قابل کاربرد می‌باشند یا خیر. برای مثال، بسته به این که آنالیت درون نمونه پخش شده یا به شکل جدا شده در سطح باشد، تکنیک‌های مختلفی قابل کاربرد خواهند بود.</p> <p>b. یک عنصر اساسی الزام تجزیه‌ای این است که می‌بایست احتمال قضاوت در مورد این که آیا متد برای هدف مربوطه مناسب می‌باشد یا خیر، وجود داشته باشد، لذا این عنصر می‌بایست شامل عدم قطعیت بیان شده به شکل عدم قطعیت استاندارد و یا عدم قطعیت بسط‌یافته باشد.</p> <p>c. به طور نرمال نشان داده شده که روش‌های اجرایی استاندارد در دامنه کاربرد روش اجرایی، یعنی انواع ماتریکس و گستره‌ی کاری، استوار می‌باشند. بنابراین، لازم نیست که حتماً تصدیق آزمایشگاه تک برای به کارگیری روش اجرایی استاندارد، شامل آزمون استحکام یا استواری نیز باشد.</p>			



## ۶. مشخصه‌های عملکردی متد

### ۱.۶ گزینش‌پذیری

#### ۱.۱.۶ اصطلاح‌ها و تعاریف

گزینش‌پذیری تجزیه‌ای به «میزانی که متد تا آن مقدار بتواند جهت تعیین آنالیت‌های خاص در مخلوط‌ها یا ماتریکس‌ها، بدون مزاحمت دیگر سازنده‌های با رفتار مشابه، مورد استفاده قرار گیرد»، مرتبط است [41].

تعاریف موجود در سندهای گوناگون [7, 18, 42]، کم‌وبیش با این تفسیر مطابقت دارند. آیوپاک اصطلاح «گزینش‌پذیری» را پیشنهاد می‌کند در حالی که در بخش‌های دیگر نظیر بخش دارویی [13]، از اصطلاح «ویژگی» یا «ویژگی تجزیه‌ای» استفاده می‌شود. مورد آخر جهت اجتناب از سردرگمی و اشتباه با اصطلاح «ویژگی تشخیصی» پیشنهاد می‌شود که در آزمایشگاه طبی استفاده می‌شود [43].

#### ۲.۱.۶ اثرات مزاحمت‌ها

به طور کلی می‌توان گفت که متدهای تجزیه شامل یک مرحله اندازه‌گیری هستند که ممکن است بعد یا قبل از یک مرحله جداسازی انجام شود. معمولاً در مرحله اندازه‌گیری، غلظت آنالیت به شکل مستقیم اندازه‌گیری نمی‌شود، بلکه به جای آن یک خاصیت ویژه (برای مثال، شدت نور) به طور کمی تعیین می‌شود. بنابراین، اثبات این نکته که خاصیت اندازه‌گیری شده فقط از آنالیت ناشی شده و عامل مزاحم دیگری که از لحاظ شیمیایی یا فیزیکی شبیه آنالیت است در آن نقش ندارد، بسیار مهم است، چرا که این وضع باعث ایجاد بایاس در نتیجه اندازه‌گیری خواهد شد. لذا برای بهبود گزینش‌پذیری سیستم اندازه‌گیرنده، لازم است تا قبل از مرحله اندازه‌گیری یک مرحله جداسازی انجام شود.

مزاحمت‌ها، ممکن است با کاهش یا افزایش سیگنال نسبت داده شده به اندازه‌ده باعث ایجاد بایاس شوند. اندازه اثر برای ماتریکس معین معمولاً متناسب با سیگنال است و در نتیجه گاهی اثر «تناسبی» نامیده می‌شود. این اثر شیب منحنی تابع کالیبراسیون را تغییر داده، اما بر عرض از مبدأ تأثیری ندارد. این اثر، اثر «چرخشی» نیز نامیده می‌شود [44].

«اثر انتقالی» یا «ایستا» از یک سیگنال تولیدی توسط عوامل مزاحم موجود در محلول آزمایشی ناشی می‌شود، لذا آن مستقل از غلظت آنالیت می‌باشد. اغلب از آن با نام مزاحمت «پس‌زمینه» یا «خط پایه» یاد می‌شود. این اثر بر

روی شیب تأثیر نداشته و عرض از مبدأ تابع کالیبراسیون را تغییر می‌دهد. معمولاً اثرات تناسبی و انتقالی به طور هم‌زمان مشاهده می‌شوند و متد افزایش استاندارد فقط می‌تواند اثرات تناسبی را تصحیح کند.

#### ۳.۱.۶ ارزیابی گزینش‌پذیری

برای متدهای توسعه‌یافته درون سازمانی، متدهای برگرفته از مقالات علمی و متدهای منتشر شده از سوی سازمان‌های استاندارد که خارج از دامنه کاربرد تعیین شده استفاده می‌شوند، می‌بایست گزینش‌پذیری روش اجرایی ایجاد شود. معمولاً وقتی متدهای منتشر شده از سوی سازمان‌های استاندارد، در دامنه کاربرد مربوطه‌شان استفاده شوند، گزینش‌پذیری به عنوان بخشی از فرایند استانداردسازی متد مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

گزینش‌پذیری یک متد معمولاً با مطالعه توانایی متد جهت اندازه‌گیری آنالیت مورد نظر در نمونه‌هایی که عوامل مزاحم ویژه‌ای به طور عمدی وارد آن‌ها شده‌اند (آن عواملی که به احتمال زیاد در نمونه‌ها وجود دارند)، مورد بررسی قرار می‌گیرد. جایی که آشکار نباشد آیا مزاحمت‌ها از قبل وجود دارند یا خیر، گزینش‌پذیری متد می‌تواند با مطالعه توانایی متد جهت اندازه‌گیری آنالیت در مقایسه با دیگر متدهای مستقل مورد بررسی قرار گیرد. در ادامه مثال ۱ و مثال ۲ و مرجع خلاصه ۱، ملاحظات عملی مربوط به گزینش‌پذیری را نشان می‌دهند.

تکنیک‌های تأییدی می‌توانند به عنوان ابزاری جهت تصدیق ماهیت‌ها مفید باشند. هر چقدر شواهد بیشتری جمع‌آوری شود، تکنیک بهتر خواهد بود. الزاماً باید بین هزینه‌ها و زمان صرف شده برای شناسایی آنالیت و اطمینانی که با آن بتوان تصمیم‌گیری کرد که آیا شناسایی به درستی انجام شده یا خیر، توازن وجود داشته باشد. در حالی که ارزیابی تکرارپذیری مستلزم تکرار اندازه‌گیری با یک تکنیک می‌باشد، تأیید هویت آنالیت مستلزم آن است که اندازه‌گیری چندین بار و با تکنیک‌های مختلف و ترجیحاً به شکل مستقل انجام شود. تأیید، اطمینان تکنیک آزمایشی را افزایش داده و به خصوص هنگامی که تکنیک‌های تأییدی بر اساس اصول کاملاً متفاوتی اجرا شوند، مفید می‌باشد. در بعضی از کاربردها، برای مثال، آنالیز مواد آلی مجهول با کروماتوگرافی گازی، استفاده از تکنیک‌های تأییدی ضروری می‌باشد. وقتی متد اندازه‌گیری ارزیابی شده به شدت

گزینشی باشد، استفاده از دیگر تکنیک‌های تأییدی ممکن است ضروری نباشد.

یک جنبه مهم گزینش‌پذیری که می‌بایست لحاظ شود، زمانی است که آنالیت در بیش از یک فرم نظیر فرم متصل

یا غیرمتصل، معدنی یا آلی فلزی، یا حالت‌های اکسیداسیون مختلف در نمونه حضور داشته باشد. لذا در این حالت جهت اجتناب از سردرگمی، تعریف دقیق اندازه‌ده ضروری می‌باشد.

#### مثال ۱. کروماتوگرافی

اثر یک پیک کروماتوگرافی به دست آمده از آنالیت مورد نظر بر این اساس که RM شامل آنالیت نیز سیگنالی را در نقطه یکسان روی کروماتوگرام تولید می‌کند، شناسایی می‌شود. اما آیا این سیگنال ناشی از آنالیت است یا چیز دیگری که به طور تصادفی همراه با آنالیت از ستون شستشو داده شده است؟ یعنی ناشی از یک اثر ثابت؟ در واقع پیک می‌تواند ناشی از تک تک آن‌ها و یا هر دوی آن‌ها باشد. شناسایی آنالیت، از این روش، غیرقابل اعتماد بوده و به یک دلیل تأییدکننده نیاز است. برای مثال، در این حالت، جهت اثبات این که آیا سیگنال مربوطه و سیگنال تولید شده با RM باز هم در یک زمان ظاهر می‌شوند یا خیر، می‌توان کروماتوگرافی را با استفاده از ستونی با قطبیت متفاوت و به کارگیری اصل جداسازی متفاوت، تکرار کرد. استفاده از ستونی با قطبیت مختلف جایی که پیک، ناشی از بیش از یک ترکیب باشد، روش مناسبی برای جدا کردن ترکیبات است. در بسیاری موارد می‌توان از ابزارهای طیف‌سنجی جرمی پیشرفته نظیر کروماتوگرافی گازی یا مایع همراه با تشخیص طیف‌سنجی جرمی استفاده کرد که دارای گزینش‌پذیری بالا می‌باشند.

#### مثال ۲. اسپکتروسکوپی

شناسایی ترکیبات مجهول در طیف‌سنجی IR، با انطباق سیگنال‌های جذب (یعنی «پیک‌ها») در طیف آنالیت با سیگنال‌های طیف‌های مرجع ذخیره شده در کتابخانه طیفی انجام می‌شود. بعد از کسب اطمینان از شناسایی صحیح، می‌بایست یک طیف RM از آنالیت تحت شرایط کاملاً یکسان، همانند بخش آزمایشی گرفته شود. هر چه تعداد انطباق پیک‌های بین آنالیت و RM بیشتر باشد، اطمینان از این که شناسایی صحیح واقع شده یا خیر، بالاتر خواهد بود. بررسی این که چطور شکل طیف با نحوه جداسازی آنالیت و نحوه تهیه آن برای آنالیز IR تغییر می‌کند نیز ارزشمند است. برای مثال، اگر طیف به صورت دیسک نمک ثبت شده باشد، توزیع اندازه ذرات بخش آزمایشی در دیسک ممکن است شکل طیف را تحت تأثیر قرار دهد.

#### مرجع خلاصه ۱. گزینش‌پذیری

چه باید کرد؟	چه تعداد؟	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	پیشنهادات
نمونه‌های آزمایشی و RMها را با متدهای نامزد و دیگر متدهای مستقل آنالیز کنید.	۱	از نتایج تکنیک‌های تأییدی جهت ارزیابی توانایی متد به منظور تأیید هویت آنالیت و توانایی آن در اندازه‌گیری آنالیت به شکل جدا از دیگر مزاحمت‌ها استفاده کنید.	تصمیم بگیرید که چه میزان دلیل تأییدی به طور منطقی برای ارائه اطمینان، کافی می‌باشد.
نمونه‌های آزمایشی دارای مزاحمت‌های مختلف مشکوک را در حضور آنالیت‌های مورد نظر آنالیز کنید.	۱	اثر مزاحمت‌ها را بررسی کنید. آیا حضور عامل مزاحم مانع تشخیص یا کمی‌سازی آنالیت‌ها می‌شود؟	اگر تشخیص یا کمی‌سازی آنالیت از سوی مزاحمت‌ها با مانع روبه‌رو شود، به توسعه متد اضافی نیاز خواهد بود.

#### ۲.۶ حد تشخیص و حد تعیین کمی

##### ۱.۲.۶ اصطلاح‌ها و تعاریف

جایی که اندازه‌گیری‌ها در غلظت‌های پایین انجام می‌شوند، سه مفهوم کلی را می‌بایست در نظر گرفت. اولاً، ممکن است ایجاد مقداری از نتیجه که نشان دهد آن مقدار آنالیت به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت از صفر است، ضروری باشد. اغلب در این سطح لازم است تا اقداماتی نظیر بیان یک ماده آلوده نیز انجام شود. این سطح، «مقدار بحرانی»، «حد

تصمیم» یا در رهنمودهای اتحادیه اروپا، « $CC\alpha$ » نامیده می‌شود [38]. ثانیاً، دانستن پایین‌ترین غلظت آنالیت که بتواند در سطح مشخص اطمینان توسط متد شناسایی شود نیز مهم است. بدین معنا که در چه غلظت واقعی ما با اطمینان می‌توانیم بگوییم که از مقدار بحرانی توصیف شده در بالا تجاوز خواهیم کرد؟ اصطلاح‌هایی نظیر «حد تشخیص» (LOD)، «حداقل مقدار قابل تشخیص» یا در رهنمودهای اتحادیه اروپا « $CC\beta$ » [38]، برای این مفهوم

نمونه‌های آزمایشی نوعی باشد و اندازه‌گیری‌های تکراری کافی نیز جهت ارائه تخمین مناسب در آن لحاظ شده باشند. در این بخش، انحراف استاندارد  $s_0$  بر اساس انحراف استاندارد  $s_0$  برای نتایج تک نزدیک صفر پایه‌گذاری شده است که در عمل برای هر گونه معدل‌گیری یا تصحیح بلانک نیز تنظیم می‌شود (پایین را ببینید). رویکردهای جایگزین در بخش ۵.۲.۶ بحث می‌شوند.

مواردی که در ادامه می‌آیند، می‌بایست در تعیین LOD و LOQ یک آزمایش با استفاده از تکرار ساده لحاظ شوند.

**نمونه‌های مناسب برای تخمین LOD و LOQ:** نمونه‌های استفاده شده می‌بایست ترجیحاً (یا a) نمونه‌های بلانک، یعنی ماتریکس‌هایی که شامل آنالیت غیرقابل تشخیص هستند و یا (b) نمونه‌های آزمایشی با غلظت‌های آنالیت نزدیک به LOD و یا زیر LOD مورد انتظار باشند. نمونه‌های بلانک برای متدهایی که در آن‌ها یک سیگنال قابل اندازه‌گیری برای یک بلانک به دست می‌آید، مثل اسپکتروفتومتری و اسپکتروسکوپی اتمی مناسب می‌باشند. با این حال، برای تکنیک‌هایی نظیر کروماتوگرافی که مبتنی بر تشخیص پیک بالای نویز می‌باشد، نمونه‌هایی با سطوح غلظت نزدیک LOD یا بالای LOD نیاز می‌باشند. این نمونه‌ها را می‌توان برای مثال با، نشانه‌گذاری یک نمونه بلانک (بخش ۴.۵ را ببینید) تهیه کرد.

وقتی نمونه‌های بلانک یا نمونه‌های آزمایشی در غلظت‌های پایین در دسترس نباشند، اغلب بلانک‌های واکنشگر<sup>۲</sup> استفاده می‌شوند. چنانچه این بلانک‌های واکنشگر کل روش اجرایی اندازه‌گیری را پشت سر گذاشته و به طور مستقیم به دستگاه معرفی شوند، محاسبه انجام شده بر پایه این اندازه‌گیری‌ها LOQ/LOD دستگاه را ارائه خواهد داد.

**پوشش‌دهی دامنه‌ی کاربرد متد:** برای متدهای با دامنه پوششی ماتریکس‌های بسیار متفاوت، ممکن است تعیین انحراف استاندارد هر ماتریکس به طور جداگانه الزامی باشد.

**تضمین تکرار نمایندگی:** انحراف استاندارد می‌بایست نماینده عملکرد متد، به همان شکلی باشد که در آزمایشگاه استفاده می‌شود، یعنی انحراف استاندارد می‌بایست بر اساس نتایج آزمایشی محاسبه شود که در آن‌ها، آنالیزها دقیقاً مطابق با روش اجرایی اندازه‌گیری مستند شامل تمام مراحل تهیه نمونه انجام شده باشند. مقادیر استفاده شده برای محاسبه انحراف استاندارد  $s_0$  می‌بایست مطابق با واحدهای اندازه‌گیری مشخص در روش اجرایی باشند.

استفاده می‌شود. ثالثاً، تعیین کمترین سطحی که در آن سطح، عملکرد متد برای یک کاربرد نوعی قابل قبول است نیز مهم می‌باشد. مفهوم سوم معمولاً به نام «حد تعیین کمی» (LOQ) شناخته می‌شود.<sup>۱</sup>

واژه‌های مرتبط با این مفاهیم بسیار متنوع بوده و در بخش‌های مختلف نیز متفاوت می‌باشند. برای مثال، اصطلاح «حد تشخیص» (LOD)، گرچه در گذشته به طور عمومی پذیرفته نشده بود، با این حال در بعضی از اسناد بخشی مورد استفاده قرار می‌گرفت. هر چند که این واژه‌ها در حال حاضر در VIM [7] و کتاب طلایی آیوپاک [17] گنجانده شده‌اند. ISO به عنوان اصطلاح عمومی از اصطلاح «حداقل مقدار قابل تشخیص متغیر حالت نهایی» استفاده می‌کند که ترجمه‌ی آن به زبان شیمی، «حداقل غلظت نهایی قابل تشخیص» خواهد شد [45, 46, 47, 48]. در این راهنما، اصطلاح‌های «مقدار بحرانی»، «حد تشخیص» (LOD) و «حد تعیین کمی» (LOQ)، برای سه مفهوم بالا به کار می‌روند. LOD و LOQ به طور متداول در صحنه‌گذاری متد تعیین می‌شوند. تمایزگذاری بین حد تشخیص دستگاه و حد تشخیص متد نیز ضروری است. حد تشخیص دستگاه می‌تواند بر پایه آنالیز یک نمونه پایه‌گذاری شود که اغلب واکنشگر بلانکی است که به طور مستقیم (یعنی هرگونه مراحل تهیه نمونه در آن حذف شده) یا به صورت نسبت سیگنال به نویز، برای مثال یک کروماتوگرام به دستگاه معرفی می‌شود. جهت دستیابی به حد تشخیص متد، LOD می‌بایست بر اساس آنالیز نمونه‌هایی که تمام مراحل روش اجرایی اندازه‌گیری را پشت سر گذاشته‌اند و استفاده از نتایج محاسبه شده با معادله یکسان برای نمونه‌های آزمایشی، پایه‌گذاری شود. این روش حد تشخیص، مفیدترین روش صحنه‌گذاری متد بوده و بنابراین تمرکز این راهنما نیز بر آن است. پاراگراف‌های بعدی، تخمین آزمایشی LOD و LOQ را توصیف می‌کنند. پایه آماری محاسبه LOD در پیوست B آورده شده است. از آنجا که LOD و LOQ به میزان دقت در صفر یا نزدیک صفر بستگی دارند، لذا بخش ۲.۲.۶، ابتدا تخمین آزمایشی انحراف استاندارد نتایج نزدیک به صفر را توصیف می‌کند.

### ۲.۲.۶ تعیین انحراف استاندارد در سطوح پایین

LOD و LOQ، معمولاً با ضرب انحراف استاندارد ( $s_0$ ) در یک فاکتور مناسب محاسبه می‌شوند. مهم است که این انحراف استاندارد، نماینده دقت به دست آمده برای

۲. نوعی ابهام در رابطه با اصطلاح‌شناسی مربوط به بلانک‌ها وجود دارد. برای بحث بیشتر بخش ۱.۴.۵ را ببینید.

۱. هم‌معنی‌های مورد استفاده شامل «حد تعیین»، «حد کمی»، «حد کمی‌سازی»، «حد گزارش‌دهی» و «حد کاربرد» می‌باشند.

$n_b$ ، تعداد مشاهدات بلانک استفاده شده برای محاسبه تصحیح بلانک می‌باشد.

توجه داشته باشید که تحت شرایط دقت میانی، نتایج، با مقادیر بلانک متفاوت تصحیح خواهند شد، لذا هیچ تصحیحی برای انحراف استاندارد لازم نمی‌باشد.

مثال ۳، این محاسبات را نشان داده و فلوجارت شکل ۲ نیز تصحیح‌های لازم برای معدل‌گیری و تصحیح بلانک را خلاصه می‌کند.

**مثال ۳.** یک تمرین صحنه‌گذاری بر پایه آنالیز بلانک نمونه بنا نهاده شده است. تعداد ده ( $m$ ) اندازه‌گیری مستقل از بلانک نمونه تحت شرایط تکرارپذیری انجام می‌شوند. نتایج دارای مقدار میانگین  $2\text{mg/kg}$  و انحراف استاندارد  $s_o = 1\text{mg/kg}$  می‌باشند. حالت ۱- روش اندازه‌گیری بیان می‌کند که نمونه‌های آزمایشی می‌بایست یک بار ( $n=1$ ) اندازه‌گیری شده و نتایج با نتیجه به دست آمده برای نمونه بلانک نمونه تک ( $n_b=1$ ) تصحیح شوند. در یک سری از اندازه‌گیری‌ها، هر اجرا شامل تکرارهای تک نمونه‌های روتین و یک نمونه بلانک ( $n_b$ ) می‌باشد. در این حالت انحراف استاندارد برای محاسبه LOD/LOQ، مطابق با شکل ۲ برابر خواهد شد با:

$$s'_o = s_o \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{1}} = 1\sqrt{2} = 1.4\text{mg/kg}$$

حالت ۲- روش اندازه‌گیری بیان می‌کند که نمونه‌های آزمایشی می‌بایست در دو تکرار ( $n=2$ )، همچنین نمونه‌های بلانک هم در دو تکرار آنالیز شوند. در یک سری از اندازه‌گیری‌ها، هر اجرا شامل دوبار تکرار ( $n=2$ ) نمونه‌های روتین و دو نمونه بلانک ( $n_b$ ) می‌باشد. غلظت به دست آمده برای نمونه‌های روتین با کم کردن مقدار میانگین دو نمونه بلانک تصحیح می‌شود. در این حالت، انحراف استاندارد برای محاسبه LOD/LOQ، طبق شکل ۲، برابر خواهد شد با:

$$s'_o = s_o \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} = 1\text{mg/kg}$$

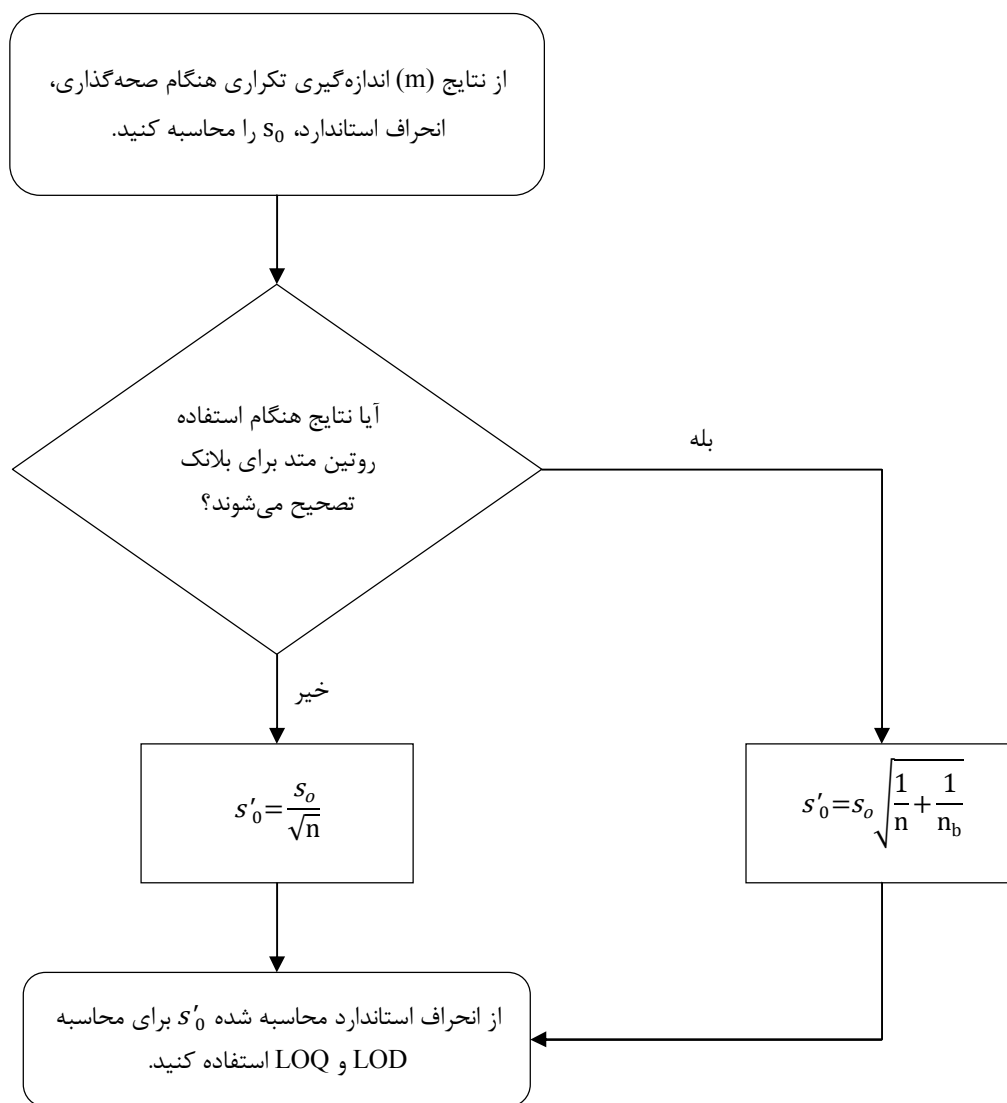
شرایط اندازه‌گیری: معمولاً انحراف استاندارد تحت شرایط تکرارپذیری به دست می‌آید و این روش در این بخش توضیح داده می‌شود. با این حال، تخمین قابل اعتمادتر می‌تواند با استفاده از شرایط دقت میانی به دست آید.

**تعداد مشاهدات:** تعداد تکرارها ( $m$ )، جهت دستیابی به تخمین رضایت‌بخش از انحراف استاندارد می‌بایست کافی باشند. نوعاً بین ۶ تا ۱۵ تکرار لازم است. اغلب در روش‌های اجرایی/ پروتوکول‌های صحنه‌گذاری ۱۰ تکرار پیشنهاد می‌شود (بخش ۱.۵.۲.۶ را ببینید).

**محاسبه معدل‌گیری:** در بسیاری از روش‌های اندازه‌گیری، میانگین تکرارها در استفاده روتین متد گزارش می‌شود. در اینجا هر تکرار با اجرای کل روش اندازه‌گیری به دست می‌آید. در این حالت، انحراف استاندارد نتایج تک  $s_o$  می‌بایست با تقسیم بر ریشه‌ی دوم  $n$ ، تصحیح شود. در اینجا  $n$ ، تعداد تکرارهای معدل‌گیری شده در استفاده روتین می‌باشد.

**محاسبه اثر تصحیح‌های بلانک:** اگر تصحیح‌های بلانک در روش اندازه‌گیری مشخص شده باشند، آنگاه می‌بایست در تعیین انحراف استاندارد برای محاسبه LOD یا LOQ احتیاط شود. اگر در مطالعه صحنه‌گذاری، تمام نتایج با مقدار بلانک یکسان تصحیح شده به دست آیند - رویکردی که در اینجا برای سادگی ارائه شده - آنگاه انحراف استاندارد نتایج در مقایسه با زمانی که در عمل، نتایج با مقادیر بلانک تصحیح شده متفاوت در اجراهای مختلف به دست می‌آیند، کوچکتر خواهد بود.

در این مورد،  $s_o$  می‌بایست با ضرب در مقدار  $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$  تصحیح شود. در اینجا  $n$ ، تعداد مشاهدات تکراری معدل‌گیری شده هنگام گزارش نتایج است، وقتی که هر تکرار با دنبال کردن کل روش اندازه‌گیری به دست آید و



$s_0$ : انحراف استاندارد تخمینی،  $m$  نتیجه تک در غلظت صفر و یا نزدیک به غلظت صفر

$s'_0$ : انحراف استاندارد استفاده شده برای محاسبه LOD و LOQ

$n$ : تعداد مشاهدات تکراری معدل‌گیری شده هنگام گزارش، که در آن هر تکرار با دنبال کردن کل روش اندازه‌گیری به دست می‌آید.  
 $n_b$ : تعداد مشاهدات بلانک معدل‌گیری شده هنگامی که تصحیح بلانک طبق روش اندازه‌گیری محاسبه می‌شود.

شکل ۲. محاسبه انحراف استاندارد،  $s'_0$  که می‌بایست برای تخمین LOD و LOQ استفاده شود. فلوجارت با انحراف استاندارد آزمایشی،  $s_0$  شروع شده که تحت شرایط تکرارپذیری از نتایج اندازه‌گیری‌های تکراری روی نمونه نزدیک به غلظت صفر، محاسبه می‌شود. در اینجا یا تصحیح بلانک انجام نشده و یا تصحیح بلانک برای تمام نتایج مشخص شده در متد اعمال خواهد شد. تصحیح بلانک ممکن است بر اساس یک مشاهده بلانک تک یا بر اساس میانگین چندین مشاهده بلانک پایه‌گذاری شده باشد.

### ۳.۲.۶ تخمین LOD

برای اهداف صحنه‌گذاری، معمولاً بیان مقدار تقریبی LOD، یعنی سطحی که در آن تشخیص آنالیت مشکل‌ساز می‌شود، کافی است. بدین منظور رویکرد « $3s$ » نشان داده شده در مرجع خلاصه ۲ معمولاً کافی خواهد بود.

وقتی که بحث تایید نظارتی یا انطباق با یک ویژگی مطرح باشد، به خصوص در محاسبه درجات آزادی مرتبط با  $o_k$  به رویکرد دقیق‌تری نیاز می‌باشد. این رویکرد به طور کامل توسط آیوپاک [49] و دیگر منابع توصیف شده است [50, 51]. جایی که مقدار بحرانی  $o_k$  یا LOD برای

یا عدم قطعیت اندازه‌گیری می‌باشد [52]). با این حال، در عمل، LOQ در بیشتر قراردادهای به صورت غلظت آنالیت مطابق با انحراف استاندارد به دست آمده ( $s_0'$ ) در سطوح پایین با ضرب در فاکتور  $k_Q$  محاسبه می‌شود. مقدار پیش فرض آیوپاک برای  $k_Q$  رقم ۱۰ است [49]، و اگر انحراف استاندارد به طور تقریبی در غلظت‌های پایین ثابت باشد، این ضریب با انحراف استاندارد نسبی (RSD)، 10% برابر خواهد شد. ضرایب ۵ و ۶ نیز بعضی اوقات استفاده شده که به ترتیب با مقادیر 20% و 17% متناظر می‌باشند [53, 54]. در این رابطه مرجع خلاصه ۳ و دیگر مراجع [8] را مشاهده کنید.

تصمیم‌گیری استفاده شوند، دقت می‌بایست پایش شده و هر وقت که لازم باشد حدود نیز می‌بایست مجدداً محاسبه شوند. بخش‌ها و مقررات مختلف ممکن است از رویکردهای مختلف برای تخمین LOD استفاده کنند. پیشنهاد می‌شود که قرارداد استفاده شده هنگام گزارش حد تشخیص بیان شود. در غیاب هر گونه راهنمای سازمانی در مورد تخمین LOD، رویکردهای ارائه شده در مرجع خلاصه ۲ می‌توانند به عنوان راهنمای عمومی مورد استفاده قرار گیرند.

#### ۴.۲.۶ تخمین LOQ

LOQ پایین‌ترین سطح آنالیت است که می‌تواند با عملکرد قابل قبول تعیین شود («عملکرد قابل قبول» به اشکال مختلف، در راهنماهای مختلف، شامل دقت، دقت و درستی

#### مرجع خلاصه ۲. حد تشخیص (LOD)

پیشنهادات	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
	انحراف استاندارد، $s_0$ نتایج را حساب کنید. $s_0'$ را از $s_0$ با پیروی از فلوجارت شکل ۲ حساب کنید. LOD را به شکل $LOD=3 \times s_0'$ حساب کنید.	۱۰	اندازه‌گیری‌های نمونه‌های (a) بلانک، یعنی ماتریکس‌های فاقد آنالیت قابل تشخیص را تکرار کنید. یا اندازه‌گیری‌های نمونه‌های آزمایشی با غلظت‌های پایین آنالیت را تکرار کنید.
رویکرد (b) قابل قبول است، وقتی به دست آوردن نمونه‌های بلانک یا نمونه‌های آزمایشی در غلظت‌های پایین امکان‌پذیر نباشد. وقتی بلانک‌های واکنشگر وارد کل روش اجرایی اندازه‌گیری نشده و به طور مستقیم به دستگاه معرفی شوند، محاسبه، LOD دستگاه را نشان خواهد داد.	انحراف استاندارد، $s_0$ نتایج را حساب کنید. $s_0'$ را از $s_0$ با پیروی از فلوجارت شکل ۲ حساب کنید. LOD را به شکل $LOD=3 \times s_0'$ حساب کنید.	۱۰	اندازه‌گیری‌های بلانک‌های واکنشگر را تکرار کنید. یا اندازه‌گیری‌های بلانک‌های واکنشگر نشانه‌گذاری شده با غلظت‌های پایین آنالیت را تکرار کنید.
<b>نکات</b>			
<p>۱. برای بعضی از تکنیک‌های تجزیه‌ای مثل کروماتوگرافی، جهت دستیابی به انحراف استاندارد غیرصفر برای نمونه آزمایشی حاوی غلظت بسیار پایین یا بلانک واکنشگر، ممکن است نیاز به نشانه‌گذاری باشد.</p> <p>۲. کل روش اجرایی اندازه‌گیری می‌بایست برای هر تعیین تکرار شود.</p> <p>۳. انحراف استاندارد در واحدهای غلظت بیان می‌شود. وقتی انحراف استاندارد در دامنه سیگنال بیان شود، آنگاه LOD، غلظت متناظر سیگنال بلانک، یعنی <math>y_B + 3 \times s_0'</math> خواهد شد.</p> <p>توضیح مختصری از محاسبات LOD در دامنه سیگنال در مرجع [5] آورده شده است.</p>			

## مرجع خلاصه ۳. حد تعیین کمی (LOQ)

پیشنهادات	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
مقدار ضریب $k_Q$ معمولاً ۱۰ است، اما دیگر مقادیر نظیر ۵ و ۶ نیز (بر اساس قضایای «برازش هدف») معمولاً استفاده می‌شوند.	انحراف استاندارد، $s_0$ ، نتایج را حساب کنید. $s_0'$ را از $s_0$ با پیروی از فلوجارت شکل ۲ محاسبه کنید. LOQ را به شکل $LOQ = k_Q \times s_0'$ محاسبه کنید.	۱۰	اندازه‌گیری‌های نمونه‌های بلانک، یعنی ماتریکس‌های فاقد آنالیت قابل تشخیص را تکرار کنید. یا اندازه‌گیری‌های نمونه‌های آزمایشی با غلظت‌های پایین آنالیت را تکرار کنید.
رویکرد (b) قابل قبول است، هنگامی که دسترسی به نمونه‌های بلانک یا نمونه‌های آزمایشی در غلظت‌های پایین غیرممکن باشد. وقتی بلانک‌های واکنشگر وارد کل روش اجرایی اندازه‌گیری نشده و به شکل مستقیم به دستگاه معرفی شوند، محاسبه، LOQ دستگاه را خواهد داد.	انحراف استاندارد، $s_0$ ، نتایج را حساب کنید. $s_0'$ را از $s_0$ با پیروی از فلوجارت شکل ۲ محاسبه کنید. LOQ را به شکل $LOQ = k_Q \times s_0'$ محاسبه کنید.	۱۰	اندازه‌گیری‌های بلانک‌های واکنشگر را تکرار کنید. یا اندازه‌گیری‌های بلانک‌های واکنشگر نشانه‌گذاری شده با غلظت‌های پایین آنالیت را تکرار کنید.
<b>نکات</b>			
<p>۱. برای بعضی تکنیک‌های تجزیه، برای مثال، کروماتوگرافی، جهت دستیابی به انحراف استاندارد غیرصفر برای نمونه آزمایشی شامل غلظت بسیار پایین یا بلانک واکنشگر ممکن است به نشانه‌گذاری نیاز باشد.</p> <p>۲. کل روش اجرایی اندازه‌گیری می‌بایست برای هر تعیین تکرار شود.</p> <p>۳. انحراف استاندارد در واحدهای غلظت بیان می‌شود.</p>			

## ۵.۲.۶ روش‌های اجرایی جایگزین

بخش‌های قبلی، رویکرد عمومی تخمین LOD و LOQ را بر اساس انحراف استاندارد نتایج در غلظت‌های نزدیک صفر توصیف می‌کنند که تحت شرایط تکرارپذیری به دست آمده‌اند. اگر چه این رویکرد به طور گسترده به کار می‌رود، اما روش‌های اجرایی جایگزین دیگری نیز در استانداردها و پروتوکول‌ها مشاهده می‌شوند.

در بعضی موارد، برای مثال جایی که مقادیر بلانک به طور چشمگیر از روزی به روز دیگر تغییر می‌کنند، شرایط دقت میانی به شرایط تکرارپذیری ترجیح داده می‌شوند. برای مثال، چنانچه نتایج کنترل کیفیت برای نمونه‌های آزمایشی در سطوح غلظت پایین در دسترس باشند، انحراف استاندارد این نتایج می‌تواند در تخمین LOD و LOQ مورد استفاده قرار گیرد. جایی که انحراف استاندارد استفاده شده برای محاسبه LOD و LOQ تحت شرایط دقت میانی به دست آمده باشد، دیگر نیازی به تصحیح بلانک نشان داده شده در شکل ۲، نمی‌باشد. بنابراین انحراف استاندارد آزمایشی به

دست آمده از کنترل کیفیت داخلی برابر با انحراف استاندارد  $s_0'$  می‌باشد که برای محاسبه LOD و LOQ استفاده خواهد شد. ISO، 11843-2 [46] توضیح می‌دهد که چطور LOD دستگاه می‌تواند به طور مستقیم از منحنی کالیبراسیون به دست آید.

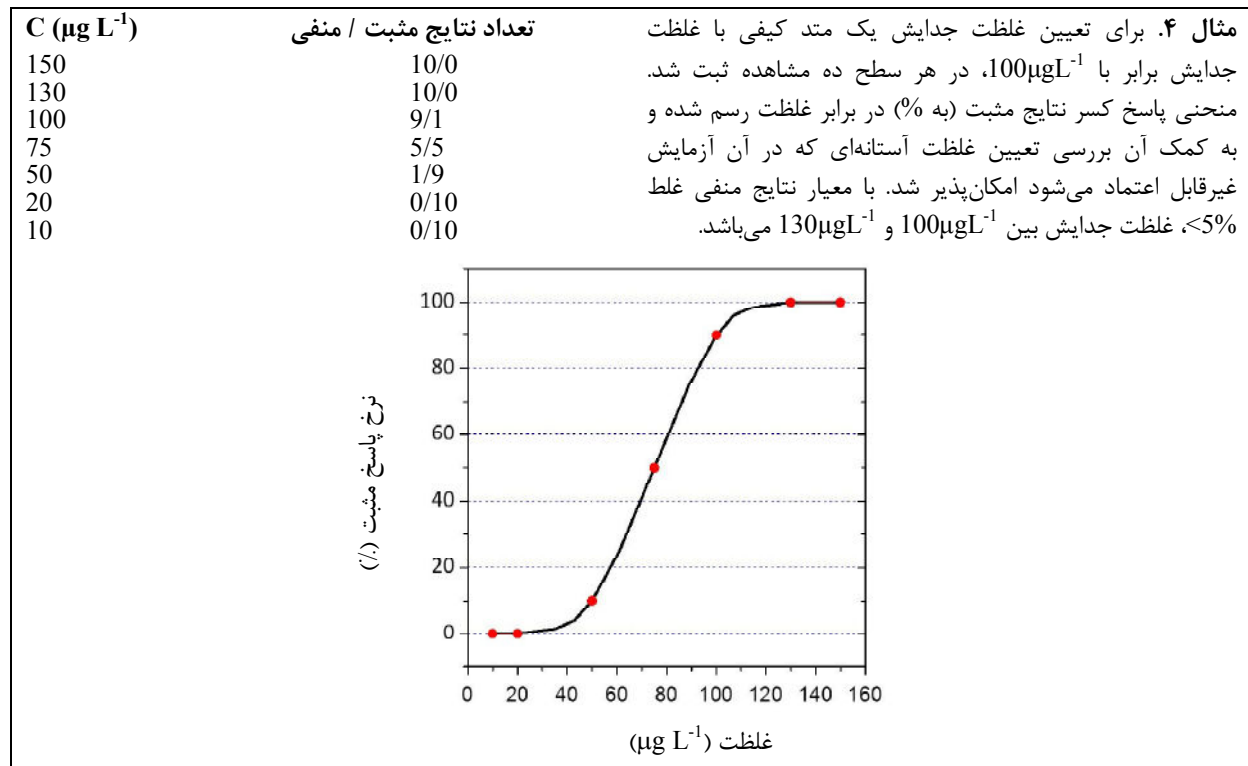
## ۱.۵.۲.۶ قابلیت اطمینان تخمین‌های LOD و LOQ

می‌بایست به این نکته توجه شود که حتی با ۱۰ تکرار اشاره شده در مرجع خلاصه ۲ و مرجع خلاصه ۳، تخمین‌های انحراف استاندارد ذاتا متغیر هستند. بنابراین، تخمین LOD/LOQ به دست آمده هنگام صحه‌گذاری می‌بایست به عنوان یک مقدار شاخص در نظر گرفته شود. با این حال، اگر تخمینی از LOD/LOQ لازم باشد که خیلی ساده نشان‌دهنده غلظت‌های نمونه‌هایی باشد که بالای LOD/LOQ قرار می‌گیرند، این تخمین کافی خواهد بود. جایی که انتظار می‌رود نمونه‌های آزمایشگاهی شامل غلظت‌های پایین آنالیت باشند، LOD/LOQ نیز می‌بایست به صورت منظم پایش شوند.

## ۶.۲.۶ توانایی تشخیص آنالیز کیفی

آنالیز کیفی، (پیوست D) شامل شناسایی یا طبقه‌بندی مواد است که در یک غلظت جدایش (بُرش) از آنالیت، به طور مؤثر به پاسخ «آری» یا «خیر» منجر خواهد شد [55]. برای متدهای کیفی، دقت برحسب انحراف استاندارد یا انحراف استاندارد نسبی بیان نشده و به جای آن از شکل نرخ‌های مثبت و منفی درست و غلط استفاده می‌شود.

غلظت جدایش در مطالعه صحنه‌گذاری، با تعریف نرخ‌های مثبت و منفی غلط در تعدادی از سطوح بالا و پایین غلظت جدایش مورد انتظار تعیین می‌شود. حد جدایش جایی است که نرخ‌های منفی غلط برای غلظت‌های بالای حد (برای مثال با احتمال بیان شده، 5%)، پایین می‌باشند. در صحنه‌گذاری، حد جدایش پیشنهادی در روش اجرایی مستند، ارزیابی می‌شود (مثال ۴ و مرجع خلاصه ۴ را ببینید).



## مرجع خلاصه ۴. حد تشخیص (LOD) آنالیز کیفی

چه باید کرد؟	چه تعداد؟	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟
بلانک‌های نمونه نشانه‌گذاری شده با آنالیت را در گستره‌ی از سطوح غلظت به شکل تصادفی اندازه‌گیری کنید.	۱۰	می‌بایست یک منحنی پاسخ درصد نتایج مثبت و منفی در برابر غلظت ایجاد شده و از طریق آن تعیین غلظت آستانه‌ای که در آن آزمایش غیرقابل اعتماد می‌شود امکان‌پذیر خواهد شد.



در جریان صحنه‌گذاری، هم گستره‌ی کاری دستگاه و هم گستره‌ی کاری متد می‌بایست ارزیابی شوند. داده‌های مربوط به گستره‌ی کاری اغلب هنگام توسعه متد تولید می‌شوند. در این گونه موارد، ارائه داده‌ها در گزارش صحنه‌گذاری کافی خواهد بود.

#### ۴.۳.۶ ارزیابی گستره‌ی کاری دستگاه

پاسخ دستگاه بین LOQ و انتهای بالایی گستره‌ی کاری دستگاه، از یک رابطه‌ی معلوم کاملاً خطی، خمیده خطی و غیره تبعیت می‌کند. هنگام صحنه‌گذاری لازم است تا (i) این رابطه تأیید شود، (ii) نشان داده شود که گستره‌ی کاری دستگاه با بازه بیان شده در دامنه کاربرد متد سازگار است و (iii) تصدیق و بررسی شود که روش اجرایی کالیبراسیون دستگاه (تک‌نقطه‌ای، براکتینگ یا چندنقطه‌ای) کافی و کارآمد می‌باشد.

برای رسم سیگنال‌ها به منظور بررسی گستره‌ی کاری دستگاه و تأیید برازندگی هدف، می‌بایست از استانداردهای کالیبراسیون با پهنای غلظتی استفاده شود که با ضریب  $\pm 10\%$  و یا حتی  $\pm 20\%$  از گستره‌ی غلظت مورد انتظار تجاوز می‌کنند (مرجع خلاصه ۵، مرحله ۱ را ببینید). برای گستره‌ی  $1-100\text{mgL}^{-1}$ ، مقدار  $\pm 20\%$  به 0.8 تا  $120\text{mgL}^{-1}$  اشاره می‌کند. غلظت‌های انتخابی می‌بایست به طور یکنواخت در امتداد گستره جای بگیرند. ارزیابی اولیه گستره‌ی کاری با بررسی چشمی منحنی پاسخ انجام می‌شود. مرحله بعدی، تعیین رابطه‌ی غلظت و پاسخ دستگاه به کمک بررسی آماره‌های رگرسیون و منحنی مانده برای مدل انتخابی (برای مثال، خطی، درجه دوم) می‌باشد (مرجع خلاصه ۵، مرحله ۲ را ببینید). ارزیابی ممکن است شامل معیارهای آماری خاص، نظیر آزمون‌های «نیکویی برازش» [56, 57] نیز باشد. تجزیه‌گر از منحنی پاسخ و آماره‌های تأییدکننده به دست آمده از گستره‌ی کاری دستگاه، می‌تواند ارزیابی کند که آیا روش اجرایی کالیبراسیون پیشنهاد شده در متد مناسب می‌باشد یا خیر. روش کالیبراسیون با برآورد گستره‌ی کاری متد، باز هم بیشتر ارزیابی می‌شود.

### ۳.۶ گستره‌ی کاری

#### ۱.۳.۶ تعریف

«گستره‌ی کاری»<sup>۱</sup> بازه‌ای است که در آن، متد به نتایجی با عدم قطعیت قابل قبول منجر می‌شود. انتهای پایینی گستره‌ی کاری با حد تعیین کمی LOQ، محدود می‌شود. انتهای بالایی گستره‌ی کاری با غلظت‌هایی تعریف می‌شود که در آن بی‌نظمی‌های معناداری در حساسیت تجزیه‌ای دیده می‌شود. مثالی از این وضعیت اثر سکو می‌باشد که در مقادیر جذب بالا در طیف‌سنجی UV/VIS مشاهده می‌شود.

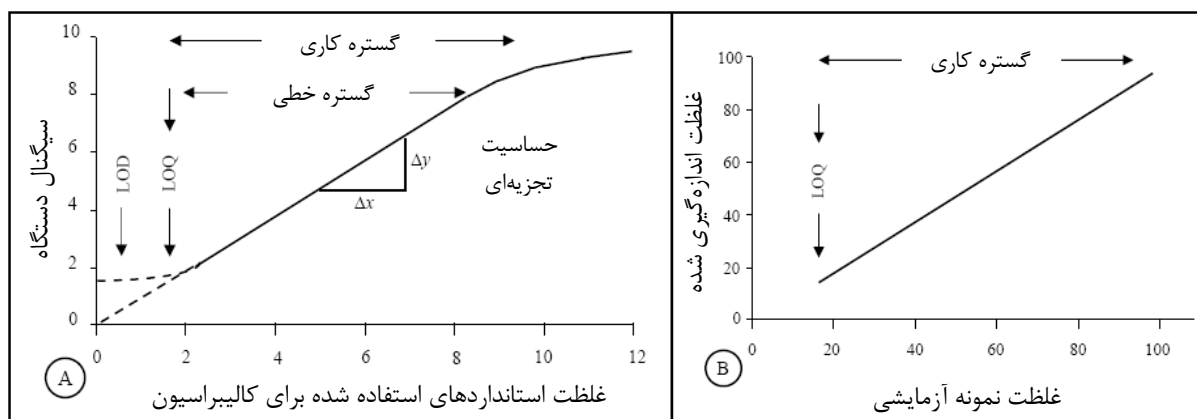
#### ۲.۳.۶ ملاحظات مطالعه صحنه‌گذاری

گستره‌ی کاری متد صحنه‌گذاری شده می‌بایست در دامنه کاربرد روش اجرایی مستند بیان شود (پیوست A، A.5 را ببینید). هنگام صحنه‌گذاری، تأیید امکان استفاده متد در این گستره، الزامی است. به منظور ارزیابی گستره‌ی کاری، لازم است تا آزمایشگاه، خطی بودن متد و روش اجرایی کالیبراسیون پیشنهادی ارائه شده در متد را مد نظر داشته باشد.

#### ۳.۳.۶ گستره‌ی کاری دستگاه و متد

بسیاری از متدها بر نمونه‌های آزمایشی دریافت شده در آزمایشگاه متکی هستند (نمونه آزمایشگاهی) که قبل از معرفی آن‌ها به دستگاه اندازه‌گیرنده و ثبت سیگنال، می‌بایست عملیات فرآوری (هضم، استخراج، رقیق‌سازی) روی آن‌ها انجام شود. در این موارد دو گستره‌ی کاری وجود خواهد داشت. گستره‌ی کاری متد در دامنه کاربرد متد (برای مثال، بخش A.5، پیوست A) که به غلظت نمونه آزمایشگاهی مرتبط است، و برای مثال، به شکل  $\text{mgkg}^{-1}$  نمونه آزمایشی جامد بیان می‌شود، و دیگری گستره‌ی کاری دستگاه که بر اساس غلظت نمونه آزمایشی فرآوری شده و معرفی شده به دستگاه اندازه‌گیری (برای مثال  $\text{mgL}^{-1}$  در یک محلول پس از استخراج نمونه) تعریف می‌شود. مثالی از گستره‌ی کاری دستگاه در شکل ۳A ارائه شده که در آن غلظت‌های استانداردهای کالیبراسیون در برابر سیگنال دستگاه رسم می‌شوند. مثالی از گستره‌ی کاری متد در شکل ۳B ارائه شده که در آن غلظت‌های نمونه آزمایشی معلوم در برابر غلظت اندازه‌گیری شده رسم می‌شوند. غلظت اندازه‌گیری شده، نتیجه‌ای است که با به کار بردن روش اجرایی اندازه‌گیری (شامل تهیه نمونه) و استفاده از دستگاه کالیبره شده بر اساس متد مکتوب به دست می‌آید.

۱. VIM از واژه «بازه اندازه‌گیری» یا «بازه کاری» استفاده می‌کند.



شکل ۳. A) مثال نوعی منحنی پاسخ به دست آمده با یک متد دستگاهی. ویژگی‌های عملکردی «گستره کاری»، «گستره خطی»، «حساسیت تجزیه‌ای»، «LOD» و «LOQ» شناسایی می‌شوند. B) مثال نوعی منحنی به دست آمده با روش اجرایی اندازه‌گیری که در آن غلظت نمونه آزمایشی در برابر غلظت اندازه‌گیری شده رسم می‌شود.

شده و با آمارها و منحنی مانده به دست آمده از رگرسیون خطی تأیید می‌شود.

ارزیابی گستره کاری با داده‌های به دست آمده از مطالعات بایاس و دقت (بخش‌های ۲.۵.۶ و ۱.۲.۶.۶ را ببینید) نیز تأیید می‌شود، البته به شرطی که این مطالعات غلظت‌های کل گستره کاری متد را پوشش دهند.

از آنجا که مزاحمت‌ها می‌توانند پاسخ‌های غیرخطی ایجاد کنند و توانایی متد برای استخراج/بازیابی آنالیت نیز ممکن است بسته به ماتریکس نمونه تغییر کند، لذا برای هر ماتریکس پوشش داده شده در دامنه کاری متد، می‌بایست گستره کاری جداگانه‌ای ایجاد شود.

### ۵.۳.۶ ارزیابی گستره کاری متد

به منظور ارزیابی گستره کاری متد (۱) می‌بایست نمونه‌هایی با غلظت‌های معلوم و بلانک‌های نمونه در دسترس باشند، (۲) نمونه‌های استفاده شده می‌بایست وارد کل روش اجرایی اندازه‌گیری شوند، (۳) غلظت‌های نمونه‌های مختلف می‌بایست ترجیحاً کل گستره کاری مورد نظر را پوشش دهند و (۴) دستگاه می‌بایست بر اساس روش اجرایی کالیبراسیون پیشنهاد شده کالیبره شود. نتیجه اندازه‌گیری برای هر نمونه آزمایشی بر اساس روش اجرایی مکتوب (بخش ۳ در مرجع خلاصه ۵ را ببینید)، محاسبه می‌شود. این مقادیر بر روی محور  $y$ ها و در برابر غلظت‌های معلوم نمونه‌ها (محور  $x$ ) همانند شکل ۳B رسم می‌شوند. گستره کاری متد و خطی بودن با بررسی چشمی منحنی ارزیابی

## مرجع خلاصه ۵. گستره‌ی خطی و کاری

پیشنهادهای	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
منجر به تأیید چشمی این نکته خواهد شد که آیا گستره‌ی کاری دستگاه خطی است یا خیر. نکته: وقتی که سیگنال به طور مستقیم با غلظت متناسب نباشد، برای مثال، هنگام کار با pH متر یا دیگر الکترودهای یون‌گزین یا متدهای ایمنی سنجی، قبل از ارزیابی خطی بودن می‌بایست تبدیل مقادیر اندازه‌گیری شده انجام شود.	پاسخ (محور Y) را در برابر غلظت (محور X) رسم کنید. گستره‌ی خطی تقریبی و مرزهای بالا و پایین گستره‌ی کاری دستگاه را به صورت چشمی بررسی کنید. بعد به مرحله ۲ بروید.	۱	(۱) بلانک و استانداردهای کالیبراسیون را در ۶-۱۰ غلظت که به طور یکنواخت در فضای بین گستره‌ی مورد نظر جای می‌گیرند را اندازه‌گیری کنید.
این مرحله برای آزمایش خطی بودن گستره‌ی کاری و به خصوص جایی که متد از کالیبراسیون دونقطه‌ای استفاده می‌کند، لازم است. اگر انحراف استاندارد با غلظت متناسب باشد، آنگاه به جای استفاده از رگرسیون خطی ناموزون ساده، استفاده از محاسبه رگرسیون موزون در نظر گرفته می‌شود. حذف یک داده انحرافی بدون بررسی اولیه و استفاده آن در اندازه‌گیری‌های بعدی غلظت‌های نزدیک، کاری نامطمئن است. برای کالیبراسیون دستگاهی بهتر است در بعضی شرایط یک منحنی غیرخطی به داده‌ها برازنده شود. آنگاه تعداد نمونه‌ها می‌بایست افزایش یابند. معمولاً توابع بالاتر از درجه‌ی دوم پیشنهاد نمی‌شوند.	پاسخ (محور Y) را در برابر غلظت (محور X) رسم کنید. به صورت چشمی داده‌های انحرافی که ممکن است در رگرسیون منعکس نشده باشند را بررسی کنید. آماره رگرسیون مناسب را حساب کنید. مانده‌ها را محاسبه و رسم کنید (اختلاف بین مقدار Y مشاهده شده و مقدار Y محاسبه شده که با خط راست برای هر مقدار X پیش‌بینی می‌شود). توزیع تصادفی مانده‌ها اطراف صفر خطی بودن را تأیید می‌کند. روندهای سیستماتیک به غیر خطی بودن یا تغییر در واریانس با سطح اشاره می‌کنند.	۱	(۲) بلانک به علاوه استانداردهای کالیبراسیون را ۲ تا ۳ مرتبه در ۶-۱۰ غلظت که به طور یکنواخت در گستره‌ی خطی قرار می‌گیرند را اندازه‌گیری کنید.
این مرحله برای ارزیابی این که آیا گستره‌ی دستگاهی پیشنهاد شده و روش اجرایی کالیبراسیون برای هدف برازنده می‌باشند یا خیر، لازم است. اگر از مطالعات دقت و بایاس که گستره‌ی مورد نظر را پوشش می‌دهند، داده‌هایی در دسترس باشند، ممکن است دیگر نیازی به مطالعه گستره‌ی کاری متد جداگانه نباشد.	غلظت اندازه‌گیری شده (محور Y) را در برابر غلظت نمونه‌های آزمایشی (محور X) رسم کنید. گستره‌ی خطی تقریبی و مرزهای بالا و پایین گستره‌ی کاری دستگاه را به صورت چشمی بررسی کنید. آماره رگرسیون مناسب را حساب کنید. مانده‌ها را محاسبه و رسم کنید (اختلاف بین مقدار Y مشاهده شده و مقدار Y محاسبه شده که با خط راست برای هر مقدار X پیش‌بینی می‌شود). توزیع تصادفی مانده‌ها اطراف صفر خطی بودن را تأیید می‌کند. روندهای سیستماتیک به غیر خطی بودن یا تغییر در واریانس با سطح اشاره می‌کنند.	۱	(۳) دستگاه را بر اساس روش اجرایی کالیبراسیون پیشنهادی کالیبره کنید. بر اساس متد مکتوب، بلانک به علاوه مواد مرجع یا بلانک‌های نمونه نشانه‌گذاری شده را ۲-۳ مرتبه در ۶-۱۰ غلظت که به طور یکنواخت در گستره‌ی مورد نظر قرار می‌گیرند را اندازه‌گیری کنید.

## ۴.۶ حساسیت تجزیه‌ای

## ۱.۴.۶ تعریف

حساسیت تجزیه‌ای، تغییر در پاسخ دستگاه است که با تغییر در کمیت اندازه‌گیری شده (برای مثال، غلظت آنالیت)، یعنی گرادیان منحنی پاسخ [7, 18] مطابقت دارد. در اینجا استفاده از پسوند «تجزیه‌ای» به خاطر مشابهت آن با اصطلاح «حساسیت تشخیصی» استفاده شده در آزمایشگاه تشخیص طبی، پیشنهاد می‌شود [43]. گاهی اوقات، اصطلاح «حساسیت» برای اشاره به حد تشخیص استفاده می‌شود، اگر چه استفاده آن در VIM توصیه نمی‌شود.

## ۲.۴.۶ کاربردها

حساسیت تجزیه‌ای فقط یک مشخصه عملکردی ویژه و مهم نیست و حداقل دو کاربرد مفید دیگر نیز در رابطه با آن وجود دارد:

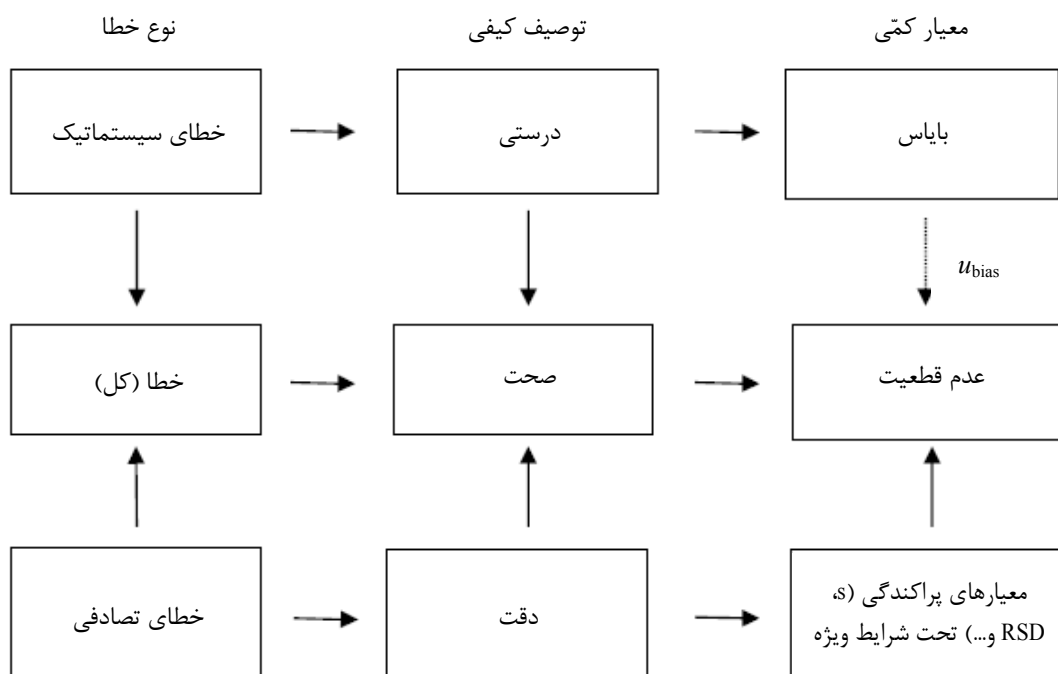
۱. گاهی اوقات حساسیت تجزیه‌ای تئوری معلوم است. بسیاری از الکتروده‌های یون‌گزین رفتار نرنستی از خود نشان می‌دهند، برای مثال، سیگنال به دست آمده از یک الکتروود شیشه سالم که انتظار می‌رود به شکل  $59\text{mV/pH}$  تغییر کند.

۲. در سیستم‌های اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری، مقدار جذب می‌تواند از قانون بیر-لامبرت پیش‌بینی شود. لذا بعضی اوقات از آن می‌توان برای بازبینی عملکرد دستگاه و استانداردها نیز استفاده کرد [58].

## ۵.۶ درستی

## ۱.۵.۶ واژگان توصیف کیفیت اندازه‌گیری

در این راهنما، ما از سه ویژگی عملکردی درستی، دقت و عدم قطعیت برای توصیف کیفیت نتایج به دست آمده از متد، استفاده می‌کنیم. با این حال، دانشمندان اغلب از مفاهیم مختلفی نظیر انواع خطاها (تصادفی، سیستماتیک و خطاهای درشت)، صحت (درستی و دقت) و عدم قطعیت استفاده می‌کنند. بعضی از این مفاهیم دارای معنای کیفی و بعضی دیگر دارای معنای کمی می‌باشند. با گذشت سال‌ها، اصطلاح‌ها و تعاریف تغییر کرده و اصطلاح‌های جدید معرفی شده‌اند. به علاوه، بخش‌های مختلف، واژه‌های متفاوت خود را ترجیح می‌دهند که همه آن‌ها به سردرگمی‌های زیادی منجر شده‌اند. شکل ۴، ارتباط بین واژه‌ها را نشان داده و جزئیات بیشتر در [7] VIM و راهنمای یوراکم در باره واژه‌شناسی [8] ارائه شده است.



شکل ۴. تصویر، ارتباط بین بعضی مفاهیم پایه استفاده شده برای توصیف کیفیت نتایج اندازه‌گیری (بر پایه کار مندیتو و همکاران [59])، را نشان می‌دهد. برآورد عدم قطعیت بر اساس GUM [21]، تصحیحی را برای بایاس معلوم فرض کرده و عدم قطعیت تصحیح بایاس  $u_{bias}$  در عدم قطعیت نهایی گنجانده می‌شود. این موضوع با فلش نقطه‌چین زیر مستطیل «بایاس» نشان داده می‌شود. هم مفهوم صحت و هم مفهوم عدم قطعیت فرض می‌کند که اندازه‌گیری‌ها بر اساس روش اجرایی مستند انجام شده و اثرات «خطاهای درشت» (اشتباه‌ها) در آن‌ها لحاظ نشده است.

اندازه‌گیری تجزیه، از درصد بازیابی نسبی («بازیابی ظاهری») نیز استفاده می‌شود [60].

$$R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100 \quad (\text{معادله ۴})$$

جهت تعیین بایاس با استفاده از یک RM، میانگین و انحراف استاندارد یک‌سری از اندازه‌گیری‌های تکراری تعیین شده و نتایج با مقدار ویژگی اسمی RM مقایسه می‌شوند. RM ایده‌آل، یک ماده مرجع ماتریکس گواهی‌دار با مقادیر ویژگی نزدیک به نمونه‌های آزمایشی مورد نظر می‌باشد. CRMها، عموماً به خاطر فراهم آوردن مقادیر قابل ردیابی پذیرفته می‌شوند [61, 62]. همچنین یادآوری این نکته مهم است که هنگام مطالعه صحنه‌گذاری، یک RM خاص تنها می‌بایست برای یک هدف، استفاده شود. برای مثال، RMی که برای کالیبراسیون استفاده می‌شود، نمی‌بایست برای ارزیابی بایاس استفاده شود.

دسترس‌پذیری RMها، با توجه به انواع زیاد نمونه‌ها و آنالیت‌هایی که در آزمایشگاه‌ها با آنها مواجه می‌شویم، محدود است، با این حال مهم است که ماده انتخابی برای استفاده مورد نظر مناسب باشد. چنانچه هنگام تعیین ویژگی ماده، هدف روش تهیه نمونه، ارائه غلظت کل آنالیت نبوده و تنها مقدار استخراج شده تحت شرایط خاص مدنظر باشد، آنگاه ممکن است چگونگی تعیین ویژگی RM نیز ضروری باشد.

برای کارهای نظارتی می‌بایست از یک ماده گواهی‌دار مرتبط، و در صورت دسترسی، از یک ماتریکس مشابه ایده‌آل استفاده شود. برای متدهایی که به شکل طولانی‌مدت در کار درون سازمانی استفاده می‌شوند، می‌توان از یک ماده درون سازمانی پایدار برای پایش بایاس استفاده کرد، هر چند که در ارزیابی اولیه حتماً می‌بایست از یک CRM استفاده شود.

در غیاب RMهای مناسب، می‌توان از مطالعات بازیابی (آزمایش‌های نشانه‌گذاری) برای ارائه شاخصی از سطح بایاس احتمالی استفاده کرد. آنالیت‌ها ممکن است به شکل‌های مختلف در نمونه حاضر بوده و بعضی اوقات فقط اشکال خاصی از آنالیت‌ها برای تجزیه‌گر مهم هستند. بنابراین، متد ممکن است، آگاهانه برای شکل خاصی از آنالیت طراحی شده باشد. ناتوانی در تعیین بخشی از آنالیت و یا تمام آنالیت حاضر، ممکن است منعکس‌کننده مشکل ذاتی متد باشد. لذا، ارزیابی کارایی متد برای تشخیص تمام آنالیت‌های حاضر لازم است [60, 63].

«صحت» اندازه‌گیری، نزدیکی یک نتیجه تک به یک مقدار مرجع<sup>۱</sup> [29, 48] (برای تعریف دقیق VIM، 2.13 را ببینید) را بیان می‌کند. صحنه‌گذاری متد، صحت نتایج را با بررسی اثرات تصادفی و سیستماتیک روی نتایج تک بررسی می‌کند. بنابراین صحت معمولاً، به صورت مؤلفه «درستی» و «دقت» مطالعه می‌شود. به علاوه، بیان عمومی صحت که بیش از پیش مطرح می‌شود، «عدم قطعیت اندازه‌گیری» است که یک رقم تک را فراهم می‌کند. ارزیابی درستی در قسمت زیر توصیف می‌شود، در حالی که دقت در بخش ۶.۶ و عدم قطعیت در بخش ۷.۶ بحث می‌شود.

«درستی» اندازه‌گیری، میزان نزدیکی میانگین تعداد بی‌شمار از نتایج (تولید شده با متد) را به مقدار مرجع بیان می‌کند. از آنجا که امکان بی‌شمار اندازه‌گیری وجود ندارد، لذا درستی نمی‌تواند اندازه‌گیری شود. با این حال، می‌توانیم یک ارزیابی عملی از درستی داشته باشیم. این ارزیابی معمولاً، به صورت کمی و بر اساس «بایاس» بیان می‌شود.

### ۲.۵.۶ تعیین بایاس

تعیین عملی بایاس به مقایسه میانگین نتایج ( $\bar{x}$ ) متد نامزد با مقدار مرجع مناسب ( $x_{ref}$ )<sup>۱</sup> متکی است. سه رویکرد عمومی وجود دارد: (a) آنالیز مواد مرجع، (b) آزمایش‌های بازیابی با استفاده از نمونه‌های نشانه‌گذاری شده و (c) مقایسه نتایج به دست آمده با دیگر متدها، مرجع خلاصه ۶ را ببینید. مطالعات بایاس می‌بایست دامنه کاربرد متد را پوشش داده و ممکن است به آنالیز انواع نمونه‌ها و یا سطوح آنالیت مختلف نیاز باشد. لذا برای تعیین آن ممکن است به ترکیبی از رویکردهای مختلف نیاز باشد.

بایاس می‌تواند در جملات مطلق

$$b = \bar{x} - x_{ref} \quad (\text{معادله ۱})$$

یا جملات نسبی به درصد

$$b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100 \quad (\text{معادله ۲})$$

یا به صورت درصد نسبی بازیابی نشانه

$$R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{spike}} \times 100 \quad (\text{معادله ۳})$$

بیان شود.

در اینجا  $\bar{x}'$  مقدار میانگین نمونه نشانه‌دار و  $x_{spike}$  غلظت افزوده شده می‌باشد. با این حال، در بعضی از بخش‌های

۱. مقدار مرجع را گاهی اوقات «مقدار واقعی» یا «مقدار واقعی قراردادی» می‌نامند.

هستند که به شکل روتین در آزمایشگاه مشاهده می‌شوند، آزمایش شود.

از آنجا که معمولاً معلوم نیست چه مقدار از آنالیت خاص در یک بخش آزمایشی حاضر است، لذا تاحدی اطمینان از اینکه متد تا چه اندازه در استخراج آنالیت از ماتریکس یکسان موفق بوده، مشکل است. یک راه برای تعیین کارایی استخراج، نشانه‌گذاری بخش‌های آزمایشی با آنالیت در غلظت‌های مختلف و سپس استخراج بخش‌های آزمایشی نشانه‌گذاری شده و اندازه‌گیری غلظت آنالیت می‌باشد.

مشکل ذاتی این روش آن است که ممکن است آنالیت وارد شده به بخش آزمایشی با همان قدرتی که آنالیت در حالت طبیعی به ماتریکس بخش آزمایشی متصل می‌شود، به آن متصل نشود، که در این حالت، تکنیک به شکل غیرواقعی بینانه‌ای به اثر کارایی استخراج بالا منجر خواهد شد.

ارزیابی بایاس ممکن است با مقایسه نتایج متد نامزد با نتایج به دست آمده از متد جایگزین امکان‌پذیر باشد. دو نوع متد عمومی جایگزین وجود دارد. مورد اول، متد مرجع یا متدی است که در حال حاضر به شکل روتین در آزمایشگاه استفاده می‌شود. هدف متد مرجع، فراهم نمودن «مقدار مرجع پذیرفته شده» برای ویژگی اندازه‌گیری شونده بوده و عموماً به نتایجی منجر خواهد شد که عدم قطعیت آن‌ها کوچکتر از متد نامزد می‌باشد. نوع خاص متد مرجع، «متد اولیه»<sup>۱</sup> است. مورد دوم، زمانی مطرح می‌شود که هدف صحت‌گذاری، اثبات این موضوع باشد که متد نامزد، نتایجی می‌دهد که معادل با نتایج متد فعلی می‌باشند. در اینجا، هدف بیان این نکته است که بایاس معناداری در ارتباط با نتایج متد فعلی (گرچه این متد ممکن است خود دارای بایاس باشد) وجود ندارد.

در هر دو حالت، نتایج به دست آمده از متدهای جایگزین و نامزد، برای نمونه یا نمونه‌های یکسان، مقایسه می‌شوند. نمونه(ها) ممکن است RMهای درون سازمانی و یا خیلی ساده، نمونه‌های آزمایشی نوعی باشند. مزیت این رویکرد آن است که دیگر لازم نیست مواد حتماً CRM باشند، چرا که متد جایگزین مقدار مرجع را فراهم می‌کند. بنابراین متد می‌تواند روی نمونه‌های «واقعی» که نماینده نمونه‌هایی

۱. متد اولیه: متدی است که دارای بالاترین کیفیت اندازه‌شناسی بوده و اجرای آن به طور کامل بر اساس واحدهای SI توصیف شده و درک می‌شوند. ضمناً نتایج آن نیز بدون ارجاع به استاندارد با کمیت یکسان، پذیرفته می‌شوند (CCQM). واژه‌ی معادل آن در VIM (2.8 را در [7] ببینید) «روش اندازه‌گیری مرجع اولیه» می‌باشد.

مرجع خلاصه ۶. درستی

پیشنهادات	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
این روش با لحاظ کردن اثر بایاس متد و بایاس آزمایشگاه، میزان بایاس را ارائه می‌کند.	مقدار میانگین $\bar{x}$ را با مقدار مرجع $x_{ref}$ برای RM مقایسه کنید. بایاس، $b$ ، درصد نسبی بایاس $b(\%)$ یا درصد نسبی بازیابی (بازیابی ظاهری) را محاسبه کنید.  $b = \bar{x} - x_{ref}$  $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$  $R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$	۱۰	RM (a) را با استفاده از متد نامزد اندازه‌گیری کنید.
برای ارزیابی بازیابی خالص نشانه افزوده شده، نمونه‌های نشانه‌گذاری شده می‌بایست با نمونه یکسان فاقد نشانه مقایسه شوند. بازیابی‌های ناشی از نمونه‌های نشانه‌گذاری شده یا بلانک‌های ماتریکس، معمولاً در مقایسه با نمونه‌های روتینی که در آنها آنالیت محکم‌تر به ماتریکس چسبیده، بهتر هستند.	اختلاف بین مقدار نشانه‌گذاری شده میانگین $\bar{x}$ و مقدار میانگین $\bar{x}$ با غلظت افزوده شده $x_{spike}$ را مقایسه کنید. درصد نسبی بازیابی نشانه $R'(\%)$ را در غلظت‌های مختلف محاسبه کنید.  $R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{spike}} \times 100$	۱۰	(b) بلانک‌های ماتریکس یا نمونه‌های آزمایشی فاقد نشانه و نشانه‌گذاری شده با آنالیت مورد نظر را در گستره‌ای از غلظت‌ها اندازه‌گیری کنید.
میزانی از بایاس را نسبت به متد جایگزین ارائه می‌کند. متد جایگزین ممکن است متد مرجع باشد، یا اگر هدف جایگزینی یک متد با متد دیگر باشد، لازم است تا عملکرد معادل متد فعلی آزمایشگاه، نشان داده شود. متد جایگزین ممکن است خود دارای بایاس باشد که در این حالت، آزمایش، میزان مطلق درستی را به ما نخواهد داد.	مقدار میانگین $\bar{x}$ را با مقدار میانگین $\bar{x}_{ref}$ اندازه‌گیری‌های انجام شده با استفاده از متد جایگزین مقایسه کنید. بایاس $b$ یا درصد نسبی بایاس $b(\%)$ یا درصد بازیابی نسبی (بازیابی ظاهری) را محاسبه کنید.  $b = \bar{x} - \bar{x}_{ref}$  $b(\%) = \frac{\bar{x} - \bar{x}_{ref}}{\bar{x}_{ref}} \times 100$  $R(\%) = \frac{\bar{x}}{\bar{x}_{ref}} \times 100$	۱۰	(c) نمونه RM / آزمایشی را با استفاده از متد نامزد و متد جایگزین اندازه‌گیری کنید.
نکته: بایاس ممکن است با ماتریکس و سطح غلظت تغییر کند، و این بدان معنی است که می‌بایست تعداد ماتریکس‌ها و سطوح غلظت آزمایشی در طرح صحنه‌گذاری بیان شوند.			

## ۳.۵.۶ تفسیر اندازه‌گیری‌های بایاس

شکل ۵، دو مؤلفه بایاس به نام‌های «بایاس متد» و «بایاس آزمایشگاه» را نشان می‌دهد.

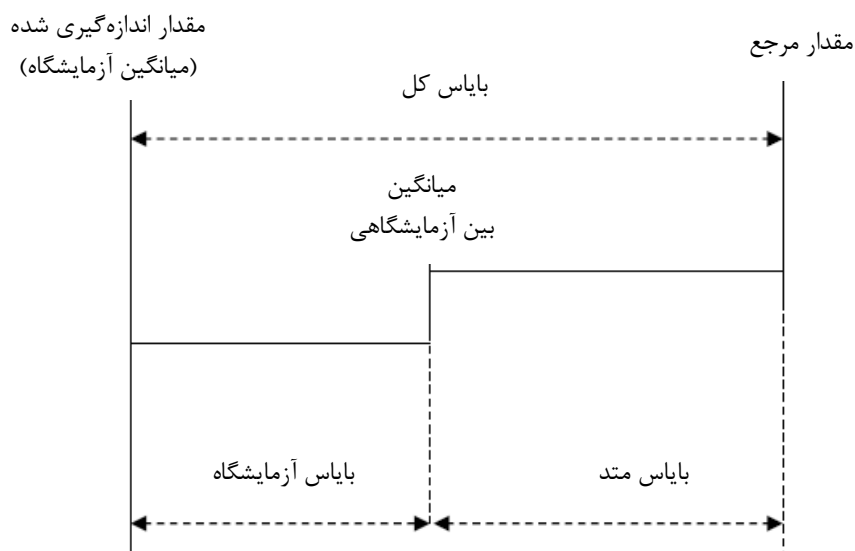
بایاس متد، بدون توجه به این که کدام آزمایشگاه از آن استفاده می‌کند، از خطاهای سیستماتیک ذاتی متد ناشی می‌شود. بایاس آزمایشگاه از خطاهای سیستماتیک اضافی خاص آن آزمایشگاه و تفسیر متد ناشی می‌شود. آزمایشگاه فقط می‌تواند بایاس مرکب (کل) ناشی از این دو منبع را تخمین بزند.

با این حال، در بازبینی بایاس برای هدف خاص، آگاهی از قراردادهای اجرایی مهم است. برای مثال، در بعضی از کاربردهای غذایی، حدود نظارتی بر اساس نتایج به دست آمده از متد استاندارد تجربی خاص («تعریف شده به شکل عملیاتی») تنظیم می‌شوند. طبق تعریف، بایاس متد برای روش‌های اندازه‌گیری «تجربی» صفر است. در این حالت، از بایاس حاصل از متد خاص (شکل ۵ را ببینید) چشم‌پوشی شده و مقایسه‌پذیری اندازه‌شناسی با دیگر آزمایشگاه‌ها با استفاده از متد یکسان، سهم اصلی خواهد بود. در این وضعیت، آزمایشگاه می‌بایست بایاس را به طور ایده‌آل با استفاده از مواد مرجع گواهی‌دار و به کمک متد تجربی یا نظارتی خاص تعیین کند، در هر حالت، راهنمای معمول بازبینی و تفسیر بایاس نیز می‌بایست به کار گرفته شود. جایی که مواد مرجع در دسترس نباشند، یا نیاز به اطلاعات اضافی باشد، آزمایشگاه می‌تواند از مواد جایگزین استفاده

کرده و هنگام تفسیر نتایج نیز می‌بایست تفاوت‌های آشکار بین متد تحت بررسی و متد(ها)ی مورد استفاده برای رسیدن به مقدار مرجع را مدنظر داشته باشد.

جهت برآورده نمودن الزام تجزیه‌ای خاص، آنالیت یکسان می‌تواند با استفاده از ابزارهای اندازه‌گیری متفاوت در مکان‌های متعدد در همان سازمان اندازه‌گیری شود. در این مورد، منابع پیچیده و زیاد بایاس از درون سازمان ناشی می‌شوند. در این وضعیت معمول و پیچیده، سازمان می‌تواند برای تخمین عدم قطعیت نماینده پوشش‌دهنده تمام مکان‌ها/ابزارها، روش‌های اجرایی را برای هر کاربرد ایجاد کند. در اینجا ترجیحاً از موادی استفاده می‌شود که همانند نمونه‌های هدف اندازه‌گیری بوده و دارای خواص یکسان، از جمله ماتریکس نمونه یکسان باشند. آنالیز مؤلفه واریانس می‌تواند برای شناسایی علل اصلی تغییر در عدم قطعیت اندازه‌گیری کل استفاده شود، بدین ترتیب امکان اقدام متعاقب جهت کاستن تفاوت‌ها در مجموعه سازمان برآورده خواهد شد.

با این حال در بیشتر موارد، پذیرش بایاس می‌بایست بر اساس بایاس کل اندازه‌گیری شده در برابر RM، مواد نشانه‌دار و متدهای مرجع مناسب و با در نظر گرفتن دقت متد و عدم قطعیت مقادیر مرجع و صحت مورد نیاز در استفاده نهایی، تصمیم‌گیری شود. در این رابطه آزمون‌های معناداری آماری پیشنهاد می‌شوند [64, 65].



شکل ۵. بایاس کل، شامل بایاس متد و بایاس آزمایشگاهی.

نکته: در اینجا بایاس متد و بایاس آزمایشگاه در یک جهت عمل می‌کنند. اما در واقعیت این حالت همیشه مشاهده نمی‌شود.



## ۶.۶ دقت

## ۱.۶.۶ تکرار

به تخمین دقتی است که تمام منابع تغییراتی را که در آزمایشگاه تک و تحت شرایط روتین (تجزیه‌گرهای مختلف، مقیاس زمانی طولانی، تجهیزات مختلف و غیره)<sup>۳</sup>، واقع می‌شوند را منعکس کند.

## ۱.۲.۶.۶ تخمین‌های دقت: جنبه‌های عمومی

به طور کلی، دقت به غلظت آنالیت بستگی داشته و می‌بایست در غلظت‌های مختلف و گستره‌ی مورد نظر تعیین شود. آن می‌تواند شامل غلظت خاص مورد نظر (نظیر حد نظارتی) به علاوه غلظت‌هایی در حدود بازه اندازه‌گیری باشد. اگر رابطه‌ای بین دقت و غلظت آنالیت وجود داشته باشد، این ارتباط می‌بایست تعیین شود. در مواردی که غلظت اندازه‌گیری شده به خوبی بالای حد تشخیص واقع می‌شود، اغلب، دقت متناسب با غلظت آنالیت خواهد شد. در چنین مواردی، بهتر آن است که دقت به صورت انحراف استاندارد نسبی بیان شود، چرا که آن تقریباً در گستره‌ی مورد نظر ثابت باقی خواهد ماند.

برای متدهای کیفی، دقت نمی‌تواند به شکل انحراف استاندارد یا انحراف استاندارد نسبی بیان شود و به صورت نرخ‌های مثبت (و منفی) درست و غلط [55]، بیان می‌شود (بخش ۶.۲.۶ را ببینید).

ارزیابی دقت، مستلزم اندازه‌گیری‌های تکراری کافی روی مواد مناسب می‌باشد. مواد می‌بایست نمایانگر نمونه‌های آزمایشی بر اساس ماتریکس و غلظت آنالیت، همگنی و پایداری باشند، اما الزاماً ضرورتی ندارد که حتماً جزء CRMها باشند. تکرارها نیز می‌بایست مستقل باشند، بدین معنی که کل پروسه اندازه‌گیری، حتی مراحل تهیه نمونه نیز می‌بایست تکرار شوند. حداقل تعداد تکرارها، بسته به پروتکل‌های مختلف تغییر می‌کند، اما نوعاً بین ۶ و ۱۵ تکرار برای هر ماده استفاده شده در مطالعه پیشنهاد می‌شود.

باید به خاطر داشت که تخمین انحراف استاندارد قابل اطمینان از مجموعه داده‌های با تعداد تکرارهای کم، مشکل می‌باشد. اگر مجاز باشد، می‌توان برای رسیدن به تخمین‌های با درجات آزادی کافی، مقادیر محاسبه شده از چند مجموعه کوچک از اندازه‌گیری‌های تکراری را با یکدیگر ترکیب (ادغام) کرد.

بعضی از طرح‌های آزمایشی آنالیز شده با تحلیل واریانس (ANOVA)، برای رسیدن به تخمین‌های تکرارپذیری و دقت میانی با تعداد مناسب درجات آزادی، روش کارآمدتری

۳. دقت میانی را بعضی اوقات «تجدیدپذیری درون آزمایشگاه»، «تغییر بین اجرا»، «تغییر بین بچ‌ها» یا «تغییر بین آزمون» نیز می‌نامند.

تکرار، برای رسیدن به تخمین‌های قابل اعتماد از مشخصه‌های عملکردی متد، نظیر دقت و بایاس، ضروری می‌باشد. آزمایش‌های آنالیز تکراری می‌بایست طوری طراحی شوند که تمام تغییرات شرایط عملیاتی که انتظار می‌رود هنگام استفاده روتین متد به وجود آیند، در آن‌ها لحاظ شده باشند. هدف می‌بایست تعیین تغییرپذیری نوعی و نه تغییرپذیری حداقل باشد.

## ۲.۶.۶ شرایط دقت

دقت (دقت اندازه‌گیری)، میزان نزدیکی نتایج به یکدیگر است [7, 29] و معمولاً بر حسب پارامترهای آماری که پراکندگی نتایج را توصیف می‌کنند و نوعاً به شکل انحراف استاندارد (یا انحراف استاندارد نسبی) نتایج اندازه‌گیری‌های تکراری روی یک ماده مناسب تحت شرایط معین، بیان می‌شود. جنبه مهم ارزیابی دقت اندازه‌گیری، تصمیم‌گیری درباره «شرایط معین» است. شرایط، نوع تخمین دقت به دست آمده را تعیین می‌کند.

«تکرارپذیری اندازه‌گیری» و «تجدیدپذیری اندازه‌گیری» بیانگر دو میزان اکستریم دقت هستند که می‌توانند به دست آیند. معمولاً متدهای استاندارد (برای مثال، متدهای ISO)، هر جا که کاربرد داشته باشد، شامل داده‌های تکرارپذیری و تجدیدپذیری نیز می‌باشند.

تکرارپذیری، که انتظار می‌رود کوچکترین تغییر در نتایج را ارائه کند، هنگامی که اندازه‌گیری از سوی یک تجزیه‌گر و با استفاده از تجهیزات یکسان در مقیاس زمانی کوتاه انجام شود، معیاری از تغییرپذیری در نتایج است.<sup>۱</sup>

تجدیدپذیری، که انتظار می‌رود بزرگترین تغییر در نتایج را ارائه دهد، معیاری از تغییرپذیری نتایج بین آزمایشگاه‌ها است.<sup>۲</sup>

بین این دو اکستریم، «دقت (اندازه‌گیری) میانی» وجود دارد که هنگامی که اندازه‌گیری‌ها در یک آزمایشگاه تک و تحت شرایط تغییرپذیرتر از شرایط تکرارپذیری انجام شوند، تخمینی از تغییر در نتایج را ارائه می‌کند. می‌بایست شرایط دقیق اجرای آزمایش در هر حالت بیان شود. هدف، رسیدن

۱. تکرارپذیری را بعضی اوقات دقت «درون اجرا»، «درون بچ» یا «درون آزمون» نیز می‌نامند.

۲. در صحنه‌گذاری، تجدیدپذیری، به تغییر بین آزمایشگاه‌ها با استفاده از متد یکسان اشاره می‌کند. تجدیدپذیری ممکن است به تغییر مشاهده شده بین آزمایشگاه‌ها با استفاده از متدهای مختلف و به قصد اندازه‌گیری کمیت یکسان نیز اشاره داشته باشد [7].

در جایی که عملی باشد، داده‌های مربوط به حد تکرارپذیری و حد تجدیدپذیری را نیز ارائه می‌کند.

#### ۴.۶.۶ تعیین هم‌زمان دقت میانی و تکرارپذیری

رویکردهای مربوط به تعیین هم‌زمان دقت میانی و تکرارپذیری در ISO 5725-3 [29] توصیف شده‌اند. به علاوه، طرحی بر پایه راهنماهای هماهنگ شده برای صحنه‌گذاری متدهای آنالیزی در آزمایشگاه تک نیز [12]، امکان تعیین تکرارپذیری و دقت میانی را از یک مطالعه مطرح می‌کند. زیرنمونه‌های مواد آزمایشی انتخاب شده، تحت شرایط تکرارپذیری و طی چند اجرا و با ماکزیمم تغییر در شرایط بین اجراها (روزهای مختلف، تجزیه‌گرهای مختلف، تجهیزات مختلف و غیره) آنالیز می‌شوند. تکرارپذیری می‌تواند به شکل دقت درون گروه و به کمک ANOVA یک‌طرفه [5, 6]، محاسبه شود، در حالی که دقت میانی به صورت ریشه دوم مجموع مربعات دقت درون گروه و بین گروه به دست می‌آید. این طرح می‌تواند روش کارآمدی را برای دسترسی به تعداد درجات آزادی کافی برای تخمین‌های تکرارپذیری و دقت بین گروه فراهم کند. برای مثال، ۸ گروه دوتکراری برای تخمین‌های تکرارپذیری و دقت بین اجرا، به ترتیب به ۸ و ۷ درجه آزادی منجر می‌شود. برای جزئیات، پیوست C را ببینید.

می‌باشند (برای توضیح بیشتر این رویکرد، بخش ۴.۶.۶ و پیوست C را ببینید). برای کسب اطلاعات بیشتر درباره آزمایش‌های ارزیابی دقت، مرجع خلاصه ۷ را ببینید.

#### ۳.۶.۶ حدود دقت

محاسبه «حد دقت» از انحراف استاندارد  $s$  مفید می‌باشد [29, 48]. حد دقت به تجزیه‌گر کمک می‌کند تا در مورد این که آیا بین نتایج آنالیزهای دوبار تکرار از یک نمونه به دست آمده تحت شرایط معین، اختلاف معناداری در سطح اطمینان معین وجود دارد یا خیر، تصمیم‌گیری کند. حد تکرارپذیری ( $r$ ) به شکل زیر محاسبه می‌شود:

$$r = \sqrt{2} \times t \times s_r \quad (\text{معادله ۵})$$

در اینجا فاکتور  $\sqrt{2}$  بیانگر اختلاف بین دو اندازه‌گیری،  $t$ ، مقدار  $t$  استیودنت دودنباله برای تعداد معینی از درجات آزادی (که به تخمین  $s_r$  مربوط می‌باشد) در سطح اطمینان مورد نیاز می‌باشند. برای تعداد درجات آزادی نسبتاً زیاد،  $t$  در سطح اطمینان 95%، تقریباً ۲ است، بدین ترتیب حد تکرارپذیری اغلب به صورت تقریبی زیر بیان می‌شود:

$$r = 2.8 \times s_r \quad (\text{معادله ۶})$$

حد دقت میانی و حد تجدیدپذیری ( $R$ ) نیز به شکل مشابه با جایگزینی  $s_r$  با به ترتیب  $s_I$  و  $s_R$  محاسبه می‌شود.

معمولاً، سند متدهای استاندارد (برای مثال، اسناد ISO)

## مرجع خلاصه ۷. تکرارپذیری، دقت میانی و تجدیدپذیری

پیشنهادات	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
			RMها، نمونه‌های آزمایشی اضافی یا بلانک‌های نمونه نشانه‌دار را در غلظت‌های مختلف گستره‌ی کاری اندازه‌گیری کنید. تکرارپذیری و دقت میانی می‌توانند از مطالعات جدا از هم (a را ببینید) و (b) (پایین) یا به طور هم‌زمان در یک مطالعه تک (c را ببینید) (پایین)، تعیین شوند.
انحراف استاندارد تکرارپذیری $S_F$ را برای هر ماده تخمین می‌زند. <sup>a</sup>	انحراف استاندارد (s) نتایج را برای هر ماده تعیین کنید.	۶-۱۵ تکرار برای هر ماده	(a) تجزیه‌گر و تجهیزات یکسان، آزمایشگاه یکسان، دوره‌ی زمانی کوتاه
انحراف استاندارد دقت میانی $S_I$ را برای هر ماده تخمین می‌زند.	انحراف استاندارد (s) نتایج را برای هر ماده تعیین کنید.	۶-۱۵ تکرار برای هر ماده	(b) تجزیه‌گرها و تجهیزات متفاوت، آزمایشگاه یکسان، دوره‌ی زمانی طولانی
انحراف استاندارد تکرارپذیری $S_F$ را برای هر ماده تخمین می‌زند. انحراف استاندارد دقت میانی $S_I$ را برای هر ماده تخمین می‌زند.	انحراف استاندارد تکرارپذیری را از نتایج ANOVA برای هر ماده محاسبه کنید. انحراف استاندارد بین گروه را از نتایج ANOVA محاسبه کرده و با انحراف استاندارد تکرارپذیری برای هر ماده ترکیب کنید.	۶-۱۵ گروه از اندازه‌گیری‌های دوبار تکرار <sup>b</sup> به دست آمده تحت شرایط تکرارپذیری در روزها/ تجهیزات متفاوت برای هر ماده	(c) تجزیه‌گرها و تجهیزات متفاوت، آزمایشگاه یکسان، دوره‌ی زمانی طولانی
انحراف استاندارد تکرارپذیری $S_F$ را برای هر ماده تخمین می‌زند. انحراف استاندارد تجدیدپذیری $S_R$ را برای هر ماده تخمین می‌زند. در اینجا به مقایسه بین آزمایشگاهی خاص («آزمون مشترک») نیاز می‌باشد.	انحراف استاندارد تکرارپذیری را از نتایج ANOVA برای هر ماده محاسبه کنید. انحراف استاندارد بین آزمایشگاهی را از نتایج ANOVA محاسبه کرده و با انحراف استاندارد تکرارپذیری برای هر ماده ترکیب کنید.	۶-۱۵ گروه از اندازه‌گیری‌های دوبار تکرار <sup>b</sup> به دست آمده تحت شرایط تکرارپذیری در آزمایشگاه‌های مختلف برای هر ماده	(d) تجزیه‌گرها و تجهیزات متفاوت، آزمایشگاه‌های متفاوت، دوره‌ی زمانی طولانی

a. انحراف استاندارد تکرارپذیری همچنین می‌تواند با ادغام چند مجموعه داده کوچک، برای مثال  $n=2$ ، از روزهای متفاوت تخمین زده شود.

b. اندازه‌گیری‌های دوبار تکرار درون هر گروه، تعداد متوازن درجات آزادی را برای تخمین‌های انحراف استاندارد‌های درون و بین گروه فراهم خواهد کرد. افزایش تعداد تکرارها، به ازای هر گروه، تعداد درجات آزادی مرتبط با تخمین تکرارپذیری را افزایش خواهد داد.

## ۷.۶ عدم قطعیت اندازه‌گیری

بحث جامع عدم قطعیت (اندازه‌گیری) خارج از چارچوب مورد نظر این راهنما است و اطلاعات مبسوط آن در منابع دیگر وجود دارد [21, 22].

عدم قطعیت، بازه مرتبط با نتیجه اندازه‌گیری است که گستره‌ی مقادیری را که می‌توانند به طور منطقی به کمیت اندازه‌گیری‌شونده نسبت داده شوند را بیان می‌کند. تخمین عدم قطعیت می‌بایست تمام اثرات شناخته شده‌ی تاثیرگذار روی نتیجه را لحاظ کرده باشد. عدم قطعیت‌های مرتبط با هر اثر، بر اساس روش‌های اجرایی قانون‌مند و مناسب با یکدیگر ترکیب می‌شوند.

رویکردهای مختلفی برای تخمین عدم‌قطعیت نتایج اندازه‌گیری‌های شیمیایی توصیف شده‌اند [22, 66, 67, 68]. این رویکردها موارد زیر را در نظر می‌گیرند:

- دقت طولانی‌مدت کل متد (یعنی، دقت میانی یا تجدیدپذیری).
- بایاس و عدم قطعیتش، شامل عدم قطعیت آماری اندازه‌گیری‌های بایاس و عدم قطعیت مقدار مرجع [69, 70, 71, 72, 73].
- کالیبراسیون تجهیزات. عدم قطعیت‌های مرتبط با کالیبراسیون تجهیزات نظیر ترازوها، ترمومترها، پی‌پت‌ها و بالن‌ها، که اغلب در مقایسه با دقت کل و عدم قطعیت بایاس، کوچک و قابل چشم‌پوشی می‌باشند. اگر این موضوع تصدیق شود، دیگر لازم نیست تا از عدم قطعیت‌های کالیبراسیون در تخمین عدم قطعیت استفاده شود.
- هر گونه اثرات معنادار تاثیرگذار بر نتیجه، به غیر از موارد ذکر شده در بالا. برای مثال، ممکن است در مطالعات صحنه‌گذاری، گستره‌های دما و زمان مجاز متد به طور کامل تمرین نشده و نیاز به اضافه کردن اثر آن‌ها باشد. این اثرات می‌توانند به طور کمی از طریق مطالعات استحکام یا استواری (بخش ۸.۶ را ببینید) یا مطالعات مرتبط که اندازه یک اثر معین بر نتیجه را مشخص می‌کنند، محاسبه شوند.

جایی که سهم اثرات منفرد مهم باشد، برای مثال در آزمایشگاه‌های کالیبراسیون، لحاظ کردن سهم‌های منفرد ناشی از تمام اثرات منفرد به طور جداگانه ضروری خواهد بود.

توجه داشته باشید که پیرو ملاحظه اضافی اثرات خارج از محدوده مطالعه مشترک، به شرطی که بایاس آزمایشگاهی اندازه‌گیری شده روی مواد مرتبط، نسبت به انحراف

استاندارد تجدیدپذیری کوچک باشد، آنگاه انحراف استاندارد تجدیدپذیری، تخمین کاری عدم قطعیت استاندارد مرکب را تشکیل خواهد داد، در این حالت تکرارپذیری درون سازمانی با تکرارپذیری متد استاندارد قابل مقایسه بوده و دقت میانی آزمایشگاه بزرگتر از انحراف استاندارد تجدیدپذیری منتشر شده خواهد بود [67].

## ۸.۶ استحکام

## ۱.۸.۶ تعریف

«استحکام» (استواری) یک روش آنالیزی در واقع «میزان توانایی آن روش در بی‌تأثیر ماندن، ضمن اعمال تغییرات کوچک اما آگاهانه در پارامترهای متد» است. استحکام، شاخص اعتمادپذیری متد را هنگام استفاده معمول فراهم می‌کند [13].

## ۲.۸.۶ آزمون استحکام

در هر متد، مراحل معینی وجود دارد که چنانچه با دقت کافی انجام نشوند، اثر معناداری بر عملکرد متد داشته و حتی ممکن است به یک متد ناکارآمد منجر شوند. این مراحل معمولاً می‌بایست به عنوان بخشی از توسعه متد شناسایی شده و در صورت امکان، تأثیر آن‌ها بر عملکرد متد با استفاده از «آزمون استحکام» («آزمون استواری») ارزیابی شود. AOAC این واژه را تعریف کرده و چگونگی اجرای چنین آزمونی را با استفاده از طرح آزمایشی پلاکت - بورمن و در قالب یک تکنیک رسمی توصیف می‌کند [74].

«آزمون استحکام» شامل ایجاد تغییرات آگاهانه در متد و بررسی اثر حاصل از آن تغییر بر عملکرد می‌باشد.<sup>۱</sup> آنگاه امکان‌شناسایی متغیرهایی که مهمترین اثر را در متد ایجاد می‌کنند، فراهم شده و هنگام استفاده از متد، این اطمینان حاصل خواهد شد که تمام متغیرها به دقت تحت کنترل می‌باشند.

هر جا که نیاز به اصلاح بیشتر متد باشد، بهبودها می‌توانند اغلب با تمرکز بر بخش‌های بحرانی متد انجام شوند.

استحکام روش اجرایی برای متدهای توسعه‌یافته درون سازمانی، متدهای برگرفته از مقالات علمی و متدهای منتشر شده از سوی نهادهای استانداردسازی که خارج از دامنه کاربرد متد استاندارد استفاده می‌شوند، می‌بایست ارزیابی شود. هنگامی که متدهای منتشر شده از سوی نهادهای استانداردسازی در دامنه کاربردی متد استفاده

۱. معمولاً اثر بر روی اندازه‌ده مطالعه می‌شود. با این حال، روش جایگزین دیگر بررسی اثر بر روی پارامتر آزمایشگاهی است. برای مثال تفکیک پیک در یک کروماتوگرام.

شوند، معمولاً استحکام به عنوان بخشی از پروسه استانداردسازی مطالعه خواهد شد. بنابراین، در اغلب موارد مطالعه استحکام در سطح آزمایشگاه تک الزامی نمی‌باشد. اطلاعات مربوط به استحکام در روش اجرایی آزمایشگاهی،

می‌بایست به شکل حدود تolerانس برای پارامترهای آزمایشگاهی بحرانی بیان شوند (مثال ۵ و مرجع خلاصه ۸ را ببینید).

مثال ۵. برگرفته از ISO 11732 [58]. دستورهای ارائه شده در اینجا به بحرانی بودن بعضی از پارامترهای آزمایشگاهی اشاره می‌کنند.

- $\text{NH}_4\text{Cl}$  خشک شده تا جرم ثابت در دمای  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- مقادیر معین می‌توانند کاهش یابند (برای مثال، با ضریب یک‌دهم).
- محلول ذخیره شده در بطری پلاستیکی (پلی اتیلن) در دمای اتاق تا حدود یک ماه پایدار است.
- جذب محلول می‌بایست 0.3-0.5 باشد.
- محلول را گاززدایی و خالص‌سازی کرده ... آن را در ظرف واکنشگر ریخته و اجازه دهید حداقل تا مدت ۲ ساعت باقی بماند.
- این محلول می‌تواند در یخچال و برای مدت حداکثر یک هفته نگهداری شود.
- ظروف شیشه‌ای، پلی آلکن‌ها یا پلی تترافلورواتیلن (PTFE) برای جمع‌آوری نمونه مناسب هستند.
- در موارد استثنایی، نمونه ممکن است تا دو هفته نگهداری شود، البته به شرطی که نمونه پس از اسیدی شدن از طریق غشا فیلتر شده باشد.

### مرجع خلاصه ۸. استحکام

پیشنهادات	چه چیزی را می‌بایست از روی داده‌ها محاسبه و یا تعیین کرد؟	چه تعداد؟	چه باید کرد؟
کنترل کیفیت را طراحی کرده و یا با بیان حدود تolerانس مناسب در روش اجرایی استاندارد، متد را جهت کنترل متغیرهای بحرانی اصلاح کنید.	اثر هر تغییر شرایط را بر نتایج اندازه‌گیری تعیین کنید. متغیرها را به ترتیب از عمده‌ترین اثر بر عملکرد متد تا کوچکترین اثر، مرتب کنید. جهت تعیین این که آیا اثرات مشاهده شده از لحاظ آماری معنادار هستند یا خیر، آزمون‌های معنی‌داری را انجام دهید.	اغلب به طور مؤثر با استفاده از طرح‌های آزمایشی ارزیابی می‌شوند. برای مثال، ۷ پارامتر می‌تواند در ۸ آزمایش با استفاده از طرح آزمایشی پلاکت - بورمن مطالعه شود [74].	متغیرهایی که اثر معنادار بر عملکرد متد دارند را شناسایی کنید. آزمایش‌هایی (آنالیز RMها یا نمونه‌های آزمایشی) را جهت پایش اثر تغییر سیستماتیک متغیرها بر نتایج اندازه‌گیری ترتیب دهید.



## ۷. استفاده از متدهای صحه‌گذاری شده

تجزیه‌گر است که این نکته را بازبینی کند آیا اطلاعات فراهم شده در مورد عملکرد متد کافی می‌باشند یا خیر.

به طور مشابه، اغلب فرض بر آن است که استفاده از متدهای استاندارد خیلی ساده بوده و داده‌های عملکردی منتشر شده نیز می‌توانند از سوی هر کاربر به دست آیند. این فرض، فرض معقولی نیست. حتی آن اشخاصی که در زمینه خاصی از شیمی متد تخصص داشته و یا با آن آشنا باشند، قبل از این که به یک فرد کاملاً ماهر و باتجربه تبدیل شوند به تکرار و تمرین نیاز خواهند داشت.

جهت کسب اطمینان از این که آیا هنگام استفاده از متدهای صحه‌گذاری شده (یا متدهای دیگر)، عملکرد قابل قبولی به دست می‌آید یا خیر، قواعد زیر پیشنهاد می‌شوند:

۱. اولاً، تجزیه‌گر می‌بایست قبل از استفاده از متد جدید برای اولین بار به طور کامل با آن آشنا باشد. به طور ایده‌آل متد از سوی شخصی که قبلاً در استفاده از آن متبحر شده است به تجزیه‌گر نشان داده خواهد شد. سپس تجزیه‌گر می‌بایست تحت نظارت دقیق از متد استفاده کند. سطح نظارت تا وقتی که این تصور به وجود آید که تجزیه‌گر به اندازه‌ی کافی به کار وارد شده و می‌تواند «به طور مستقل کار خود را انجام دهد»، رفته‌رفته کاهش پیدا خواهد کرد. برای مثال، شایستگی و صلاحیت تجزیه‌گر را می‌توان بر اساس توانایی او در رسیدن به سطوح عملکردی بیان شده در متد نظیر تکرارپذیری، حد تشخیص و غیره، تعیین کرد. این روش نوعی آموزش فردی جهت استفاده از یک متد جدید است و روش‌های اجرایی آموزش آزمایشگاه نیز اغلب بدین شکل طراحی می‌شوند. بدین ترتیب، برای سنجش میزان شایستگی و مهارت افراد، در فاصله‌های زمانی معین، معیارهای عینی درون آزمایشگاهی وجود خواهد داشت. در هر حالت، تجزیه‌گرها می‌بایست متد را از اول تا آخر خوانده و با تئوری اندازه‌گیری آشنا باشند. آن‌ها می‌بایست مراحل مختلف را در ذهن خود مرور کرده و نقاطی را که ممکن است در آن‌ها وقفه ایجاد شود، همین طور بخش‌هایی از پروسه را که متعهد به انجام کار پیوسته می‌باشند، را نیز می‌بایست شناسایی کنند. پرسش‌هایی نظیر، «هر جا که لازم است واکنشگرها تهیه شوند، بعد از تهیه تا چه مدت پایدار هستند؟ آیا لازم است که آن‌ها از قبل آماده شوند؟» نیز می‌بایست در نظر

دو مسأله اساسی هنگام استفاده از متد دیگر، یعنی متدی که در آزمایشگاه دیگر توسعه یافته و یا متد منتشر شده یا حتی متد استاندارد یا نظارتی وجود دارد که می‌بایست لحاظ شود.

اولاً، آیا داده‌های صحه‌گذاری موجود برای هدف مورد نظر کافی می‌باشد و آیا صحه‌گذاری بیشتر نیاز است؟ می‌بایست به این نکته توجه شود که علاوه بر اطلاعات به دست آمده درباره عملکرد متد، اعتمادپذیری منابع داده‌های صحه‌گذاری نیز خود یک مسأله جداگانه می‌باشد. معمولاً داده‌های به دست آمده از مطالعات مشترک یا سازمان‌های استاندارد رسمی، به عنوان داده‌های اعتمادپذیر در نظر گرفته می‌شوند و داده‌های با اعتمادپذیری کمتر، داده‌هایی هستند که در نوشته‌های علمی منتشر شده یا از سوی سازندگان دستگاه‌ها و یا واکنشگرها ارائه می‌شوند.

ثانیا، چنانچه داده‌های صحه‌گذاری موجود کافی باشند، آیا آزمایشگاه این توانایی را دارد که عملکرد ادعا شده در متد را تصدیق کند؟ (بخش ۲.۲ را ببینید). آیا تجهیزات و امکانات موجود کافی هستند؟ چنانچه متدی با انجام آزمایش‌های گسترده تحت تمام شرایط عملکردی اکستریم صحه‌گذاری شده باشد، آنگاه یک تجزیه‌گر جدید و با صلاحیت، آزمایش را درون داده‌های عملکردی موجود به شکل رضایت‌بخشی انجام خواهد داد. هر چند که این موضوع همواره می‌بایست بازبینی شود. معمولاً آزمودن توانایی تجزیه‌گر جهت رسیدن به تکرارپذیری بیان شده و بازبینی بایاس، به شرطی که متد استاندارد در دامنه کاربردی‌اش استفاده شود، کافی می‌باشد. این موضوع در ادامه با جزئیات بیشتر بحث خواهد شد.

متدهای استاندارد عموماً به شکل مطالعه مشترک و یا از سوی نهادهای استاندارد که آن‌ها را تولید می‌کنند، ایجاد شده و جهت کسب اطمینان از این که آیا مطالعات صحه‌گذاری به درستی طراحی، اجرا و ارزیابی می‌شوند، از متخصصین آمار نیز کمک گرفته می‌شود. استاندارد [ISO 5725، 29] مدلی را توصیف می‌کند که مقایسه‌های بین آزمایشگاهی متدها برای ایجاد اطلاعات قابل اعتماد درباره عملکرد متد، می‌بایست بر مبنای آن پایه‌گذاری شوند. کاربرد این مدل رو به افزایش است، هر چند که تمام متدهای استاندارد بدین شکل در معرض مطالعه قرار نگرفته‌اند. فرض این که تمام متدهای استاندارد به درستی صحه‌گذاری شده‌اند می‌تواند خطرناک باشد و این مسئولیت

۳. سرانجام، کسب اطمینان از این که تمام شرایط لازم برای اجرای متد، قبل از شروع به کار فراهم می‌باشد. این مرحله شامل گردآوری تجهیزات، واکنشگرها و استانداردهای مناسب (با طرز تهیه مربوطه) در کنار هم، و تخصیص فضای مناسب در زیر هودها و غیره می‌باشد.

اگر نیاز باشد تا متد صحه‌گذاری شده دیگری را تغییر داده یا آن را بپذیریم، در این صورت صحه‌گذاری مجدد ضروری خواهد بود. بسته به ماهیت متدها، تغییرات انجام شده ممکن است اعتبار داده‌های صحه‌گذاری اصلی را زیر سوال ببرند.

گرفته شوند. مشکلی که اغلب مشاهده می‌شود، صرف چند ساعت زمان برای تهیه تعداد زیادی نمونه و سپس تهیه واکنشگرهای مورد نیاز برای مرحله بعدی کار است که خود شامل یک سنتز پیچیده است، این در حالی است که طی این مدت خود نمونه‌ها ممکن است تخریب شوند.

۲. ثانیاً در مورد تعداد زیاد نمونه‌هایی که می‌توانند به راحتی در هر اجرا تحت آنالیز قرار گیرند نیز می‌بایست ارزیابی به عمل آید. آنالیز تعداد کم نمونه‌ها به شکل مناسب از آنالیز تعداد زیاد نمونه‌هایی که ممکن است مجبور شویم اکثر آن‌ها را دوبار تکرار کنیم، بهتر می‌باشد.



## ۸. استفاده از داده‌های صحه‌گذاری در طراحی کنترل کیفیت

### ۱.۸ مقدمه

معنای اصطلاح «تضمین کیفیت» (QA) و «کنترل کیفیت» (QC) اغلب بسته به زمینه مورد نظر تغییر می‌کند. طبق نظر ایزو، تضمین کیفیت به فعالیت‌های انجام شده از سوی آزمایشگاه جهت کسب اطمینان از برآورده شدن الزامات کیفیتی می‌پردازد، در حالی که کنترل کیفیت، معیارهای منفردی را که برای برآورده نمودن عملی الزامات استفاده می‌شوند را توصیف می‌کند [9].

عملیات صحه‌گذاری ضمن کنترل متد، قابلیت‌ها و محدودیت‌های متد را نیز هنگام استفاده روتین نشان می‌دهد. برای تایید این که آیا متد تحت کنترل باقی خواهد ماند یا خیر، یعنی این که آیا متد به شکل مورد انتظار عمل می‌کند یا خیر، لازم است کنترل‌های خاصی بر متد اعمال شوند. در مرحله صحه‌گذاری، متد عمدتاً برای نمونه‌های با مقدار معلوم اجرا می‌شود و بعد از آن که متد به شکل روتین درآمد، از آن برای نمونه‌هایی با مقدار مجهول استفاده خواهد شد. QC داخلی مناسب می‌تواند برای اندازه‌گیری پیوسته نمونه‌های آزمایشی پایدار به کار رود. لذا تجزیه‌گر قادر خواهد بود تا در مورد این که آیا تنوع پاسخ‌های به دست آمده به طور حقیقی منعکس‌کننده تنوع نمونه‌های آنالیز شده می‌باشند یا خیر و یا این که آیا تغییرات ناخواسته و غیرمنتظره در عملکرد متد مشاهده می‌شوند یا خیر، تصمیم‌گیری کند. در عمل، نمونه‌های معلوم نیز می‌بایست با هر بچ از نمونه‌ها به عنوان بخشی از فرایند کنترل کیفیت اندازه‌گیری شوند. بازبینی‌های انجام شده به ماهیت موضوع، وضعیت بحرانی و تعداد دفعات آنالیز، اندازه‌ی بچ، درجه اتوماسیون و سختی آزمایش و همچنین مطالب آموخته شده هنگام فرایندهای توسعه و صحه‌گذاری بستگی خواهد داشت. کنترل کیفیت می‌تواند به شکل درون آزمایشگاهی (داخلی) و یا کنترل کیفیت بین یک آزمایشگاه معین و دیگر آزمایشگاه‌ها (خارجی) باشد.

### ۲.۸ کنترل کیفیت داخلی

QC داخلی در واقع روش‌های اجرایی انجام شده از سوی پرسنل آزمایشگاه برای پایش پیوسته عملیات‌ها و نتایج اندازه‌گیری است که طی آن درباره قابلیت اطمینان نتایج ارائه شده تصمیم‌گیری می‌شود [75, 18]. آن شامل آنالیز تکراری نمونه‌های آزمایشی پایدار، بلانک‌ها، محلول‌های استاندارد یا مواد مشابه مواد استفاده شده در کالیبراسیون،

نمونه‌های نشانه‌گذاری شده، نمونه‌های کور و نمونه‌های QC می‌باشد [76]. استفاده از چارت‌های کنترلی برای پایش نتایج QC پیشنهاد می‌شود [76, 77]. QC برای ایجاد اطمینان در باره اعتبار نتایج، می‌بایست به اندازه کافی روشن و شفاف باشد. انواع مختلف روش‌های کنترل کیفیت می‌تواند برای پایش انواع متفاوت تغییرات در فرایند مورد استفاده قرار گیرد. نمونه‌های QC آنالیز شده در فاصله‌های زمانی مختلف بچ آنالیزی، انحراف‌های درون سیستم را نشان خواهد داد، انواع گوناگون بلانک‌های استفاده شده، به سهم‌های سیگنال دستگامی و سهم‌های ناشی از آنالیت اشاره خواهند داشت و آنالیزهای دوبار تکرار، بازبینی تکرارپذیری را نشان خواهند داد.

نمونه‌های QC، نمونه‌های نوعی هستند که برای ارائه نتیجه یکسان، طی یک دوره زمانی معین (ضمن قرار گرفتن در معرض تغییر تصادفی عملکرد متد) به اندازه‌ی کافی پایدار و یکنواخت هستند و مقدار آن‌ها نیز جهت تکرار آنالیز طی دوره زمانی معین کافی و در دسترس می‌باشد. در طی این دوره، دقت میانی متد می‌تواند با پایش مقادیر به دست آمده از آنالیز نمونه QC و رسم آن‌ها روی یک چارت کنترلی بازبینی شود. حدود نیز برای مقادیر چارت (معمولاً، «حدود هشدار» در مقدار  $\pm 2s$  حول مقدار میانگین و «حدود عمل» در مقدار  $\pm 3s$  حول مقدار میانگین) تنظیم می‌شوند. اگر مقادیر QC رسم شده با قواعد مربوط به حدود تنظیمی مطابقت داشته باشند، به نظر می‌رسد که فرایند QC رضایت‌بخش باشد. تا وقتی که مقدار نمونه QC قابل پذیرش باشد، این احتمال وجود دارد که نتایج به دست آمده از نمونه‌های بچ یکسان، همانند نمونه QC به عنوان نتایج قابل اعتماد تلقی شوند. قابلیت پذیرش مقدار به دست آمده با نمونه QC می‌بایست هر چه زودتر به شکل عملی در فرایند تجزیه‌ای نیز تصدیق شود، بدین ترتیب در صورت بروز مشکل، کار انجام شده روی آنالیز غیرقابل اعتماد نمونه‌ها به حداقل ممکن رسیده و وقت زیادی روی آن‌ها تلف نخواهد شد.

تخمین‌های اولیه معیارهای دقت مختلف، هنگام صحه‌گذاری متد به دست می‌آیند. برای تنظیم حدود واقع‌بینانه در چارت کنترلی، اندازه‌گیری‌ها می‌بایست منعکس‌کننده شرایطی باشند که در آن متد به شکل روتین مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین، اندازه‌گیری‌ها هنگام

انجام می‌شوند، می‌بایست هر بار یک سیستم کامل صحنه‌گذاری انجام شود که ممکن است نوعاً شامل استفاده از یک RM با غلظت معلوم از آنالیت یا گواهی‌دار و در ادامه آنالیزهای تکراری نمونه و یک نمونه نشانه‌گذاری شده (نمونه‌ای که مقدار معلومی از آنالیت آگاهانه بدان اضافه شده است) باشد. آنالیزهایی که به دفعات زیاد اجرا می‌شوند می‌بایست در معرض روش‌های اجرایی QC سیستماتیک قرار گیرند و از چارتهای کنترلی و نمونه‌های بازبینی برای آنها استفاده شود.

### ۳.۸ کنترل کیفیت خارجی

مشارکت منظم در آزمون‌های مهارت (PT) که به نام «ارزیابی کیفیت خارجی» (EQA) نیز معروف می‌باشد، یک روش شناخته شده رسمی برای پایش عملکرد آزمایشگاه در برابر الزامات داخلی، و دیگر آزمایشگاه‌های همکار است. PT کمک می‌کند تا تغییر بین آزمایشگاه‌ها (تجدیدپذیری) و خطاهای سیستماتیک (بایاس) برجسته شود. طرح‌های PT و دیگر انواع مقایسه‌های بین آزمایشگاهی در سطح ملی و بین‌المللی به عنوان بخشی از ابزار مهم پایش میزان یکسان بودن نتایج آنالیزی پذیرفته شده‌اند. نهادهای تأیید صلاحیت، سودمندی این طرح‌ها را تشخیص داده و قویاً آزمایشگاه‌ها را تشویق می‌کنند که به عنوان بخشی از سیستم مدیریت کیفیت خود [79]، در برنامه‌های PT/EQA شرکت کنند. پایش نتایج PT به عنوان بخشی از روش‌های اجرایی QC و اقدامات لازم در صورت نیاز، مهم می‌باشد.

نهادهای تأیید صلاحیت ممکن است مشارکت در طرح PT ویژه‌ای را به عنوان الزام تأیید صلاحیت مشخص کنند. آشکار است که ارزش PT، به اندازه شایستگی خود طرح‌ها است. الزامات مربوط به صلاحیت تأمین‌کننده‌های PT در استاندارد ISO/IEC 17043 توصیف شده‌اند [80]. اطلاعات عملی در رابطه با چگونگی انتخاب، استفاده و تفسیر طرح‌های PT در راهنمای یوراکم [81] ارائه شده است. اطلاعات بیشتر در باره طرح‌های مختلف را می‌توان در پایگاه داده‌های EPTIS (www.eptis.bam.de) به دست آورد. با این حال، ممکن است هنوز درباره زمینه‌های نو ظهور آنالیزی و یا به خصوص کاربردهای نادر آنالیزی، طرح کاملی وجود نداشته باشد. در حال حاضر، در یک سند راهنمای جدید [82] به این موارد و دیگر محدودیت‌ها اشاره شده و لازم است تا آزمایشگاه‌های اکر دیت هنگام مواجه با محدودیت‌ها، خطمشی مناسبی را برای مشارکت در PT داشته باشند.

صحنه‌گذاری می‌بایست مشابه تمام تغییرات محتمل در شرایط عملیاتی نظیر تجزیه‌گرهای متفاوت، تغییرات دمای آزمایشگاه و غیره، باشند. اگر این موضوع رعایت نشود، آنگاه انحراف استاندارد به طور غیرواقعی بینانه‌ای کوچک شده و به حدود تنظیم شده‌ای در چارت منجر خواهد شد که احتمالاً با استفاده نرمال مطابقت نخواهند داشت. به همین خاطر، معمولاً ارزیابی مجدد حدود بیان شده پس از یک سال یا پس از جمع‌آوری تعداد کافی از نتایج، پیشنهاد می‌شود [76].

استفاده از انواع مختلف بلانک به تجزیه‌گر کمک می‌کند تا مطمئن شود که محاسبات انجام شده برای آنالیت می‌توانند به طور مناسب تصحیح شوند. بدین ترتیب هر سهم مشارکت‌کننده در پاسخ که قابل استناد به آنالیت نمی‌باشد حذف خواهد شد. آنالیز تکراری نمونه‌های آزمایشی روتین، ابزاری را برای بازبینی تغییرات در دقت یک فرایند آنالیزی که می‌تواند اثر معکوس بر نتیجه داشته باشد را فراهم می‌کنند [78]. تکرارها می‌توانند جهت بازبینی تکرارپذیری در یک بیچ، نزدیک به یکدیگر باشند. آنالیز نمونه‌های کور، شکلی از آنالیز تکراری است که ابزاری را برای بازبینی دقت فراهم می‌کند. این آنالیز شامل بخش‌های آزمایشی تکراری در بیچ آنالیزی است که توسط سرپرست آزمایشگاه در آن قرار داده شده و از آنجایی که معمولاً تجزیه‌گر از هویت بخش‌های آزمایشی یا تکراری بودن آنها آگاه نیست، به آن نمونه کور یا بی‌هدف می‌گویند. بنابراین، تجزیه‌گر هیچ تصویری مبنی بر این که چه نتایج خاصی می‌بایست به نمونه مربوط شوند را در ذهن خود ندارد. استانداردها یا مواد مشابه آنها که برای کالیبراسیون استفاده می‌شوند، نیز در فاصله‌های زمانی معین در یک بیچ آنالیزی قرار داده شده و بدین ترتیب امکان بازبینی این نکته که آیا پاسخ پروسه‌ی آنالیزی به آنالیت پایدار است یا خیر، میسر خواهد شد. این مسئولیت مدیریت آزمایشگاه است که چنانچه متدی برای اولین بار به درستی کار نکند، بر اساس ارزیابی خطر و میزان اعتمادپذیری متد، وضعیت بحرانی و عملی بودن تکرار آنالیز، سطح مناسب کنترل کیفیت را تنظیم و توجیه کند.

به طور گسترده پذیرفته شده که برای آنالیز روتین، سطح کنترل کیفیت داخلی 5% معقول است، بدین معنی که یک نمونه از هر ۲۰ نمونه آنالیز شده می‌بایست نمونه QC باشد. با این حال، برای متدهای روتین و محکم و با ظرفیت پذیرش نمونه بالا، ممکن است سطح پایین‌تر QC نیز معقول باشد. برای روش‌های اجرایی پیچیده‌تر، سطح 20% نیز معمول است و در مواقعی حتی ممکن است به سطح 50% نیاز باشد. برای آنالیزهایی که به تعداد دفعات کم

## ۹. مستندسازی متدهای صحه‌گذاری شده

همکار دارای صلاحیت، متد مستندسازی شده را از اول تا آخر آن، دقیقاً به شکل توصیف شده اجرا کند. اگر نتیجه با هدف متد مورد نظر مطابقت داشت، در این صورت تجزیه‌گرهای متفاوت نیز هنگام استفاده از متد مستندسازی شده می‌بایست به نتایج یک‌دست برسند. اگر این حالت مشاهده نشد، برای توصیف جزئیات بیشتر روش‌های اجرایی و کاهش ابهام، لازم است تا پیش‌نویس مجدد تهیه شود.

### ۲.۲.۹ توصیه‌های استانداردها

استانداردهای زیادی در مورد این که هنگام مستندسازی متد چه اطلاعاتی می‌بایست لحاظ شوند راهنمایی‌های لازم را ارائه می‌کنند. از نقطه نظر شیمی‌دان‌ها، در بین این راهنماها، احتمالاً مفیدترین آن‌ها مجموعه‌ی ISO 78 است که مستندسازی انواع مختلف متدهای تجزیه شیمیایی (هر سال نهادهای استانداردسازی، اسناد تعداد زیادی از متدها را تولید و صحه‌گذاری می‌کنند، و در این بین تا آنجا که امکان دارد برای نفع کمیته‌های فنی به یک رویکرد منسجم برای تولید این استانداردها نیاز می‌باشد) را توضیح می‌دهد. [ISO 78-2, 23] پیشنهاداتی را در مورد مستندسازی متد برای متدهای شیمیایی عمومی ارائه می‌دهد. یک طرح بر اساس این استاندارد در پیوست A ارائه شده است. استانداردها به نظم و ترتیب منطقی اطلاعات مواد، سرفصل‌ها و توصیه‌های پیشنهادی در مورد اطلاعاتی که می‌بایست زیر هر سرفصل ظاهر شوند اشاره می‌کنند. خواننده هنگام استفاده از این استانداردها می‌بایست به ضرورت برقراری تعادل بین انعطاف‌پذیری رویکرد و انسجام نتایج توجه داشته باشد. گرچه حالت مطلوب آن است که تمام متدها از فرمت سند یکسانی برخوردار باشند، با این حال به این نکته نیز می‌بایست توجه شود که تمام متدها میزان جزئیات یکسانی را ضمانت نکرده و اغلب حذف بعضی بخش‌های پیشنهادی از سند مناسب خواهد بود.

### ۳.۲.۹ کنترل سند

آزمایشگاهی که متدهای خودش را مستندسازی می‌کند، می‌تواند از توسعه یک «سبک درون سازمانی» بهره‌مند شود. با ارائه اطلاعات مرتبط و یک روش ساده و منطقی، آزمایشگاه می‌تواند حجم بالای کار مستندسازی را بین تعداد زیادی از نویسندگان پخش کند. پیش‌نویس‌های ایجاد شده از سوی نویسندگان را می‌توان جهت یک‌دست‌سازی آن‌ها، با یک مرجع بازنگری تک‌بازبینی کرد.

### ۱.۹ از پیش‌نویس تا نسخه نهایی

صحه‌گذاری متد، با استفاده از روش اجرایی مستند شده‌ای اجرا می‌شود که تا زمانی که گزارش صحه‌گذاری آن تأیید نشده، می‌بایست به عنوان یک پیش‌نویس لحاظ شود. پس از تکمیل فرایند صحه‌گذاری، جهت به کارگیری شفاف و بدون ابهام متد، می‌بایست مستندسازی روش اجرایی آنالیزی انجام شود. دلایل زیادی برای این کار وجود دارند:

- ارزیابی‌های گوناگون انجام شده هنگام فرایند صحه‌گذاری متد، فرض می‌کنند که متد در هر بار به روش یکسان استفاده خواهد شد. اگر این حالت صادق نباشد، آنگاه عملکرد واقعی متد با عملکرد پیش‌بینی شده از طریق داده‌های صحه‌گذاری مطابقت نخواهد داشت. بنابراین، جهت جلوگیری از ورود تغییرات تصادفی به متد، می‌بایست دامنه کاربرد در مستندسازی محدود شود.
- برای بازرسی و ارزیابی اهداف و یا دلایل نظارتی یا قراردادی نیز ممکن است به مستندسازی صحیح نیاز باشد.
- مستندسازی مناسب متد، تضمین می‌کند که کاربرد متد از یک نوبت کاری تا نوبت بعدی به شکل منسجم و یک‌دست انجام شود. از آنجا که کیفیت مستندسازی بر چگونگی انسجام به کارگیری متد اثر مستقیم دارد، احتمالاً این کیفیت بر دقت و عدم قطعیت اندازه‌گیری نیز تأثیر خواهد گذاشت. در واقع، سهم عدم قطعیت مرتبط با متدهایی که به طور ناکارآمد مستندسازی شده‌اند، می‌تواند آنقدر بزرگ باشد که باعث غیرقابل استفاده شدن متد شود. قبل از تخمین معقول عدم قطعیت، هر گونه بی‌قاعدگی در مستندسازی می‌بایست برطرف شود.

### ۲.۹ توصیه‌ها

#### ۱.۲.۹ بازبینی دستورالعمل‌ها

مستندسازی صحیح یک متد کار ساده‌ای نیست. اطلاعات می‌بایست به ترتیبی ارائه شوند که انتظار می‌رود کاربر به آن‌ها نیاز خواهد داشت. معمولاً نکته گمراه‌کننده این فرض است که هر کسی روش کار متد را به همان میزانی درک خواهد کرد که شخص توسعه‌دهنده و مستندساز آن را درک می‌کند. این فرض می‌تواند خطرناک باشد. یک روش مفید برای آزمایش مستندسازی این است که اجازه دهیم یک

گاهی اوقات ممکن است متدها نیاز به روزرسانی داشته باشند. برای مثال، فن آوری که زیربنای روش اجرایی را تشکیل می‌دهد ممکن است بهبودیافته باشد. در این گونه موارد، کنترل سند کمک می‌کند تا عملیات از رده خارج‌سازی متدهای منسوخ و صدور متدهای تجدیدنظر شده به راحتی و بدون دردسر انجام شود.

در حال حاضر پروسه کنترل سند با استفاده از نرم‌افزار ویژه خیلی ساده شده است. تغییرات فقط می‌بایست از سوی کسانی که مجاز هستند، انجام شوند. این تغییرات می‌توانند در نرم‌افزار و از طریق فایل‌های مرتبط، با دسترسی گسترده «فقط - خواندن» یا دسترسی بسیار محدود «نوشتنی» به راحتی کنترل شوند.

متدهای مستندسازی شده بخش مهمی از سیستم مدیریت کیفیت آزمایشگاه را تشکیل می‌دهند و می‌بایست سطح مناسبی از کنترل سند بر آن‌ها اعمال شود. هدف این کار کسب اطمینان از این موضوع است که تنها متدها و روش‌های اجرایی دارای مجوز برای استفاده در آزمایشگاه مناسب هستند و در عمل نیز تنها می‌بایست این متدها استفاده شوند. بنابراین، به عنوان بخشی از فرایند مستندسازی، متدها می‌بایست حامل اطلاعاتی باشند که از طریق آن کاربر بتواند در مورد این که آیا متد برای استفاده دارای مجوز است یا خیر و یا این که متد کامل شده یا خیر، قضاوت داشته باشد. دیگر اطلاعات، نظیر شماره نسخه و تاریخ متد، نویسنده، تعداد کپی‌های موجود از متد و محدودیت‌های کپی‌برداری نیز می‌بایست در دسترس باشند.

## ۱۰. استفاده از داده‌های صحه‌گذاری در محاسبه و گزارش نتایج

هنگام استفاده از یک نتیجه آنالیزی با عدم قطعیت همراه آن و تصمیم‌گیری در مورد این که آیا محموله اولیه‌ای که نمونه از آن برداشته شده با یک مشخصه یا حد مطابقت دارد یا خیر، می‌بایست احتیاط کرد [84]. مسئولیت یک چنین تصمیمی ممکن است مستقیماً بر عهده تجزیه‌گر نباشد، هر چند که برای تسهیل فرایند تصمیم‌گیری می‌توان نظر فنی تجزیه‌گر را نیز جویا شد.

تجزیه‌گر هنگام گزارش نتایج، می‌بایست تصمیم بگیرد که یا نتایج را برای بایاس‌های احتمالی شناسایی شده تصحیح کند یا نتایج تصحیح نشده را ضمن اشاره به وجود بایاس گزارش کند.

هنگام گزارش نتایج به شکل «تشخیص داده نشد» می‌بایست احتیاط کرد. این عبارت به تنهایی فاقد اطلاعات لازم بوده و گزارش آن می‌بایست همراه با مقدار حد تشخیص به روشنی بیان شود. بعضی اوقات گزارش یک مقدار عددی، حتی اگر این مقدار زیر حد تشخیص ظاهری باشد، مناسب به نظر می‌رسد. گاهی اوقات مراجع قانونی ممکن است خواهان این باشند که حد تعیین کمی نیز بیان شود.

هر جا که گزارش عدم قطعیت همراه با نتیجه ضروری باشد، بیان عدم قطعیت بسط‌یافته با فاکتور پوششی مناسب، منطقی به نظر می‌رسد. برای مثال، فاکتور پوششی ۲ با بازه‌ای با سطح اطمینان تقریبی ۹۵٪ مطابقت دارد. برای اطلاعات بیشتر در مورد چگونگی گزارش عدم قطعیت اندازه‌گیری، بخش ۹ راهنمای یوراکم/ سیتک [22] را ببینید.

مهم است که تجزیه‌گر بتواند داده‌های ایجاد شده از تجزیه نمونه‌ها با استفاده از متد صحه‌گذاری شده را به نتایجی که مستقیماً به حل مشکل مشتری مربوط می‌شوند، ربط دهد. تجزیه‌گر می‌تواند این کار را با استفاده از مشخصه‌های عملکردی ایجاد شده هنگام فرایند صحه‌گذاری انجام دهد. برای تعیین این که آیا اختلاف‌های مشاهده شده هنگام آنالیز نمونه‌ها معنادار می‌باشند یا خیر، داده‌های تکرارپذیری، دقت میانی و تجدیدپذیری می‌توانند استفاده شوند. برای تأیید این که آیا متد تحت کنترل بوده و به نتایج معنادار منجر می‌شود یا خیر، می‌توان از مباحث کنترل‌کیفیتی ایجاد شده بر اساس داده‌های صحه‌گذاری استفاده کرد. می‌توان نتیجه را با تخمین عدم قطعیت اندازه‌گیری به شکل گستره‌ای از مقادیر با سطح قابل قبول اطمینان بیان کرد.

مهم است که تجزیه‌گر به داده‌های صحه‌گذاری که برای تأیید اعتبار نتایج استفاده می‌شوند، دسترسی داشته باشد. این که یک چنین اطلاعاتی به مشتری انتقال داده شود یا نشود، موضوع دیگری است. اغلب موارد، مشتری از مهارت‌های فنی برای درک معنادار بودن داده‌ها برخوردار نمی‌باشد. لذا در چنین شرایطی شاید ایمن‌تر آن باشد که داده‌ها تنها در صورت درخواست در اختیار مشتری قرار گیرند.

لازم است تا در شرایط خاص، برای مثال در موارد قانونی یا پزشکی قانونی، با مسائلی نظیر صحه‌گذاری متد، تغییرپذیری و عدم قطعیت اندازه‌گیری با احتیاط بیشتری برخورد شود. در چنین شرایطی شاید بهتر آن باشد که وجود عدم قطعیت اندازه‌گیری‌ها را با روی باز پذیرفته و این آمادگی را داشته باشیم که تصمیم‌های اتخاذ شده را با توجه به شناخت عدم قطعیت توجیه کنیم.



## پیوست A. پروتوکل مستندسازی متد

در بخش ۹ این راهنما چگونگی مستندسازی مناسب متدها بحث شد. فرمت زیر به عنوان یک طرح مناسب و مرجع در این راهنما گنجانده شده است. این فرمت که بر اساس ISO 78-2 [83] پایه‌گذاری شده است دارای توصیه‌های اضافی در مورد کالیبراسیون، کنترل کیفیت و کنترل سند نیز می‌باشد. پیوست A، فقط یک راهنما بوده و مطابقت آن با الزامات خاص می‌بایست در نظر گرفته شود.

### A.1 پیش‌گفتار

#### A.1.1 خلاصه بازنگری و به‌روزرسانی

این بخش دو هدف را دنبال می‌کند. از یکسو هدف آن گنجاندن تغییرات جزئی در متن متد، بدون نیاز به تجدیدنظر کامل و چاپ مجدد و از سوی دیگر بازنگری دوره‌ای برآزش هدف متد و ارائه خلاصه‌ی آن به صورت سابقه می‌باشد. خلاصه معمولاً در ابتدا، قبل از متن متد و داخل جلد آورده می‌شود.

#### A.1.2 به‌روزرسانی‌ها

تغییرات مکتوب در متن متد، به شرطی که در جدول زیر ثبت (مدخل‌های دست‌نویس قابل قبول هستند) و تأیید شده باشند، می‌توانند پذیرفته شوند. در مجوز تصویب شده این واقعیت به طور ضمنی وجود دارد که اثر این تغییرات در صحت‌گذاری متد، بررسی شده و مشکل خاصی ایجاد نشده است و دیگر آن که تغییرات برای تمام کپی‌های متد نیز می‌بایست اعمال شوند.

#	بخش	اصلاحیه	تاریخ	تصویب
(برای مثال) 1	3.4	تغییر سرعت فلو به $1.2 \text{ ml min}^{-1}$	8/2/96	DGH

#### A.1.3 بازنگری

تاریخی که متد برای استفاده مناسب تشخیص داده می‌شود همانند جدول زیر بین تاریخ‌های بازنگری و بازنگری بعدی، قرار خواهد گرفت.

تاریخ بازنگری	نتیجه بازنگری	تاریخ بازنگری بعدی	تصویب

#### A.2 مقدمه

در صورت نیاز از مقدمه برای معرفی اطلاعاتی نظیر پیشنهادات مربوط به موارد فنی روش اجرایی یا دلایل تهیه آن استفاده می‌شود. اگر نیازی به اطلاعات سابقه متد باشد، آن نیز می‌بایست ترجیحاً در این بند گنجانده شود.

#### A.3 عنوان

عنوان می‌بایست انواع نمونه‌هایی را که متد آزمایشی برای آن‌ها به کار می‌رود، آنالیت یا ویژگی‌هایی که قرار است تعیین شوند و اصل تعیین را بیان کند. هر جا که امکان داشته باشد می‌بایست به اطلاعات زیر محدود شود. فرمت ترجیحی:

تعیین A {آنالیت یا اندازه ده} (در حضور B {مزاحم}) در {ماتریکس} C با استفاده از {اصل} D

#### A.4 هشدارها

در این بند می‌بایست به خطرات احتمالی و توصیف اقدام‌های احتیاطی لازم برای اجتناب از آن‌ها اشاره شود. اقدامات احتیاطی کامل را می‌توان در بخش‌های مرتبط توضیح داد. اما در اینجا بیشتر می‌بایست به حضور خطرات و ضرورت اقدام‌های احتیاطی توجه شود. هشدارهای مناسب خطرات مربوط به موارد زیر می‌بایست ارائه شوند:

- دست‌کاری نمونه‌ها
- دست‌کاری یا تهیه حلال‌ها، واکنشگرها، استانداردها یا دیگر مواد
- عملیات تجهیزات

- الزامات محیط‌های کاری ویژه، برای مثال کابینت‌های هود
- پیامدهای آزمایش‌های افزایشی (حدود انفجار)

### A.5 دامنه کاربرد

به کمک این بخش کاربر خیلی سریع تشخیص خواهد داد که آیا متد برای کاربرد مورد نظر مناسب است یا نه، و آیا محدودیت‌هایی در آن وجود دارد یا خیر. جزئیات زیر می‌بایست پوشش داده شوند:

- توصیف مشکل اصلی (یعنی این که چرا اصلاً به این متد نیاز است؟)
- آنالیت(ها) یا اندازه‌دهه(ها)ی که می‌توانند با متد تعیین شوند.
- شکلی که آنالیت(ها) تعیین می‌شوند - گونه خاصی از آنالیت، آنالیت کل/ در دسترس و غیره.
- ماتریکس(های) نمونه که ممکن است آنالیت(ها) درون آن‌ها تعیین شوند.
- گستره‌ی کاری (بازه‌ی اندازه‌گیری) که متد در آن گستره استفاده می‌شود. در اینجا می‌بایست به خواص نمونه آزمایشگاهی، نظیر غلظت‌ها اشاره شود.
- مزاحمت‌های معلومی که مانع استفاده از متد شده و یا آن را محدود می‌کنند.
- تکنیک دستگامی استفاده شده در متد
- حداقل اندازه‌ی نمونه

بخش صنایع غذایی به جای دامنه کاربرد از مفهوم «کاربردپذیری» استفاده کرده و آن را به صورت «آنالیت‌ها، ماتریکس‌ها و غلظت‌هایی که متد آنالیزی می‌تواند به شکل رضایت‌بخشی برای آن‌ها استفاده شود،» تعریف می‌کند.

### A.6 مراجع (دستوری)

این بند می‌بایست فهرست اسنادی را که برای کاربرد متد ضروری هستند، ارائه دهد. مستنداتی که صرفاً به عنوان مراجع در تهیه متد به کار رفته‌اند نیز می‌بایست در کتاب‌شناسی پایان سند ارائه شوند.

### A.7 تعاریف

در اینجا می‌بایست تعاریف اصطلاحات استفاده شده در متن که برای درک کامل متد ضروری می‌باشند، ارائه شوند. در صورت امکان از تعاریف ISO استفاده کنید - منابع را ذکر کنید. در صورت نیاز، ساختارهای تجزیه‌ای نیز می‌بایست در این بند آورده شوند.

### A.8 اصل

مراحل ضروری متد و اصل تکنیک تجزیه‌ای آن را توضیح دهید. رسم یک فلوجارت یا دیاگرام علت و معلولی می‌تواند مفید باشد. این بخش می‌بایست طوری نوشته شود که با یک نگاه گذرا بتوان چگونگی عملکرد متد را در آن مشاهده کرد. توضیحی را در مورد اصل محاسبه در آن بگنجانید. هر جا که شفاف‌سازی متد یا محاسبات مناسب داشته باشد، می‌بایست جزئیات واکنش‌های شیمیایی مرتبط (برای مثال، جایی که مشتق‌سازی وجود دارد و یا عیارسنجی) نیز ارائه شود.

برای مثال، «غلظت از ۶ نقطه منحنی کالیبراسیون و با قرائت غلظت جذب نمونه‌ای که برای مقدار بلانک تصحیح و در فاکتور غلظت ضرب شده به دست می‌آید.»

### A.9 واکنش‌ها

این بند می‌بایست به واکنش‌های اصلی اشاره کند، البته اگر لحاظ کردن این واکنش‌ها برای درک متن یا محاسبات ضروری باشند. محاسبات انجام شده از داده‌های به دست آمده در تعیین‌ها از روی واکنش‌ها توجیه می‌شوند و به خصوص اگر چند تغییر پی‌درپی در حالت اکسیداسیون عنصر تعیین‌شونده واقع شود، ممکن است به درک بهتر متد منجر شوند. وقتی تیتراسیون‌ها درگیر باشند، به خصوص اشاره به تعداد اکی‌والان‌ها در هر مول واکنش‌دهنده می‌تواند مفید باشد.

### A.10 واکنشگرها و مواد

فهرست تمام واکنشگرها و مواد مورد نیاز برای فرایند تجزیه‌ای را همراه با ویژگی‌های اصلی (غلظت، دانسیته و غیره) تهیه کرده و برای ارجاع بعدی شماره‌گذاری کنید. موارد زیر را فهرست کنید:

- شماره‌های ثبت یا بایگانی سرویس چکیده شیمیایی (CAS) (چنانچه در دسترس باشد)
- جزئیات خطرات مرتبط شامل دستورالعمل‌های دفع مواد



- درجه یا خلوص تجزیه‌ای
- نیاز به کالیبراسیون و مواد QC که از بچ‌های مستقل به دست می‌آیند
- جزئیات تهیه، شامل ضرورت آماده‌سازی از قبل
- الزامات ذخیره‌سازی و جلوگیری از آلودگی
- میزان ماندگاری ماده اولیه و واکنشگر تهیه شده
- نحوه ترکیب، همراه با نکات مربوط به نوع غلظت یا دیگر کمیت‌ها
- الزامات برچسب‌زنی

### A.11 تجهیزات

تجهیزات و چگونگی اتصال آن‌ها را با جزئیات کافی توصیف کنید، طوری که تنظیم بدون ابهام دستگاه امکان‌پذیر شود. آیتم‌ها را برای ارجاع‌دهی بعدی شماره‌گذاری کنید. دیاگرام‌ها و فلوجارت‌ها ممکن است به شفافیت موضوع کمک کنند. کنترل عملکرد تجهیزات مونتاژ شده می‌بایست در بند «روش اجرایی» و در زیربند «آزمایش مقدماتی» یا «آزمایش بازبینی» توضیح داده شود (A.13 را ببینید).

فهرستی از حداقل الزامات عملکردی و الزامات تصدیق با ارجاع‌دهی درون متنی به بخش کالیبراسیون (A.13) و کاتالوگ‌های دستگاهی مرتبط تهیه کنید. اگر مناسب است، به استانداردهای بین‌المللی یا دیگر مستندات پذیرفته شده بین‌المللی مرتبط با ابزار شیشه‌ای آزمایشگاهی و تجهیزات مربوطه نیز ارجاع دهید. الزامات محیطی (کابینت‌های هود و غیره) را نیز ضمیمه کنید.

### A.12 نمونه‌برداری

در این پروتوکل، نمونه‌برداری، هم شامل نمونه‌برداری جهت رسیدن به نمونه آزمایشگاهی و هم زیرنمونه‌برداری در آزمایشگاه جهت رسیدن به نمونه آزمایشی می‌باشد که از آن بخش آزمایشی برداشته می‌شود.

چنانچه نمونه‌برداری برای تهیه نمونه آزمایشگاهی به خودی‌خود مستقل از آنالیز شیمیایی باشد، در این حالت، معمولاً ارجاع دهی آگاهانه آن به روش اجرایی مرتبطی که به طور ویژه به این مبحث می‌پردازد، کافی می‌باشد. اگر چنین روش اجرایی وجود نداشته باشد، بند نمونه‌برداری ممکن است شامل طرح نمونه‌برداری و روش اجرایی نمونه‌برداری نیز باشد. در اینجا راهنمایی لازم در مورد چگونگی اجتناب از تغییر فرآورده و الزامات مربوط به کاربرد متدهای آماری ارائه می‌شود.

بند نمونه‌برداری می‌بایست تمام اطلاعات لازم درباره تهیه نمونه آزمایشی از نمونه آزمایشگاهی را ارائه دهد. جزئیات ذخیره‌سازی، شرایط نگهداری/پیش‌تیمار و دفع نیز باید در آن گنجانده شود. اگر این مرحله خیلی پیچیده باشد، داشتن یک سند جداگانه برای توصیف مراحل منفرد ممکن است توجیه‌پذیر باشد.

### A.13 روش اجرایی

مراحل عملیات‌ها را توضیح دهید. اگر متد توصیفی قبلاً در استاندارد دیگری ارائه شده باشد، می‌بایست از عبارت «از متد مشخص شده در ISO 12345 استفاده کنید» یا «از یکی از متدهای مشخص شده در ISO 12345 استفاده کنید» استفاده شود. در صورت نیاز، به اصلاح انجام شده در آن نیز می‌بایست اشاره شود. عملیات‌هایی را که نیاز به اقدامات احتیاطی ایمنی خاص دارند ذکر کنید. بند «روش اجرایی» معمولاً می‌بایست شامل زیربندهای ذیل باشد:

- بخش آزمایشی (تهیه آن از نمونه آزمایشگاهی یا نمونه آزمایشی و جرم و یا حجم مورد نیاز)
- آزمایش‌های بلانک (شرایط و محدودیت‌ها)
- آزمایش مقدماتی یا آزمایش بازبینی (برای مثال، تصدیق عملکرد دستگاه اندازه‌گیری)
- تعیین (ها) یا آزمایش (ها)، که شامل بیان تعداد اندازه‌گیری‌ها یا آزمایش‌ها (برای مثال، دوبار تکرار) و توصیف جامع تمام مراحل می‌باشد.
- کالیبراسیون. بخش‌های بحرانی فرایند تجزیه را شناسایی کنید. این بخش‌ها می‌بایست با اجرای عملیات و کالیبراسیون دقیق کنترل شوند. به بخش‌های مرتبط بالا ارجاع درون متنی داشته باشید. درباره کالیبراسیون تجهیزات به نکاتی چون - این که چه چیزی قرار است کالیبره شود، چگونگی کالیبراسیون و با چه چیزی و تعداد دفعات کالیبراسیون - نیز اشاره کنید. قابلیت ردیابی اندازه‌شناسی مناسب کالیبران‌ها را هم لحاظ کنید.

### A.14 محاسبه

چگونگی محاسبه نتیجه یا نتایج را توضیح دهید. اطلاعات مربوط به واحدها و دیگر کمیت‌هایی که می‌بایست نتیجه بر اساس آن بیان

شود، معادله استفاده شده برای محاسبه، معنای نمادهای جبری مورد استفاده در معادله، تعداد مکان‌های اعشار یا ارقام بامعنی را که نتیجه باید تا آن مقدار ارائه شود را در این بند بگنجانید. نمادهای کمیت‌ها می‌بایست مطابق با ISO 80000 باشند [14].

### A.15 دقت

برای منتهایی که مقایسه بین آزمایشگاهی آن‌ها انجام شده می‌بایست داده‌های دقت (یعنی تکرارپذیری و تجدیدپذیری) بیان شوند. داده‌های دقت ترجیحاً می‌بایست مطابق با بخش مربوطه در ISO 5725 یا دیگر استاندارد های بین‌المللی مناسب (که می‌بایست مرجع آن آورده شود) محاسبه و منتشر شوند. آشکارا بیان کنید که آیا مقادیر دقت در جملات مطلق یا نسبی و یا به صورت حدود دقت بیان می‌شوند یا خیر.

### A.16 تضمین کیفیت و کنترل کیفیت

یکی از نتایج تمرین صحنه‌گذاری می‌بایست توصیف اجرای روش‌های کنترل کیفیت داخلی و خارجی (آزمون مهارت) باشد. توضیح دهید که به چه شکلی از کنترل کیفیت نیاز است، به تعداد دفعات بازبینی‌های کنترل کیفیت هنگام آنالیز بچ، معیارهای رد/قبول و اقدامات اجرایی هنگام وقوع نقص نیز اشاره کنید. به بخش‌های مرتبط بالا ارجاع درون متنی داشته باشید.

### A.17 موارد خاص

به اصلاح‌هایی که بر اثر حضور یا غیاب سازنده‌های خاص در محصول تحت آنالیز، باعث تغییر روش اجرایی می‌شوند، اشاره کنید. این اصلاح‌ها قبلاً می‌بایست در بند «دامنه کاربرد» بیان شده باشند. به هر مورد خاص می‌بایست یک عنوان متفاوت داده شود.

### A.18 گزارش آزمون

این بند می‌بایست اطلاعات ارائه شده در گزارش آزمون را مشخص کند. معمولاً جنبه‌های آزمایشی زیر می‌بایست رعایت شوند.

- ارجاع‌دهی به متد مورد استفاده
- نتیجه(ها) و در صورت امکان یک شاخص مرتبط با کیفیت (دقت، عدم قطعیت معین، بازه اطمینان)، و ارجاع به بند «محاسبه».
- هر گونه انحراف از روش اجرایی
- هر گونه ویژگی غیرمعمول مشاهده شده
- تاریخ آزمایش

### A.19 پیوست‌ها

برای درک بهتر مطالب می‌توان بعضی از اطلاعات را در یک پیوست ارائه داد. آشکارا می‌بایست بیان شود که آیا پیوست دستوری است یا آموزشی. بعضی از مثال‌های اطلاعاتی که می‌توانند پیوست شوند، عبارتند از، داده‌های حاصل از کار صحنه‌گذاری متد، تحلیل خطر و محاسبات عدم قطعیت. برای مورد آخر، منابع اصلی عدم قطعیت مرتبط با متد می‌بایست شناسایی شده و مقادیر استنادی آن‌ها نیز فهرست شوند. سهم‌های ناچیزی که در محاسبه نهایی استفاده نمی‌شوند نیز می‌بایست ذکر شوند. عدم قطعیت استاندارد مرکب و/ یا عدم قطعیت بسط‌یافته می‌بایست همراه با توصیفی مبنی بر چگونگی تخمین آن‌ها فهرست شوند. تیمار جامع تر این مورد ممکن است در یک فایل با ارجاع درون متنی موجود باشد.

### A.20 کتاب‌شناسی

اگر مراجع آموزنده ضروری تشخیص داده شوند، می‌توان آن‌ها را در جایی درون متن که ارجاع‌دهی می‌شوند یا اگر چند مرجع باشند، به طور جداگانه در یک بخش کتاب‌شناسی در پایان سند معرفی کرد.

## پیوست B. مبنای آماری محاسبات حد تشخیص<sup>۱</sup>

مرجع خلاصه ۲ در بخش ۳.۲.۶ بیان می‌کند که حد تشخیص (LOD) می‌تواند با ضرب یک انحراف استاندارد مناسب در فاکتور ۳ محاسبه شود. این پیوست مبنای آماری این فاکتور را توضیح می‌دهد.

در تعیین LOD، هدف نوعاً تعیین کمترین غلظت آنالیت موجود در نمونه است که می‌تواند با استفاده از یک روش اجرایی اندازه‌گیری و در سطح اطمینان معین تشخیص داده شود. تعریف LOD یک فرایند دومرحله‌ای است. ابتدا یک «مقدار بحرانی» تعیین می‌شود. این مقدار طوری تنظیم می‌شود که احتمال یافتن نتیجه‌ای که از مقدار بحرانی تجاوز کند بزرگتر از  $\alpha$  نباشد، البته به شرطی که نمونه واقعاً فاقد آنالیت باشد. مقدار بحرانی، معیاری را برای بیان «مثبت» بودن یک نمونه تنظیم می‌کند. معمولاً از احتمال مثبت غلط  $\alpha=0.05$  استفاده می‌شود، این  $\alpha$  به مقدار بحرانی تقریبی  $1.65s$  منجر می‌شود (در اینجا  $s$  انحراف استاندارد تعداد زیاد نتایج برای نمونه بلانک یا نمونه محتوی غلظت پایین از آنالیت است و  $1.65$  مقدار  $t$  استیودنت یک‌طرفه برای درجات آزادی بی‌شمار در سطح معناداری  $\alpha=0.05$  می‌باشد). اغلب موارد، مقدار بحرانی خیلی ساده بر مبنای غلظت بیان می‌شود، هر چند در اصل آن ممکن است هر مشاهده‌ای، نظیر مساحت پیک نیز باشد. هر نتیجه بالاتر از مقدار بحرانی می‌بایست به صورت مثبت بیان شود.

با این حال، چنانچه مقدار واقعی برای غلظت یک نمونه، دقیقاً برابر با مقدار بحرانی باشد (بیان شده بر حسب غلظت) انتظار می‌رود که تقریباً نصف نتایج اندازه‌گیری زیر مقدار بحرانی باشد، که در این صورت منجر به نرخ منفی غلط 50% خواهد شد. آشکار است که نرخ منفی غلط 50% برای استفاده عملی خیلی بالاست و اگر غلظت برابر با مقدار بحرانی باشد، نتایج بالای مقدار بحرانی، قابل اطمینان نخواهند بود. هدف LOD ارائه غلظت واقعی است که در آن، نرخ منفی غلط در مقدار بحرانی معین، قابل قبول باشد.

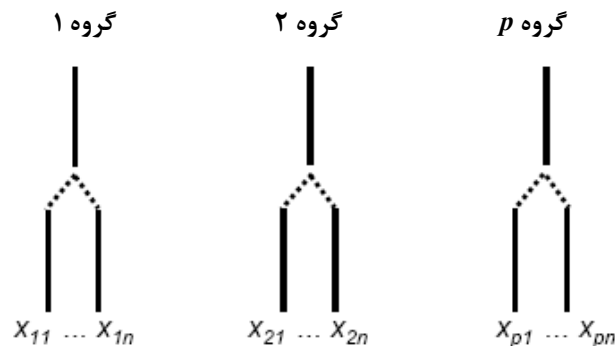
خطای منفی غلط،  $\beta$ ، معمولاً برابر با خطای مثبت غلط تنظیم می‌شود، این کار عمدتاً به خاطر دلایل تاریخی (آیوپاک مقادیر پیش‌فرض  $\alpha=\beta=0.05$  را پیشنهاد می‌کند [49]) انجام می‌شود. LOD با استفاده از  $\alpha=\beta=0.05$ ، می‌بایست  $1.65s$  بالای مقدار معین برای مقدار بحرانی باشد. بنابراین، فاکتور محاسبه LOD با  $\alpha=\beta=0.05$ ، مقدار  $1.65+1.65=3.30$  خواهد شد. این مقدار اغلب گرد شده و رقم محاسبه "3s" را خواهد داد که در مرجع خلاصه ۲ نشان داده شده است. این رویکرد بر مبنای چند فرض که توضیح کامل آن در نوشته‌های علمی آمده، پایه‌گذاری شده است [49].

ضریب ۳ که در پاراگراف قبل محاسبه شد از مقدار  $t$  استیودنت یک طرفه برای تعداد بیشمار درجه آزادی بدست می‌آید که تا یک رقم بامعنی گرد شده است. برای تخمین آماری دقیق LOD، در فاکتور ضریب استفاده شده، می‌بایست تعداد درجات آزادی مرتبط با تخمین  $s$  لحاظ شود. برای مثال، اگر  $s$  از ۱۰ اندازه‌گیری تکراری بدست آید،  $t$  استیودنت در  $\alpha=0.05$  مقدار 1.83 خواهد شد. (۹ درجه آزادی). این مقدار منجر به LOD محاسبه شده  $3.7s$  خواهد شد.

۱. متن بر اساس راهنمای یوراکم، با عنوان واژه شناسی در اندازه‌گیری تجزیه پایه گذاری شده است [8].

## پیوست C. تحلیل واریانس (ANOVA)

ایده‌ی اصلی «تحلیل واریانس» (ANOVA) این است که، هر جا مجموعه‌ای از داده‌های تکراری بتوانند به طریقی برای مثال، بر اساس تجزیه‌گر، دستگاه، روز، آزمایشگاه، متد و غیره گروه‌بندی شوند، تغییر کل در مجموعه کامل را می‌توان به شکل ترکیب واریانس‌های ( $s^2$ ) بین و درون گروه‌ها نشان داد. ANOVA می‌تواند برای ارزیابی نتایج حاصل از مطالعه آزمایشگاهی نشان داده شده در شکل C1 استفاده شود. در این «طرح تودرتو»، اندازه‌گیری‌های تکراری (نوعاً به دست آمده تحت شرایط تکرارپذیری) در اجراهای متفاوت تکرار شده و P گروه داده را فراهم می‌کنند. برای تخمین دقت میانی از یک چنین مطالعه‌ای، می‌بایست ماکزیمم تغییر در شرایط بین اجراها (روزهای مختلف، تجزیه‌گرهای مختلف و غیره) وجود داشته باشد.



شکل C1. مثال «طرح تودرتو» برای یک آزمایش که معیارهای دقت متفاوت آن با استفاده از ANOVA می‌توانند ارزیابی شوند.

شکل عمومی جدول ANOVA یک‌طرفه، برای تعداد کل N نتیجه در P گروه از n مشاهده و با (v) درجه آزادی در شکل C2 نشان داده شده است. هر خط از جدول به یک منبع مختلف تغییر مربوط می‌شود. اولین ردیف به تغییر بین میانگین‌های گروه‌ها مربوط می‌شود، ردیف دوم، تغییر درون گروه‌ها را توصیف می‌کند و ردیف سوم، تغییر کل مجموعه داده‌ها را توصیف می‌کند. برنامه‌های صفحه‌گسترده و نرم‌افزارهای آماری نیز مقدار بحرانی F و مقدار P (احتمال) متناظر را فراهم می‌کنند.

منبع تغییر	جمع مربعات (SS)	v	میانگین مربع (MS)	F	P	F <sub>crit</sub>
بین گروه‌ها	SS <sub>b</sub>	p-1	MS <sub>b</sub> = SS <sub>b</sub> /(p-1)	MS <sub>b</sub> /MS <sub>w</sub>		
درون گروه (مانده‌ها)	SS <sub>w</sub>	N-p	MS <sub>w</sub> = SS <sub>w</sub> /(N-p)			
کل	SS <sub>tot</sub> = SS <sub>b</sub> +SS <sub>w</sub>	N-1				

شکل C2. آناتومی جدول ANOVA یک‌طرفه

مقادیر مربوط به تغییر بین گروه را اصطلاحاً «بین - گروه» نامیده و معمولاً با فاکتور گروه‌بندی (برای مثال، تجزیه‌گر، روز یا آزمایشگاه) شناسایی می‌شوند. جهت توصیف تغییر درون - گروه از اصطلاح‌های مختلف در نرم‌افزارها، کتاب‌های درسی و غیره استفاده می‌شوند که متداول‌ترین آن‌ها «درون - گروه»، «مانده»، «خطا» یا «اندازه‌گیری» می‌باشند.

با فرض این که طرح تودرتوی نشان داده شده در شکل C1 از سوی یک آزمایشگاه تک اجرا شده و تکرارهای درون هر گروه تحت شرایط تکرارپذیری به دست آمده و شرایط تجزیه‌ای بین گروه‌ها تغییر داده شوند، تکرارپذیری و دقت میانی می‌توانند به شکل زیر محاسبه شوند:

1. انحراف استاندارد تکرارپذیری  $s_r$  از محاسبه ریشه دوم جمله میانگین مربع درون گروه که بیانگر واریانس درون - گروه است، به دست می‌آید:

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

۲. سهم تغییر کل از فاکتور گروه‌بندی ( $S_{\text{between}}$ ) نیز از جدول ANOVA به دست می‌آید:

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

۳. حال دقت میانی  $S_1$  می‌تواند با ترکیب مؤلفه‌های واریانس بین و درون گروه بالا محاسبه شود:

$$S_1 = \sqrt{s_r^2 + s_{\text{between}}^2} \quad (\text{معادله C3})$$

آزمایش اشاره شده در بخش ۴.۶.۶ می‌تواند به صورت زیر نشان داده شود. به عنوان بخشی از تمرین صحنه‌گذاری متد در یک آزمایشگاه تک، اندازه‌گیری‌های دوبار تکرار، در هشت روز انجام شدند (جدول C1). اندازه‌گیری‌ها در هر روز تحت شرایط تکرارپذیری، اما با تجزیه‌گرهای متفاوت، تجهیزات متفاوت و غیره انجام شدند، و به منظور شبیه‌سازی شرایط آن با شرایط استفاده روتین، اندازه‌گیری‌ها در روزهای مختلف انجام شدند.

**جدول C1.** مثالی از یک تنظیم آزمایشگاهی که با استفاده از ANOVA یک‌طرفه و درجات آزادی قابل قبول، امکان ارزیابی تکرارپذیری و دقت میانی فراهم می‌شود.

روز:	1		2		3		4		5		6		7		8	
نتیجه:	$X_{1,1}$	$X_{1,2}$	$X_{2,1}$	$X_{2,2}$	$X_{3,1}$	$X_{3,2}$	$X_{4,1}$	$X_{4,2}$	$X_{5,1}$	$X_{5,2}$	$X_{6,1}$	$X_{6,2}$	$X_{7,1}$	$X_{7,2}$	$X_{8,1}$	$X_{8,2}$

ANOVA یک طرفه می‌تواند جدا کردن تغییر ذاتی درون متد (تکرارپذیری) و تغییر ناشی از اختلاف‌ها در شرایط اندازه‌گیری، یعنی تجزیه‌گرهای مختلف، تجهیزات مختلف، مقیاس زمانی گسترش‌یافته (دقت میانی) استفاده شود. توجه کنید که با این رویکرد، امکان نتیجه‌گیری در مورد این که کدام پارامترها - تجزیه‌گر، تجهیزات، زمان - بیش از همه در دقت میانی شرکت می‌کند، امکان‌پذیر نمی‌باشد، و این موضوع نیز در مرحله صحنه‌گذاری معمولاً لازم نمی‌باشد.

به کارگیری ANOVA یک‌طرفه برای نتایج جدول C1، جدول نتایجی شبیه شکل C2 را ایجاد خواهد کرد. نتیجه‌گیری مستقیم در رابطه با این که آیا تغییر بین نتایج به دست آمده در روزهای مختلف به طور معناداری بزرگتر از تغییر نتایج به دست آمده در یک روز یکسان می‌باشد یا خیر، با استفاده از مقادیر  $F$ ،  $F$  بحرانی و  $P$  امکان‌پذیر خواهد شد. مقادیر دو معیار دقت ( $S_1$  و  $S_2$ ) نیز به راحتی از معادلات C1 و C3 محاسبه خواهند شد. تعداد درجات آزادی ( $v$ ) مرتبط برای  $S_2$ ،  $N-P=16-8=8$  خواهد شد. مقدار  $v$  برای دقت میانی پیچیده‌تر است، اگر چه در این مثال کوچک‌تر از مقدار  $P-1$  یعنی 7 نخواهد شد (شکل C2 را ببینید). لذا با به کارگیری ANOVA یک توازن منطقی بین حجم کار و عدم قطعیت تخمین‌های دقت نیز ایجاد خواهد شد.

### پیوست D. نکاتی در مورد آنالیز کیفی

گرچه آنالیز کیفی نیز از اصول پایه آنالیز کمی پیروی می‌کند، با این حال هنگام توصیف خواص متد و تفسیر نتایج، لازم است از مفاهیم ویژه مربوط به آنالیز کیفی استفاده شود. این پیوست، آنالیز کیفی را به طور مختصر معرفی کرده و به راهنمای مرتبط نیز اشاره می‌کند.

آیوپاک آنالیز کیفی را به شکل زیر تعریف می‌کند: آنالیزی که در آن مواد بر اساس خواص شیمیایی یا فیزیکی، نظیر واکنش‌پذیری شیمیایی، محلولیت، وزن مولکولی، نقطه ذوب، خواص تابشی (نشر، جذب)، طیف‌های جرمی، نیمه‌عمر هسته‌ای و غیره شناسایی یا طبقه‌بندی می‌شوند [17]. این بدان معنی است که نتایج بر اساس مقیاس اسمی بیان می‌شوند که از نظر رتبه پایین‌تر از بیان نتایج بر اساس مقیاس نسبت است. لذا، برای اهداف غربال‌گیری که در آن‌ها از متدهای کم‌هزینه استفاده می‌شود و یا در غلظت‌های آنالیت نزدیک به حد تشخیص (LOD)، به جای آنالیزهای کمی عمدتاً آنالیزهای کیفی پیشنهاد می‌شوند.

یک «متد کیفی» در یک غلظت جدایش معین از یک آنالیت به طور مؤثر پاسخ‌های بله/خیر می‌دهد [55]. در اینجا صحنه‌گذاری شامل شناسایی غلظت جدایش به منظور طبقه‌بندی / تشخیص یک حالت شرطی، برای مثال، حضور یا غیاب یک آلایند در آب بر اساس یک قانون، دستور اجرایی و غیره می‌باشد و تعریف می‌کند که کدام غلظت جدایش می‌بایست برای آن به کار رود.

به منظور تعیین خواص یک متد کیفی، استفاده از یک متد کمی با خواص اندازه‌شناسی برتر (متد تأییدی)، برای مثال، با LOD کمتر، برای تعیین حالت واقعی همراه با یک شرط و یا بدون شرط مفید می‌باشد. خواص متد کیفی می‌بایست در غلظت‌های پایین و بالای غلظت جدایش تعیین شود. استفاده از یک متد کمی تأییدی، نسبت به استفاده از نمونه‌های بلانک نشانه‌دار و فاقد نشانه، ترجیح داده می‌شود.

دقت متدهای کیفی را نمی‌توان به شکل انحراف استاندارد یا انحراف استاندارد نسبی بیان کرد، بلکه آن را به شکل نرخ‌های مثبت غلط و درست و نرخ‌های منفی غلط و درست بیان می‌کنند [55, 56, 57, 58]. این حالت در شکل D1 نشان داده شده است.

	نمونه‌های بالایی جدایش	نمونه‌های پایینی جدایش	
آزمایش مثبت	آزمایش‌های مثبت درست	آزمایش‌های مثبت غلط (خطای تیپ I)	تعداد کل آزمایش‌های مثبت
آزمایش منفی	آزمایش‌های منفی غلط (خطای تیپ II)	آزمایش‌های منفی درست	تعداد کل آزمایش‌های منفی
	تعداد کل نمونه‌های بالایی جدایش	تعداد کل نمونه‌های پایینی جدایش	

شکل D1. جدول 2x2 که می‌تواند به عنوان مبنای محاسبه نرخ‌های منفی غلط و مثبت غلط به کار گرفته شود.

«حساسیت تشخیصی»، نسبت نمونه‌های با یک شرط، برای مثال، غلظت بالایی جدایش است که دارای نتایج آزمایش کیفی مثبت می‌باشد. حساسیت تشخیصی، یک ویژگی اصلی متد کیفی است که توانایی متد را برای تشخیص مقادیر ناچیز آنالیت در یک نمونه، جهت تولید پاسخ بله/خیر در یک سطح احتمال از پیش تعریف شده، بیان می‌کند.

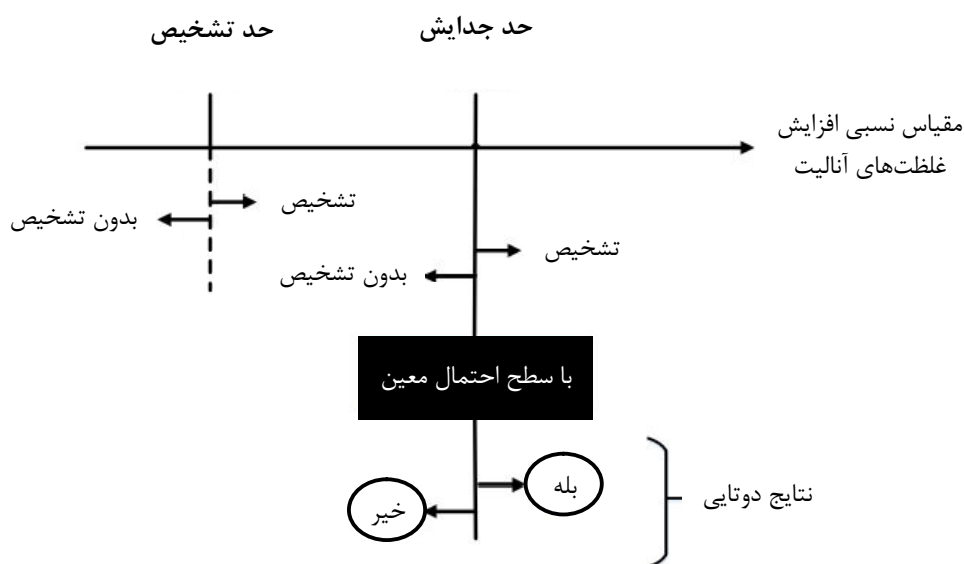
$$\text{حساسیت تشخیصی} = \frac{\text{تعداد نمونه‌های مثبت واقعی}}{\text{تعداد کل نمونه‌های مشروط}} \quad (\text{معادله D1})$$

«ویژگی تشخیصی»، نسبت نمونه‌های بدون شرط، برای مثال، غلظت زیر جدایش است که دارای نتایج آزمایش کیفی منفی می‌باشد.

$$\text{ویژگی تشخیصی} = \frac{\text{تعداد نمونه‌های منفی واقعی}}{\text{تعداد کل نمونه‌های بدون شرط}} \quad (\text{معادله D2})$$

در صورت دسترسی به داده‌های حاصل از مقایسه متد تأییدی، می‌بایست از آن‌ها استفاده شوند. در غیر این صورت، نمونه‌های بلانک نشانه‌دار و فاقد نشانه می‌توانند اندازه‌گیری شوند.

پارامترهای مهم کیفیت اندازه‌گیری در آنالیز کیفی، LOD و حد جدایش (شکل D2) می‌باشند. LOD شبیه آنالیز کمی تعریف می‌شود. یعنی غلظتی از آنالیت که سیگنالی را فراهم می‌کند که می‌تواند به صورت آماری از سیگنال میانگین نمونه‌های بلانک مرتبط تشخیص داده شود. چنانچه حد جدایش به درستی تعیین شود، نرخ‌های منفی غلط برای غلظت‌های بالای حد، در یک احتمال بیان شده، پایین خواهد بود. در صحنه‌گذاری، حد آستانه پیشنهادی در روش اجرایی مستند، ارزیابی می‌شود.



**شکل D2.** دو مرجع کمی در آنالیز کیفی وجود دارند که در طبقه‌بندی/تعیین کیفی نمونه یک پاسخ دوتایی ایجاد می‌کنند: ۱. حد تشخیص (LOD) که ذاتی متد است، ۲. حد جدایش روش اجرایی مستند. این دو در یک مقیاس غلظت فرضی افزایشی قرار می‌گیرند. در ناحیه تشخیص و بالاتر از حد تشخیص، به کمک حد جدایش می‌توان بین نواحی غلظت سازنده‌ای که در آن پاسخ دوتایی صحیح تولید می‌شود، یعنی پاسخ «خیر» زیر حدود و پاسخ «بله» بالای آن، تمایز قائل شد.

مفاهیم اضافی دیگری نیز در آنالیز کیفی استفاده می‌شوند (جدول D1). **مقادیر پیشگویانه** نتایج می‌توانند با افزایش شیوع غلظت بالای جدایش در نمونه‌های آزمایش شده با متد کیفی، برای مثال، از طریق منابع اطلاعاتی دیگر به غیر از متد شیمیایی کیفی، افزایش یابند. این حالت، به طور چشمگیری ارزش عملی متد اندازه‌گیری کیفی را بهبود خواهد بخشید.

**گزینه پذیرش متد کیفی**، یک مفهوم ترتیبی است: یعنی مقداری که تا آن حد، آنالیت‌هایی غیر از آنالیت مدنظر در تعیین ویژگی، در اجرای آنالیز مزاحمت ایجاد می‌کنند. این ویژگی اساسی متد، به صورت توانایی متد در ایجاد نتایجی که تحت تأثیر اثرات ماتریکس قرار نمی‌گیرند نیز تعریف می‌شود. هر اندازه گزینه پذیرش بهتر باشد، قطعیت شناسایی و طبقه‌بندی نمونه نیز بهتر خواهد شد.

جدول D1. تعریف و محاسبه مفاهیم توصیفی ویژگی‌های تشخیصی متدهای اندازه‌گیری، شامل متدهای اندازه‌گیری کیفی

فرمول‌ها	توصیف	مفهوم (نماد)
$LR^+ = \frac{\text{حساسیت تشخیصی}}{\text{ویژگی تشخیصی} - 1}$	نسبت نرخ مثبت واقعی به نرخ مثبت غلط	نسبت درست‌نمایی مثبت ( $LR^+$ )
$LR^- = \frac{1 - \text{حساسیت تشخیصی}}{\text{ویژگی تشخیصی}}$	نسبت نرخ منفی غلط به نرخ منفی واقعی	نسبت درست‌نمایی منفی ( $LR^-$ )
$DOR = \frac{LR^+}{LR^-}$	این مفهوم، حساسیت تشخیصی، ویژگی تشخیصی و نسبت‌های درست‌نمایی را در یک رقم تک ترکیب می‌کند.	نسبت بخت تشخیصی (DOR)
$PPV = \frac{\text{تعداد مثبت‌های واقعی}}{\text{تعداد کل مثبت‌ها}}$	نسبت نمونه‌های نتایج آزمایش کیفی مثبت مشروط. در اینجا شیوع حالت شرطی در جمعیت هدف نمونه‌ها لحاظ می‌شود.	ارزش پیشگویانه مثبت (PPV)
$NPV = \frac{\text{تعداد منفی‌های واقعی}}{\text{تعداد کل منفی‌ها}}$	نسبت نمونه‌های نتایج آزمایش کیفی منفی فاقد شرط. در اینجا شیوع حالت شرطی در جمعیت هدف نمونه‌ها لحاظ می‌شود.	ارزش پیشگویانه منفی (NPV)



## کتاب‌شناسی

برای دسترسی به مراجع مهم و به‌روز، لطفاً به فهرست منابع خواندنی یوراکم (Reading list) که در وب سایت یوراکم تحت عنوان انتشارات (publications) قرار دارد، مراجعه کنید.

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](http://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](http://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](http://www.ich.org).
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](http://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](http://www.rsc.org).
17. *Compendium of chemical terminology (IUPAC Gold Book)*, [www.iupac.org](http://www.iupac.org).
18. *Compendium of analytical nomenclature (IUPAC orange book)*, [www.iupac.org](http://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](http://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](http://www.eurachem.org).
23. Guide to method validation for quantitative analysis in chemical testing laboratories, INAB Guide PS15, 3 April 2012, [www.inab.ie](http://www.inab.ie). 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](http://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](http://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 R2 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.
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, ISBN 0-85404-736-0.
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.
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](http://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](http://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](http://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](http://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](http://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.



# The Fitness for Purpose of Analytical Methods

Second Edition - 2014

A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics