

KVALIMETRIE

18

Názvosloví analytického měření

Úvod do 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku

Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod

Eurachem



ZAOSTŘENO
NA ANALYTICKOU CHEMII
V EVROPĚ

Nový metrologický slovník, který známe pod označením VIM 3, je autoritativním dokumentem ve všech oblastech měření. Většina metrologických termínů však nemá pro chemická (analytická) měření příliš velký význam. EURACHEM a jeho pracovní skupina pro vzdělávání a výcvik (E&T WG) vypracovala dokument, ve kterém byly z VIM 3 vybrány některé termíny hojně používané v analytické chemii a v chemických měřeních. Metrologické termíny jsou doprovázeny výkladem, který je srozumitelný i pro pracovníky rutinních laboratoří. Český překlad dokumentu EURACHEM tvoří první část předkládané KVALIMETRIE 18. Ve druhé části uvádíme český překlad dokumentu AOAC, který je vhodným doplňkem validačních postupů uvedených v KVALIMETRII 9. Věříme, že nová publikace z řady KVALIMETRIE bude dobrou pomůckou pro české analytické laboratoře.

Miloslav Suchánek

Názvosloví analytického měření. Úvod do 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku

Přeloženo z Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3. (Vicki Barwick, Elisabeth Prichard, eds.). EURACHEM, First edition 2011.

Poděkování patří MŠMT za finanční podporu v rámci projektu LG 11010, která umožnila překladateli podílet se na vzniku a překladu tohoto dokumentu.

Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod

Přeloženo z How to Meet ISO 17025. Requirements for Method Verification. AOAC International Guide 2007.

Přeložili: David Milde a Zbyněk Plzák

K tisku připravil Ivan Koruna

Editoři: Miloslav Suchánek a David Milde

© EURACHEM-ČR, Praha 2013

© EURACHEM 2011. Autorská práva k Pokynu EURACHEM jsou majetkem členů pracovní skupiny EURACHEM pro vzdělávání a výcvik (E&T WG).

© AOAC 2009.

Vydal EURACHEM-ČR, Technická 5, Praha 6. IČ 48550400
www.eurachem.cz

ISBN 80-86322-06-8

OBSAH

Názvosloví analytického měření

ÚVOD A ZAMĚŘENÍ	7
Úvod	7
Zaměření	8
POZNÁMKY PRO ČTENÁŘE	9
1. OBECNÁ METROLOGIE	11
1.1 Metrologie	11
1.2 Veličina	11
1.3 Jmenovitá vlastnost	11
1.4 Hodnota veličiny	11
1.5 Jmenovitá hodnota veličiny	12
1.6 Referenční hodnota veličiny	12
1.7 Soustava veličin	13
1.8 Mezinárodní soustava veličin	13
1.9 Měřicí jednotka	13
1.10 Měření	14
1.11 Měřená veličina	14
1.12 Postup měření	15
1.13 Referenční postup měření	16
1.14 Primární referenční postup měření	16
1.15 Výsledek měření	16
1.16 Naměřená hodnota veličiny	17
1.17 Chyba měření	17
1.18 Indikace	17
1.19 Měřidlo (měřicí přístroj)	18
1.20 Měřicí systém	18
1.21 Metrologická srovnatelnost výsledků měření	18
1.22 Metrologická slučitelnost výsledků měření	18
2. METROLOGICKÁ NÁVAZNOST	21
2.1 Metrologická návaznost	21
2.2 Kalibrace	24
2.3 Drift měřidla	25
2.4 Etalon (standard měření)	25
2.5 Kalibrátor	26
2.6 Komutabilita referenčního materiálu	27
3. NEJISTOTA MĚŘENÍ	29
3.1 Nejistota měření	29
3.2 Bilance nejistoty	30
4. VALIDACE A VÝKONNOST METODY	33
4.1 Ověřování (verifikace)	33

4.2 Validace	33
4.3 Měřicí interval	33
4.4 Mez detekce	34
4.5 Selektivita měřicího systému	35
4.6 Pravdivost měření	35
4.7 Preciznost měření	36
4.8 Přesnost měření	37
PŘÍLOHA	39
LITERATURA	42

Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod

ÚČEL	47
PŘEDMĚT A PŘÍSTUP K ŘEŠENÍ	47
CHEMICKÉ METODY	48
Kategorie chemických metod	48
Požadavky na verifikaci šesti kategorií chemických zkušebních metod (tabulky 2-6)	48
POUŽITÍ NEJISTOTY MĚŘENÍ PŘI VERIFIKACI METODY CHEMICKÝCH ZKOUŠEK	52
MIKROBIOLOGICKÉ METODY	52
VŠEOBECNÉ POŽADAVKY (pro chemické a mikrobiologické metody)	55
Všeobecné požadavky – specifčnost	55
VÝBĚR METOD „VHODNÝCH PRO DANÝ ÚČEL“	56
NAHODILÉ ZMĚNY/ODCHYLKY OD VALIDOVANÉ METODY	56
LÉČIVA	56
POTRAVINY	58
DEFINICE	58
Přesnost	58
Mezilehlá preciznost	58
Opakovatelnost	59
Opakovatelnost	59
Reprodukovatelnost	59
Reprodukovatelnost	59
Standardní metoda	60
Validovaná metoda	60
Verifikace/Ověřování	60
Verifikace/Ověřování	61



Názvosloví analytického měření

Úvod do VIM 3

První vydání 2011

Editoři

Vicki Barwick (LGC, UK)
Elizabeth Prichard (UK)

Složení pracovní skupiny

Autoři

Vicki Barwick	LGC, UK
Bertil Magnusson	SP Technical Research Institute of Sweden
Ulf Örnemark	LGC Standards, Sweden
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanità, Italy
Elizabeth Prichard	UK

Recenzenti

Jens Andersen	Technical University of Denmark
O. Yavuz Ataman	Middle East Technical University, Turkey
Zbigniew Dobkowski	Eurachem Poland
Steve Ellison	LGC, UK
Anders Kallner	Karolinska Hospital, Sweden
David Milde	Palacký University in Olomouc, Czech Republic
Viliam Pätoprstý	Slovak Institute of Metrology
Peter Rooney	UKAS, UK
Lorens Sibbesen	Lab Quality, Denmark
Kyriacos Tsimillis	Pancyprian Union of Chemists, Cyprus

Poděkování

Tento dokument byl vytvořen členy Pracovní skupiny EURACHEM pro vzdělávání a výcvik, a dalšími kooptovanými za tímto účelem do pracovní skupiny. Všichni kdo přispěli k tomuto dílu jsou uvedeni vpravo.

Vytvoření tohoto pokynu bylo zčásti podpořeno UK National Measurement System National Measurement System a Valid Analytical Measurement (VAM).

ÚVOD A ZAMĚŘENÍ

Úvod

Ve světě metrologie – vědě o měření a jeho aplikacích – existuje jazyk, který je nutné se naučit. Mezinárodní metrologický slovník (VIM) byl původně vytvořen pro oblast fyzikálních měření, aby zajistil společnou terminologii. Třetí vydání (Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (v tomto pokynu označován jako VIM 3)) vytvořila pracovní skupina WG2 Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM). Bylo publikováno jako ISO Guide 99 [1] i jako dokument JCGM 200:2008, který je zdarma přístupný na webových stránkách BIPM [2]. Oprava tiskových chyb v JCGM 200:2008 vyšla v květnu 2010 [3]. Mezi VIM 3 a dřívějšími vydáními existuje mnoho rozdílů; jeden důležitý je zaznamenán v názvu, a to přidání slova *pojmy*. VIM 3 je konzistentní sadou pojmů; každý je popsán jedinečným termínem – *jmenovkou* pojmu. VIM 3 lze použít ve **všech** vědních oborech, což jej činí platným i pro ty, kteří se zabývají měřeními v chemii a biologii. Konzistentní definice pojmů spolu s jejich termíny a symboly jsou nezbytné, mají-li si analytici a jejich zákazníci po celém světě vzájemně rozumět.

Vědci z různých oborů často používají různá slova pro stejný pojem. To činí mezioborové dialogy velmi obtížné a matoucí. Je zapotřebí společného jazyka, který je jasný a jednoznačný. Když se učíme nový jazyk, je první věcí osvojit si slovní zásobu; ta se pak rozšiřuje s časem. Kdokoliv se učí nový jazyk ví, že v každém jazyce je řada zvláštností od slov majících různé významy podle kontextu po slova, jež znějí stejně, ale píšou se jinak a mají zřejmě odlišný význam. V angličtině je *standard* často citovaným příkladem slova s mnoha významy. Aby takováto slova nevedla k chybám zejména u těch, pro něž angličtina není mateřským jazykem, je zapotřebí detailní znalost jazyka. Nejednoznačná terminologie je také problémem pro překladatele a může být nepřímo překážkou obchodu.

Proč potřebujeme *návod* k VIM 3 pro analytiky?

1. VIM je normativní dokument pro mnoho mezinárodních norem a pokynů, například norem, o něž se opírá akreditace laboratoře, jako jsou ISO/IEC 17025 [4] a ISO/IEC 17043 [5], či mezinárodní pokyny včetně ISO Guide 34 [6] a 35 [7]. Definice z druhého vydání Mezinárodního metrologického slovníku [8] jsou použity v ISO 15189 [9].
2. Ti, kdo se podílí na vzdělávání, poznali, že často existují mnohé nejasnosti ohledně pojmů a termínů. A navíc rigorózní definice jsou často psány obtížně pochopitelným jazykem. To platí i pro experimentální vědecké pracovníky, dokonce i pro překlady definic z angličtiny nebo francouzštiny do národního jazyka.
3. Ve snaze zahrnout chemická a biologická měření došlo ve VIM 3 k některým podstatným terminologickým změnám.
4. Pro zpřístupnění VIM 3 analytikům pracujícím v oblasti chemických a biologických měření bylo třeba začlenit související a doplňující příklady, které uvádějí pojmy do vztahu s chemickými a biochemickými měřeními.

Všechny jazyky používají některá slova v několika odlišných významech, což při konverzaci mezi různými národnostmi zvyšuje nedorozumění. Jak již bylo zmíněno, slovo *standard* je takovým pří-

kladem v angličtině, ale spletitějším případem je anglické slovo *quantity*. Při rozhovoru můžeme říci „množství (quantity) vzorku je 5 g“ To může být přijatelné v každodenním životě. Použití tohoto pojmu ve VIM 3 je však specifitější. Co bychom měli říci či napsat je, že „hmotnost vzorku je 5 g“. V metrologii slovo *quantity* (přeloženo jako množství) není synonymem anglického *amount* (množství) a takto nebylo ani definováno v předchozích vydáních VIM. *Veličina* (překlad anglického *quantity* ve VIM 3) je všeobecný pojem pro záležitosti, které měříme, např. délku, hmotnost, čas a koncentraci. Validace a verifikace/ověřování představují další dvojici slov, jejichž definice se ve VIM 3 se na rozdíl od běžného používání v analytických laboratořích změnila, i když činnosti prováděné v rámci těchto aktivit v laboratoři zůstávají stále stejné.

Tento pokyn EURACHEM obsahuje vysvětlení vybraných pojmů a uvádí další příklady navíc k příkladům uvedeným v poznámkách k definicím ve VIM 3. Slova definovaná ve VIM 3 jsou v textu zvýrazněna a je připojen číselný odkaz na pojem ve VIM 3. Vztahy mezi pojmy jsou ve VIM 3 znázorněny ve dvanácti schématech, která pomáhají seskupit pojmy v tomto pokynu do skupin. Tento pokyn objasňuje, jak jsou termíny a definice související s jednotlivými pojmy propojeny jeden s druhým, ať uvnitř skupin nebo mezi nimi. Pojmy, vyskytující se v tomto pokynu, jsou vyjmenovány v tabulce v příloze a v textu jsou uspořádány do následujících kapitol: Obecná metrologie, Metrologická návaznost, Nejistota měření a Validace a výkonnost metody.

Zaměření

Záměrem tohoto pokynu EURACHEM je obsáhnout vybrané pojmy VIM 3, se kterými se nejpravděpodobněji setkáme v analytických laboratořích. Cíleně pokrývá oblast chemických, biologických i klinických měření. Pokyn je určen laboratornímu personálu, akreditačním orgánům, zadavatelům měření a těm, kdo výsledky měření používají. Tento pokyn může též být prospěšný přednášejícím a učitelům při výuce metrologie.

POZNÁMKY PRO ČTENÁŘE

Všechny pojmy definované ve VIM 3 jsou v textu uvedeny **tučně**. Termíny použité v tomto pokynu jsou vyjmenovány v tabulce v příloze. Je-li v tomto pokynu zahrnuta úplná definice pojmu z VIM 3, je u definice uvedené v rámečku číselný odkaz, ten se pak neuvádí při každém dalším výskytu pojmu v textu. Jsou-li v textu použity další termíny z VIM 3 bez definice, je číselný odkaz na VIM 3 uveden při prvním výskytu termínu v kapitole. VIM 3 dovoluje pro jeden pojem více termínů. Je-li ve VIM 3 použit více než jeden termín, preferuje se první termín a je v tomto pokynu používán, pokud je to možné.

Pokyn přihlíží k dodatkům zveřejněným v opravách tiskových chyb v JCGM 200:2008 [3].

Uvozovky („ „“) se používají jak pro zdůraznění, tak i pro citování, které je vždy doplněno odkazem. Jako desetinné znaménko je v tomto překladu používána desetinná čárka. Pokud slovo „slovník“ odkazuje na VIM 3 nebo jeho předchozí vydání, je použito velké S, tedy Slovník.

Obecný termín koncentrace je používán sám o sobě, tj. neodborně, když je zapotřebí všeobecnost. Představuje skupinu termínů zahrnujících hmotnostní zlomek, hmotnostní koncentraci, látkovou koncentraci, atd.

Uznávanou základní SI jednotkou délky je metr, objem by měl být vyjadřován v m³ a jeho násobcích a desetinných podílech, tj. 1 litr = 1 dm³. Vzhledem k tomu, že litr je přijatá jednotka, je používán i v tomto pokynu a značen l.

V tomto pokynu jsou použity následující zkratky a symboly.

Zkratky

BIPM	International Bureau of Weights and Measures – Mezinárodní úřad pro váhy a míry
CCQM	Consultative Committee for Amount of Substance – Metrology in Chemistry – Poradní výbor pro látkové množství při Mezinárodním úřadu pro váhy a míry
CGPM	The General Conference on Weights and Measures – Generální konference pro váhy a míry
CITAC	Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry – Spolupráce v mezinárodní návaznosti v analytické chemii
CRM	certified reference material – certifikovaný referenční materiál
ERM [®]	European Reference Material – evropský referenční materiál
GC-FID	plynová chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
IEC	International Electrotechnical Commission – Mezinárodní elektrotechnická komise
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny
ISO	International Organization for Standardization – Mezinárodní organizace pro normalizaci
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry – Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii

JCGM	Joint Committee for Guides in Metrology – Společný výbor pro pokyny v metrologii
JCTLM	Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine – Společný výbor pro návaznost v laboratorní medicíně
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LOD	limit of detection – mez detekce
LOQ	limit of quantification – mez stanovitelnosti
NIST	National Institute of Standards and Technology – Národní ústav pro standardy a technologie
NMI	National Metrology (Measurement) Institute – národní metrologický úřad
pp'-DDE	p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene – p,p'-dichlordifenylchloroethylen
PT	proficiency testing – zkoušení způsobilosti
RM	reference material – referenční materiál
SI	Mezinárodní soustava jednotek
SOP	standard operating procedure – standardní pracovní postup
SRM®	Standard Reference Material – označení pro certifikovaný referenční materiál, užívané NIST
VIM	International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms – Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny
VSMOW	Vienna Standard Mean Ocean Water
WHO	World Health Organisation – Světová zdravotnická organizace
XRF	rentgenová fluorescenční spektrometrie

Symboly

α	pravděpodobnost chyby 1. druhu (falešně pozitivní)
β	pravděpodobnost chyby 2. druhu (falešně negativní)
ρ	hmotnostní koncentrace
k	koeficient rozšíření
s	směrodatná odchylka
u	standardní nejistota měření
U	rozšířená nejistota měření

1. OBECNÁ METROLOGIE

1.1 Metrologie

věda o měření a jeho aplikaci (VIM 2.2)

Metrologie zahrnuje všechny teoretické a praktické stránky **měření** ve všech oblastech včetně rutinního měření. Používá se v analytických vědních oborech, biologickém a klinickém měření, bez ohledu na relativní velikost **nejistoty měření**.

1.2 Veličina

vlastnost jevu, tělesa nebo látky, která má velikost, jež může být vyjádřena jako číslo a reference (VIM 1.1)

Veličina je v **metrologii** klíčovým pojmem, který se používá ve všech vědních oborech zabývajících se **měřením** a je proto prvním termínem definovaným ve VIM 3 [1]. Definice označuje **veličinu** jako jakoukoliv vlastnost, která má rozměr (velikost), jež může být vyhodnocena měřením. Některé z termínů, jež souvisí s **veličinou**, znázorňuje obrázek 1.

Existuje mnoho druhů **veličin** včetně hmotnosti, objemu, rychlosti, elektrického proudu a průtoku. V každodenním životě se zajímáme o určité případy **veličin** (dříve byly označovány jako „specifické veličiny“) [8], např. objem benzínu natankovaného do auta, rychlost mého auta před tím, než mě zastavila policejní hlídka, početní koncentrace červených krvinek ve vzorku krve odebrané včera panu Novákovi.

Popis (specifické) **veličiny**, kterou se chystáme měřit (nazýváme ji také **měřená veličina**), je první částí každého **měření**.

1.3 Jmenovitá vlastnost

vlastnost jevu, tělesa nebo látky, kde vlastnost nemá velikost (VIM 1.30)

Současná definice **veličiny** zřejmě vylučuje vlastnosti, které mohou být popsány pouze slovy, přestože nesou užitečnou informaci. Takovými vlastnostmi jsou barva kapkové zkoušky v chemii (např. domácí těhotenský test), nebo sekvence molekul (např. aminokyselin v polypeptidu, nukleotidů ve fragmentu DNA). Takové důležité vlastnosti, které nemají velikost, Slovník připouští a označuje je termínem **jmenovitá vlastnost**. V analytické chemii se často pro popis zkoušek na **jmenovité vlastnosti** používá termín kvalitativní analýza.

Lze měřit **veličinu** (viz definici **měření**), přičemž získání informace o **jmenovité vlastnosti** není **měřením**. Vhodným termínem je *vyšetření*. Nicméně v ISO 15189 se termín „vyšetření“ používá jak pro určení **jmenovité vlastnosti**, tak i pro **postup měření** [9].

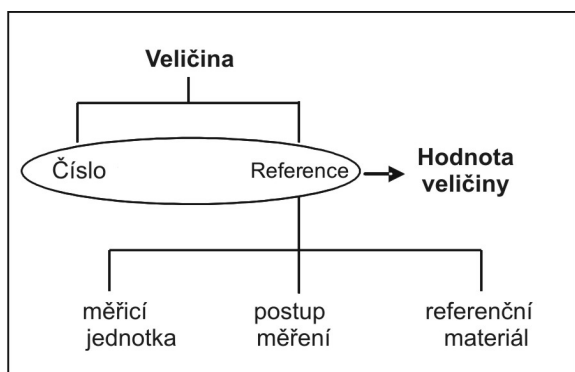
1.4 Hodnota veličiny

číslo a reference společně vyjadřující velikost **veličiny** (VIM 1.19)

Velikost **veličiny** je vyjádřena jako číslo spolu s **měřicí jednotkou** a je-li to vhodné, dodatečným odkazem na **postup měření** nebo **referenční materiál** (VIM 5:13).

Uvažujme příklad z oblasti chemického **měření**. Udává se hmotnostní koncentrace olova ve vzorku nátěrové hmoty rovnající se $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. V tomto případě je „hmotnostní koncentrace olova v nátěrové hmotě“ specifickou **veličinou** (**měřenou veličinou**). Velikost veličiny je $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, kde 10 je číslo a $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ je referencí (**měřicí jednotkou**). Při použití empirické metody, např. stanovení obsahu vlákniny ve snída-

ňových cereáliích, je referencí **měřicí jednotka** spolu s použitým **postupem měření**.



Obrázek 1: Některé termíny související s kvalitou. Příklad: veličinou je hustota, hodnota veličiny by mohla být $1,213 \text{ kg}\cdot\text{l}^{-1}$, kde 1,213 je číslo a $\text{kg}\cdot\text{l}^{-1}$ je reference, v tomto případě měřicí jednotka.

V klinické chemii se **hodnota veličiny** aktivity šarže antikoagulačního faktoru VIII extrahovaného z lidské krve vztahuje k příslušnému **referenčnímu materiálu**, který je periodicky připravován a schvalován WHO a je znám jako mezinárodní etalon WHO.

1.5 Jmenovitá hodnota veličiny

zaokrouhlená nebo přibližná **hodnota** charakterizující **veličinu**, která poskytuje vodítko pro příslušné použití **měřidla** nebo **měřicího systému** (VIM 4.6)

Slovo „jmenovitá“ se ve VIM 3 používá v odlišném významu u **jmenovité hodnoty veličiny** a u **jmenovité vlastnosti** (viz odstavec 1.3).

Odměrná baňka může být označena ryskou 100 ml, což je její **jmenovitá hodnota veličiny** (běžně se označuje jako jmenovitá hodnota). Skutečná hodnota objemu této konkrétní baňky nemusí být přesně 100,00 ml, ale bude v intervalu, který odpovídá třídě přesnosti odměrného skla. Má-li například baňka třídy A toleranci 0,10 ml, skutečný objem bude v intervalu od 99,90 ml do 100,10 ml.

1.6 Referenční hodnota veličiny

hodnota veličiny používaná jako základ pro porovnání s hodnotami **veličin stejného druhu** (VIM 5.18)

Mnoho rozdílných druhů materiálů a zařízení může mít **referenční hodnotu veličiny** a přidruženou **nejistotu měření**. Následuje několik příkladů:

- **Hodnota veličiny**, uvedená v certifikátu **certifikovaného referenčního materiálu (CRM)** (VIM 5.14) s přidruženou **nejistotou měření**, je **referenční hodnota veličiny** pro konkrétní vlastnost, ke které se vztahuje. Tato hodnota se může použít pro **kalibraci měřidla**, které následně může být použito pro stanovení hodnoty **veličin** stejného druhu (VIM 1.2) (viz odstavec 1.9.1).
- Pokud je skleněný rtuťový teploměr kalibrován pomocí standardního teploměru v kalibrační laboratoři s využitím **referenčního postupu měření**, pak hodnoty poskytnuté standardním teploměrem představují **referenční hodnoty veličiny**.
- Analytici používají vztažnou hodnotu CRM jako **referenční hodnotu veličiny** pro odhad **pravdivosti postupu měření**.
- Hodnoty série roztoků o známé koncentraci analyzované k sestrojení **kalibračního diagramu** (VIM 4.30) představují **referenční hodnoty veličiny**.
- Za účelem posouzení způsobilosti personálu a laboratoří lze od personálu vyžadovat analyzování vzorků se známými vztažnými hodnotami. Vztažnou hodnotou vzorku může být **hodnota veličiny** získaná buď z předchozích analýz zkušenějšího personálu nebo zkušenějších laboratoří, nebo z předchozích cyklů zkoušení způsobilosti, nebo z certifikátu, pokud je vzorkem **certifikovaný referenční materiál**. V této souvislosti je vztažná hodnota, přiřazená ke kterémukoliv z těchto materiálů, považována za **referenční hodnotu veličiny**.

1.7 Soustava veličin

soubor **veličin** spolu se souborem navzájem si neodporujících rovnic týkajících se těchto veličin (VIM 1.3)

Pro praxi je užitečné definovat soubor **veličin**, od kterých mohou být všechny ostatní **veličiny** odvozeny. Takovýto soubor nazýváme **soustava veličin**.

V jakékoliv **soustavě veličin** představují **základní veličiny** (VIM 1.4) soubor, ve kterém se veličiny definičně považují za vzájemně nezávislé – nemohou být popsány kombinací jiných **základních veličin**. Tyto **veličiny** se volí dohodou. Platí i jiné volby za předpokladu, že vyhovují definici.

Dohodnuta a přijata byla však konkrétní soustava veličin. Metrická konvence vytvořila stálou organizační strukturu, aby mohly členské státy jednat ve shodě ve všech záležitostech týkajících se **měřících jednotek**. To vedlo k vytvoření Mezinárodního úřadu pro váhy a míry (BIPM). Sedm **základních veličin**, dohodnutých a definovaných na Všeobecné konferenci pro váhy a míry (CGPM), nazvaných **Mezinárodní soustava veličin** [11], uvádí tabulka 1.

1.8 Mezinárodní soustava veličin

soustava veličin založená na sedmi **základních veličinách**: délce, hmotnosti, času, elektrickém proudu, termodynamické teplotě, látkovém množství a svítivosti (VIM 1.6)

Definice jednotek odpovídajících **základním jednotkám** (VIM 1.4) je velice důležitá, protože tvoří základ celé **soustavy jednotek** (VIM 1.13). **Mezinárodní soustava jednotek** (1.16) **SI** byla přijata jako jediná legální **soustava jednotek** v Evropské unii [11,12]. **Základní veličiny** a jim odpovídající **základní jednotky** (VIM 1.10) uvádí tabulka 1. Definice **základních jednotek** lze nalézt v literatuře 11 a 12.

Mnoho dalších **veličin** v rámci **SI** lze vyjádřit pomocí vztahů základních veličin. Nazývají se **odvozené veličiny** (VIM 1.5). Definice **odvozených jednotek** (VIM 1.11) pomocí **základ-**

ních jednotek vyplývají z rovnic definujících **odvozené veličiny** ze **základních veličin**. Například **odvozenou veličinou** je hustota:

$$\text{hustota} = \frac{\text{hmotnost}}{(\text{délka})^3}$$

Měřicí jednotku (odvozenou jednotku) získáme aplikací stejného vzorce na jednotky, tedy $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$, často psáno jako kg/m^3 nebo $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

Tabulka 1: Základní veličiny a základní jednotky

Základní veličina	Základní jednotka (značka)
délka	metr (m)
hmotnost	kilogram (kg)
čas	sekunda (s)
elektrický proud	ampér (A)
termodynamická teplota	kelvin (K)
látkové množství	mol (mol)
svítivost	kandela (cd)

Častou chybou je zaměňování **veličin** a jejich **měřících jednotek**. Je třeba mít na paměti, že zatímco **veličina** je měřitelná vlastnost jevu, tělesa nebo látky (např. hmotnost), **měřicí jednotka** (např. kilogram) je volena konvencí jako reference, ke které měření vlastnosti vztahuje-me.

1.9 Měřicí jednotka

reálná skalární **veličina**, definovaná a přijatá konvencí, se kterou může být porovnávána jakákoliv jiná veličina stejného **druhu** vyjádřením podílu dvou veličin jako čísla (VIM 1.9)

Koncept **měřicí jednotky** je nám všem dobře znám. Způsob oceňování mnoha výrobků je uvedení ceny za dohodnutou jednotku, např. cena potravin je za kg, u benzínu je cena udávána za litr [10]. Řekneme-li, že hmotnost jablka je 0,15 kg, znamená to, že jeho hmotnost je 0,15krát násobek hmotnosti mezinárodního prototypu kilogramu. *Hmotnost mezinárodního prototypu kilogramu* je **měřicí jednotkou**. K získání čísla 0,15 je třeba porovnat hodnotu

udanou pro jablko s hodnotou udanou pro referenční hmotnost, tedy s hmotností použitou při kalibraci vah. Referenční hmotnost se pak srovnává s kilogramem. Výsledek jakéhokoli takového porovnání se vyjadřuje jako poměr získané **indikace** k hodnotě **veličiny** stejného **druhu** (VIM 1.2).

1.9.1 Veličiny stejného druhu

Klasifikace **veličin** stejného **druhu** je vcelku libovolná, ale všeobecně se uznává princip, že lze srovnávat pouze podobné položky. **Veličiny** stejného **druhu** budou mít stejnou jednotku, ale dvě **hodnoty veličiny** se stejnou jednotkou nemusí být stejného **druhu**. Jednotka hustoty a hmotnostní koncentrace je $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$, ale tyto **veličiny** nejsou stejného **druhu**. **Měřicí jednotka** frekvence i aktivity radionuklidu je s^{-1} , ale nejedná se o **veličiny** stejného **druhu**. Jednotky obou veličin z příkladu mají své názvy, hertz (Hz) a becquerel (Bq).

Příklad hmotnosti jablka byl jednoduchý, protože se porovnávaly **veličiny** stejného **druhu**. Někdy není možné získat **hodnotu veličiny** porovnáním s **veličinou** stejného **druhu**, např. kvůli neúplnému porozumění **měřené veličině** nebo složitosti faktorů, které ovlivňují měřicí proces a jeho výsledek. Příkladem takové **měřené veličiny** je obsah vlákniny v potravinách. Nicméně je stále možné porovnat výsledky takové **měřené veličiny** za předpokladu, že byly získány stejným nebo prokazatelně ekvivalentním **postupem měření**. V takovém případě je nutné připojit odkaz na **postup měření** (včetně detailů o čistotě chemikálií, **kalibrátoru**, atd.), který byl použit k získání **hodnoty veličiny**.

1.10 Měření

proces experimentálního získávání jedné nebo více **hodnot veličiny**, které mohou být důvodně přiřazeny **veličině** (VIM 2.1)

Měření je řada činností (kroků, fází) prováděných definovaným způsobem. Některá **měření** jsou v jednom kroku, jiná mají mnoho fází. Vzhledem k tomu, že se na **měření** někdy pohlíží jako na množství indikované přístrojem, může zde docházet ke sporům. Jasně však je, že **měření** se vztahuje k *celému* postupu získání

hodnoty veličiny a nesmí se vztahovat pouze k získané numerické hodnotě.

1.10.1 Co je a co není „měření“

V analytických vědních oborech podstupuje vzorek podrobovaný analýze často sérii chemických anebo fyzikálních operací se záměrem převést ho na formu, ve které může být předložen do **měřidla** (měřicího přístroje). Tyto kroky považujeme za součást měřicího postupu. Někdy může tento postup zahrnovat i vzorkování.

Hodnota veličiny se vyjadřuje jako číslo a reference vyjadřující velikost **veličiny**. Znamená to, že postup spočívající v počítání položek je **měření**? Odpověď je ano, protože výsledek je kvantitativní a referencí je postup počítání. Ale vizuální prohlídka vzorku k zjištění jeho barvy není **měření**, ale „*zkoumání*“, protože **měření** se nevztahuje na **nominální vlastnosti**. (Naproti tomu použití spektrofotometru k zaznamenání nějaké vlastnosti vztahující se k barvě vzorku, např. absorbance při konkrétní vlnové délce je **měřením**.)

1.10.2 Příprava před měřením

Před měřením je nutné jasně definovat **veličinu** a mít na paměti účel, pro který je požadován experimentální výsledek. **Veličina**, na kterou se odkazujeme, je **měřená veličina**. Aby byl **výsledek měření** vhodný pro daný účel, potřebujeme validovaný **postup měření** a ten musí být použit v kalibrovaném **měřicím systému**. V těchto souvislostech znamená „vhodný pro daný účel“, že **postup měření** měří to, co má být měřeno a **výsledek měření** má přijatelnou **nejistotu**.

1.11 Měřená veličina

veličina, která má být měřena (VIM 2.3)

Za touto jednoduchou definicí se toho skrývá velmi mnoho. **Měřená veličina** je popisem určité **veličiny**, kterou máme v úmyslu měřit. Abychom zabránili jakékoliv nejasnosti, je třeba **měřenou veličinu** určit dostatečně podrobně. Analytik by si měl uvědomit, že **měřená veličina** není jen jiné označení analytu. Analyt je složka představovaná názvem měřitelné **veličiny**, zatímco **měřená veličina** se vztahuje

k určité **veličině**, u které se **měřením** přiřadí **hodnota veličiny**. Podívejme se na dva příklady **veličin** měřených v klinické chemii [13]:

- hmotnost proteinu v moči za 24 hodin,
- látková koncentrace glukózy v plazmě.

V obou případech představuje výrok **měřenou veličinu**. Analyty jsou protein a glukóza.

Definice **měřené veličiny** je rozhodující, aby byl **výsledek měření** vhodný pro zamýšlené použití. Měla by obsahovat všechny důležité parametry a podmínky. Na příklad má-li se objem kapaliny odměřovaný pipetou stanovit vážením, musí specifikace **měřené veličiny** obsahovat alespoň druh používané kapaliny a teplotu, při které se má **měřit**. U chemických a biologických analýz vyžaduje specifikace **měřené veličiny** popis **veličiny** (např. hmotnostní zlomek, látková koncentrace), analyt, a je-li to relevantní i matrici, i když není možné analyt úplně chemicky definovat:

PŘÍKLAD 1. Hmotnostní zlomek ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) dimetridazolu v krmivu.

PŘÍKLAD 2. Látková koncentrace ($\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) sodíku v séru.

Při **měření** hmotnostního zlomku kadmia ve vzorku půdy se musí jako součást definice **měřené veličiny** uvádět podmínky sušení (např. $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 2 hodin), protože mají vliv na uváděný výsledek. Může být zapotřebí uvést popis **postupu měření** ještě podrobněji a stanovit, zda se **výsledek měření** vztahuje na laboratorní vzorek nebo na celé množství (např. šarži krmiva, celé jezero). V jiných případech může být **měřená veličina** definována pouze s odkazem na dohodnutý empirický **postup měření** (standardní metodu), např. **měření** extrahovatelného tuku ve vzorku masa bude silně záviset na použitém extrakčním činidle a podmínkách extrakce. Takto „pracovně definované“ **měřené veličiny** jsou stále vhodné pro porovnání výsledků a rozhodování za předpokladu přísného dodržování dohodnutého **postupu měření**.

1.12 Postup měření

podrobný postup **měření** podle jednoho nebo více **měřicích principů** a dané **metody měření** založený na **modelu měření** a zahrnující jakýkoliv výpočet k získání **výsledku měření** (VIM 2.6)

Popis, jak se **měření** provádějí, vyžaduje informace na několika úrovních, přičemž nejuplněnější je **postup měření**, který zahrnuje vše ostatní.

Provádět **měření** vyžaduje porozumět **měřicímu principu** (VIM 2.4), tedy jevu, jenž je podstatou **měření**. V následujících příkladech je princip uveden v závorce.

- Vázkové stanovení množství chemické sloučeniny vysrážené z kapalného vzorku s využitím definované chemické reakce (gravimetrie).
- Stanovení látkové koncentrace sloučeniny v daném vzorku, ať už přímo měřením absorbance při dané vlnové délce nebo nepřímo měřením tak zvané „náhradní veličiny“, jako je absorbance komplexu vzniklého definovanou chemickou reakcí (spektrofotometrie).
- Stanovení koncentrace sloučeniny pomocí její schopnosti navázat se permanentně na specifickou protilátku nesoucí značku (imunochemie).

Stejný **princip měření** může být použit u různých **metod měření** (VIM 2.5), například používajících odlišné techniky (plamenová nebo elektrotermická atomizace v atomové absorpční spektrometrii) nebo kalibračních technik (vnější kalibrace nebo metoda standardního přídatku). **Metoda měření** vyžaduje všeobecně použitelný popis použitých operací.

Postup měření je poslední a nejuplněnější úroveň popisu **měření**. Musí být dostatečně podrobný, aby umožnil přiměřeně vyškolené osobě provést **měření**. V některých laboratořích může být **postup měření** obsažen v jednom nebo více standardních operačních postupech (SOP). V normě ISO/IEC 17025 [4] se pro **postup měření** používá jiný pojem, „zkušební metoda“. Je však třeba poznamenat, že se požadavky normy vztahují jak na **měření**, tak i na zkoumání. Jak již bylo zmíněno dříve, používá norma

ISO 15189 [9] pojem „vyšetření“ pro stanovení **jmenovité vlastnosti** i pro **postup měření**. V normě ISO/IEC 17025 zahrnuje zkušební metoda také, kde je to relevantní, aspekty vzorkování, manipulace, transportu, skladování a přípravy položek, jež mají být zkoušeny nebo kalibrovány. Avšak vyšetření podle ISO 15189 nezahrnuje vzorkování, které je součástí postupů předcházejících vyšetření, obsažených v odstavci 5.4 normy.

Postup měření zahrnuje popis, jak se získávají a uvádějí **výsledky měření**, včetně všech výpočtů. **Výsledek měření** se obvykle vyjadřuje jako jediná **naměřená hodnota veličiny** a **nejistota měření**. **Postup měření** by měl zahrnovat odhad **nejistoty měření**, který se může používat při uvádění **výsledků měření**.

Existují dva druhy **postupu měření** obsažené ve dvou oddělených konceptech, a to **referenční postup měření** a **primární referenční postup měření**.

1.13 Referenční postup měření

postup měření přijatý jako postup poskytující výsledky měření způsobilé pro jejich zamýšlené použití při hodnocení **pravdivosti měření naměřených hodnot veličiny** získaných jinými postupy měření veličin stejného **druhu** při **kalibraci** nebo při charakterizaci **referenčních materiálů** (VIM 2.7)

Referenční postupy měření jsou dobře popsané a obvykle mají velmi malou **nejistotu měření**. Například v klinickém sektoru se od výrobců, kteří chtějí být v souladu se směrnicí pro in vitro diagnostiku [14] vyžaduje, aby používali **referenční postupy měření** nebo **certifikované referenční materiály** (VIM 5.14) k prokázání **metrologické návaznosti** hodnot přiřazených **kalibrátorům**. Společný výbor pro návaznost v laboratorní medicíně (JCTLM) vyjmenovává **referenční postupy měření** [15], např. referenční metodu NIST LC-MS pro stanovení kortizolu v krevním séru [16]. **Primární referenční postup měření** zaujímá nejvyšší pozici v hierarchii metrologického řádu.

1.14 Primární referenční postup měření

referenční postup měření používaný k získání výsledku měření bez vztahu k etalonu (standardu) pro veličinu stejného druhu (VIM 2.8)

Primární referenční postupy měření (také známé jako primární metody měření) umožňují stanovení **hodnoty veličiny** přímým odkazem na definici její **měřicí jednotky** či na základní konstanty. Vzhledem k tomu, že nejsou obsaženy žádné mezikroky, poskytují tyto postupy za daných podmínek **metrologicky návazné výsledky měření** s nejvyšší úrovní **přesnosti**. Příklady takových postupů jsou stanovení látkové koncentrace coulometrií, gravimetrií nebo hmotnostní spektrometrií s izotopickým zředováním.

1.15 Výsledek měření

soubor **hodnot veličiny** přiřazený **měřené veličině** společně s jakoukoliv další dostupnou relevantní informací (VIM 2.9)

Výsledek měření je výstupem jakékoliv **měřicí** činnosti a je tím, co je uvedeno koncovému uživateli, ať už jím je správní orgán, akreditační orgán nebo komerční zákazník.

V minulosti se pojem **výsledek měření** používal v odlišných významech. **Měřidlo** poskytuje číslo, tedy **indikaci**. Toto číslo lze převést na nekorigovaný výsledek s použitím **kalibrační křivky** (VIM 4.31). V některých případech se tato hodnota kvůli **vychýlení měření** (VIM 2.18) koriguje a korigovaný výsledek se uvádí koncovému uživateli např. spolu s výtěžností a **nejistotou měření**. Takto se v definici VIM 3 představuje **výsledek měření**. V minulosti často obdržel koncový zákazník jen jediné číslo. Definice ve VIM 3 se zaměřuje na odstranění nedůslednosti tím, že jasně označuje **výsledek měření** jako končený výstup procesu stanovení **hodnoty veličiny měřené veličiny**, tedy poskytnutí odpovědi na požadavek koncového uživatele. V tomto kontextu jsou všechny relevantní informace vztahující se k **měření** součástí **výsledku měření**.

Výsledek měření se obecně vyjadřuje jako jediná **naměřená hodnota veličiny a nejistota měření**. To lze interpretovat jako „množinu **hodnot veličiny**“, což znamená, že jakákoliv hodnota v intervalu definovaném **nejistotou měření** je možnou hodnotou **měřené veličiny**. Tento údaj poskytuje koncovému uživateli dostatečnou informaci o spolehlivosti **výsledku měření**, kterou je třeba vzít v úvahu například při porovnání s limitní hodnotou. **Nejistota měření** a s ní spojená hladina spolehlivosti jsou součástí **výsledku měření**. **Nejistota měření** nemusí být vždy explicitně uváděna, zejména pokud se považuje za zanedbatelnou pro interpretaci výsledku, nebo pokud není pro interpretaci relevantní či není zákazníkem požadována.

Požadavkem normy ISO/IEC 17025 [4] je, že informace o **nejistotě měření** se ve výsledku vyžaduje pouze tehdy, pokud je to relevantní pro platnost nebo aplikaci výsledků zkoušky, pokud je v požadavcích koncového uživatele, nebo pokud **nejistota** ovlivňuje dodržení speciфикаční meze.

1.16 Naměřená hodnota veličiny

hodnota veličiny reprezentující **výsledek měření** (VIM 2.10)

Naměřené hodnoty veličin jsou nezbytnou součástí **výsledku měření**. V nejjednodušších případech, např. při vážení chleba nebo brambor na komerčních vahách, je **naměřená hodnota veličiny výsledkem měření**, protože **měření** je jednoduchý proces skládající se z jednoho kroku a nejsou třeba žádná pomocná měření nebo výpočty. V analytické praxi je ale častější, že **měření** zahrnuje různé **veličiny** a opakované **indikace**. Ačkoli každá **indikace** poskytuje **naměřenou hodnotu veličiny**, výsledná hodnota se obvykle vypočte ze sady hodnot jako průměr nebo medián, jež budou obvykle mít menší **nejistotu měření** než jednotlivé hodnoty. V mnoha případech vyžaduje **výsledek měření** více než jednu **naměřenou hodnotu veličiny**. Například pokud má být **výsledek měření** vztažen na sušinu, potřebujeme hmotnost vzorku po sušení a hmotnostní zlomek studovaného analytu.

1.17 Chyba měření

naměřená hodnota veličiny minus referenční hodnota veličiny (VIM 2.16)

Žádné měření není dokonalé. Každý měřicí úkon vnáší do měřeného systému změny. Tuto situaci je vhodné vyjadřovat pojmem **chyba měření**, protože ovlivňuje každé jednotlivé měření. Zpravidla se **chyba měření** vyjadřuje jako rozdíl mezi **měřenou hodnotou veličiny** a **referenční hodnotou veličiny**. V praxi je **chyba měření** pro jednotlivá měření vzorku neznámá. Je to z důvodu, že v tomto případě je **referenční hodnota veličiny** neznámou **pravou hodnotou veličiny** (VIM 2.11) pro **měřenou veličinu**. **Chyba měření** se skládá ze dvou složek, **systematické** (VIM 2.17), představující trvalou nebo předpověditelnou odchylku a **náhodné** (VIM 2.19), představující nepředpověditelnou odchylku série opakovaných měření. Dobře známé parametry popisující výkonnost analytických metod jsou spojeny s odhadem náhodné a systematické složky **chyby měření** (viz kapitulu 4).

1.18 Indikace

hodnota veličiny poskytnutá měřidlem nebo měřicím systémem (VIM 4.1)

Většina **měření** je založena na **indikacích** poskytnutých **měřidly** nebo **měřicími systémy**. **Indikace** (např. signál přístroje nebo odezva) a odpovídající hodnota **měřené veličiny** nejsou nezbytně hodnoty **veličin** stejného **druhu** (VIM 1.2). V mnoha případech bude **indikace** poskytnutá **měřidlem** nebo **měřicím systémem** hodnotou související s jinou **veličinou** než je **měřená veličina**. Ve většině případů analytické praxe spoléhají analytici na **měření fyzikálních veličin**, jako je hmotnost sraženiny, objem titračního činidla nebo absorpce záření určité vlnové délky. Tyto **indikace** jsou následně převedeny s použitím stechiometrických vztahů nebo **kalibračních křivek** (VIM 4.31) na látkové množství. V chemické analýze je celkem běžné sledovat odezvu přístroje pro řadu referenčních roztoků a pak pro vzorek. V tomto kontextu se obvykle pro **indikaci** používá pojem „odezva přístroje“. Obdobně **indikace na-**

prázdno (VIM 4.2) odkazuje na odezvu přístroje na zkoušený materiál, o kterém se domníváme, že v něm není přítomen sledovaný analyt (VIM 3 používá „předpokládá se, že není přítomen“).

1.19 Měřidlo (měřicí přístroj)

zařízení používané k **měření** buď samotné, nebo ve spojení s jedním nebo více přidavnými zařízeními (VIM 3.1)

Měřidlo je úzce spjato s pojmem **měřicí systém**.

1.20 Měřicí systém

soustava jednoho nebo více **měřidel** a často dalších zařízení, včetně jakýchkoliv činidel a zdrojů, sestavená a přizpůsobená k poskytování informace používané ke generování **naměřených hodnot veličiny** ve specifikovaných intervalech pro **veličiny** specifikovaných **druhů**

V některých případech, když může být **měřidlo** použito samostatně (např. rtuťový teploměr), se **měřicí systém** skládá jen z jednoho **měřidla**. Avšak pro většinu analytických metod se **měřicí systém** skládá z několika **měřidel** a z přidruženého vybavení a činidel.

VIM 3 definuje tři typy **měřidel**:

- **Indikační měřidlo** (VIM 3.3) poskytuje digitální výstup ve formě čísla, např. elektronické váhy. **Indikace** může být v akustické nebo vizuální formě nebo může být přenesena do dalšího zařízení, např. software integrujícího data.
- **Zobrazovací měřidlo** (VIM 3.4) – určitý typ indikačního přístroje, které zobrazuje **výsledek měření** na stupnici, např. rtuťový teploměr či pružinová váha. U přístrojů s analogovým výstupem je **indikace** dána polohou ručičky na displeji.
- **Ztělesněná míra** (VIM 3.6) slouží k reprodukci stanovené **hodnoty veličiny**, např. odměrná baňka nebo **certifikovaný referenční materiál** (VIM 5.14).

V chemii obvykle tyto typy **měřidel** nerozlišujeme.

1.21 Metrologická srovnatelnost výsledků měření

srovnatelnost **výsledků měření** pro **veličiny** daného **druhu**, které jsou metrologicky návazné ke stejné referenci (VIM 2.46)

VIM 3 používá slovo srovnatelnost ve smyslu „schopnosti být porovnán“, ne ve smyslu být „podobné velikosti“. Proto, aby byly **naměřená hodnota veličiny** nebo **nejistota měření** srovnatelné, nemusí mít hodnoty stejného řádu.

Častým důvodem pro **měření** je umožnit srovnání mezi získaným **výsledkem měření** a veličinou stejného **druhu** (VIM 1.2), například zákonným limitem nebo referenčním intervalem. Příklady možných dotazů, které může položit zákazník: je hmotnostní zlomek olova ve vzorku půdy nad povolenou mezí?, nebo je hmotnostní zlomek olova ve dvou vzorcích půdy významně odlišný? Často se objevuje otázka například v kontextu soudního sporu: jsou výsledky poskytnuté dvěma stranami odlišné? Abychom byli schopni odpovědět na takové otázky, potřebujeme srovnatelnost **výsledků měření**.

Srovnání má smysl pouze pokud jsou výsledky návazné ke stejné referenci (přednostně mezinárodně uznávané), již může být například metr nebo **hodnota veličiny** v **certifikovaném referenčním materiálu** (VIM 5.14).

1.22 Metrologická slučitelnost výsledků měření

taková vlastnost **výsledků měření** specifikované **měřené veličiny**, že absolutní hodnota rozdílu jakéhokoliv páru **naměřených hodnot veličiny** ze dvou různých výsledků měření je menší než nějaký zvolený násobek **standardní nejistoty měření** tohoto rozdílu (VIM 2.47)

Aby dva výsledky byly **metrologicky slučitelné**, měl by rozdíl mezi nimi být menší než **rozšířená nejistota měření** (VIM 2.35) jejich diference. Se znalostí hodnoty **nejistoty měření**

hodnoty veličiny je možné spočítat dovolenou diferencí (d) mezi párem nezávislých výsledků, které se vztahují ke stejné **měřené veličině**. Rozdíl mezi x_1 a x_2 větší než d naznačuje možné selhání **měřicího systému**, změnu v **měřené veličině** nebo že **nejistota měření** jednoho nebo obou výsledků nebyla odhadnuta správně.

Standardní nejistota měření (VIM 2.30) difference u_d dvou zcela nezávislých nekorelovaných **výsledků měření** x_1 a x_2 (získaná například ze dvou odlišných laboratoří nebo dvou odlišných částí téhož vzorku) je dána rovnicí:

$$u_d = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

kde u_1 a u_2 jsou **standardní nejistoty měření** výsledků přidružené k x_1 a x_2 . Abychom tedy

mohli dva **výsledky měření** považovat za **metrologicky slučitelné**, musí být difference d menší než $k \cdot u_d$, kde k je **koefficient rozšíření** (VIM 2.38) pro požadovanou hladinu významnosti.

Pro větší soubor výsledků není možné **metrologickou slučitelnost** stanovit tak snadno. „Zvolený násobek“ v definici bude záviset na požadované hladině významnosti a počtu zahrnutých párových porovnání.

Korelace mezi **měřeními** ovlivňuje **metrologickou slučitelnost výsledků měření**. **Standardní nejistota měření** difference bude menší v případě kladné korelace a větší v případě záporné korelace.

2. METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Tato kapitola popisuje názvosloví vztahující se k metrologické návaznosti. Další informace jak zajistit návaznost výsledků měření uvádí Pokyn Eurachem/CITAC Návaznost chemických měření [17].

2.1 Metrologická návaznost

vlastnost **výsledku měření**, pomocí níž může být výsledek vztažen ke stanovené referenci přes dokumentovaný nepřerušovaný řetězec **kalibrací**, z nichž každá se podílí svým příspěvkem na stanovené **nejistotě měření**

Většina chemických analýz zahrnuje porovnání laboratorního výsledku s hodnotami, které byly získány v jinou dobu a na jiném místě, např. s hodnotou na certifikátu, zákonným limitem, nebo výsledkem získaným jiným **postupem měření**.

Metrologická návaznost (návaznost) je nezbytná pro získání smysluplných **výsledků měření**, protože umožňuje prokázat, že jsou tato porovnání vědecky platná. Lze porovnávat délku fotbalového hřiště se vzdáleností mezi pouličními lampami, pokud je obojí vyjádřeno v metrech – stejné **měřicí jednotce**. Ale pouhá **metrologická návaznost** výsledků neznamena, že jsou vhodné pro zamýšlené použití a nezajistí přiměřenou **nejistotu měření**. Například **výsledek měření** získaný vážením určité hmotnosti chloridu sodného na kalibrovaných technických vahách (na 2 desetinná místa) je **metrologicky návazný** na kilogram. To může být vhodné pro zamýšlené použití přípravy činidel, jako jsou tlumivé roztoky, ale nemusí být dostatečně přesné pro přípravu kalibračních roztoků pro stanovení nízkých koncentrací sodíku ve vodě. Kromě toho, abychom zabezpečili, že **výsledky měření** jsou vhodné pro zamýšlené použití, musí být **postupy měření** validovány (kapitola 4) a průběžně musí probíhat odpovídající postupy řízení kvality.

2.1.1 Referenční body

Podle VIM 3 existují tři typy referencí (viz poznámku 1 definice **metrologické návaznosti**).

- **Měřicí jednotka**, např. $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, g, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $^{\circ}\text{C}$, $\mu\text{kat}\cdot\text{l}^{-1}$ prostřednictvím své praktické realizace (odstavec 2.1.2).
- **Postup měření**, jenž je plně definovaný a mezinárodně uznávaný, např. postupy definované v **primárním referenčním postupu měření** IFCC pro měření katalytické aktivity koncentrace aspartátaminotransferázy [18] nebo postupy definované v normě ISO pro stanovení obsahu tuku v sušeném mléku a produktech ze sušeného mléka [19].
- **Etalon/standard**, např. **certifikovaný referenční materiál (CRM)** (VIM 5.14) SRM[®] 2193a CaCO_3 standard pH, který má v případě přípravy podle certifikátu certifikované pH 12,645 při 20 $^{\circ}\text{C}$ s **rozšířenou nejistotou měření** (VIM 2.35) 0,011 ($k = 2$).

Pro většinu **výsledků měření** bude referencí **měřicí jednotka**, ale v některých případech se mohou vyžadovat některé doplňkové metrologické reference, jako je **postup měření**. V těchto případech se používá kombinace referencí.

„Nepřerušovaný řetězec kalibrací“ se nazývá **řetězec metrologické návaznosti** (VIM 2.42). Obrázek 2 znázorňuje blokové schéma **metrologické návaznosti**. Ilustruje směr rostoucí **nejistoty měření** a **hierarchii kalibrace** (VIM 2.40). **Hierarchie kalibrace** je sled **kalibrací** od zvolené reference ke konečnému **měřidlu**, kde výsledek každé **kalibrace** závisí na výsledku **kalibrace** předchozí. Řetězec návaznosti je definován zvolenou **hierarchií kalibrace**.

Výsledek by měl být vždy návazný na vhodný referenční bod a akreditované laboratoře musí být schopny návaznost prokázat. Laboratoř si může vytvořit svůj vlastní řetězec návaznosti studiem dokumentace svých rutinních postupů, vybavení a **kalibrátorů**. Příklady obecně použitelných řetězců návaznosti lze nalézt v normě ISO 17511 [13]. Pracovní verze dokumentu IUPAC o dosažení návaznosti obsahuje sedm ilustrativních příkladů řetězců návaznosti [20]:

- látková koncentrace kyseliny v materiálu,
- pH roztoku,
- hmotnostní koncentrace methanolu v dechu,
- izotopický poměr prvku v materiálu,
- hmotnostní zlomek glyfosátu v zemědělské chemikálii,
- látková koncentrace kreatininu v krevním séru,
- hmotnostní zlomek bílkoviny v obilí.

2.1.2 Praktická realizace měřicí jednotky

V případě **metrologické návaznosti na měřicí jednotku** (VIM 2.43) je odkaz definicí **jednotky** prostřednictvím její praktické realizace. Co to znamená v praxi? Realizace definice **jednotky** je postup, kterým se definice může použít ke stanovení **hodnoty** a přidružené **nejistoty měření** u **veličiny** stejného **druhu** (VIM 1.2) jako je **jednotka**. Hmotnost a látkové množství jsou dvě **základní veličiny** (VIM 1.4). Odpovídají **základním jednotkám** (VIM 1.10) – kilogramu a molu. Kilogram je definován jako hmotnost mezinárodního prototypu kilogramu. Referenční hmotnost mezinárodního prototypu byla získána dodržáním dobře definovaného **postupu měření** [21]. **Měřicí jednotka** nebo její násobky spočívají (jsou ztělesněny) v kalibračních závažích. Této realizace (ztělesnění) se dosahuje **měřením** s použitím **primárního referenčního postupu měření** a **měřicího systému** k přiřazení **hodnoty veličiny** a **nejistoty měření**.

Mol je definován jako látkové množství, které obsahuje právě tolik elementárních jedinců (entit), kolik je atomů v $0,012 \text{ kg } ^{12}\text{C}$. Používáme-li mol, je nutné specifikovat elementární jedince, což mohou být atomy, molekuly, ionty, elektro-

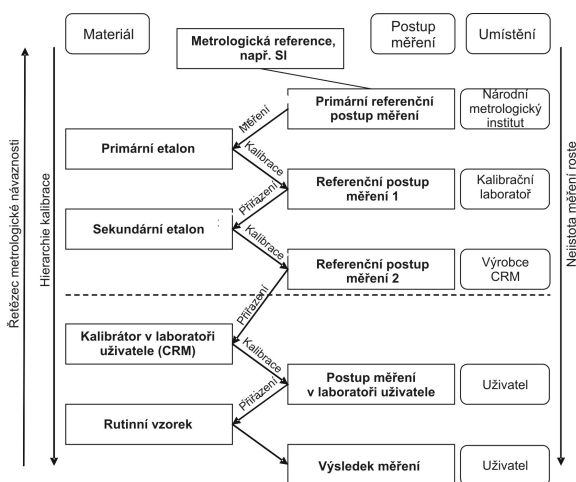
ny, jiné částice, nebo specifikované skupiny takových částic. Mol se běžně realizuje vážením. Látkové množství n v čistém vzorku se měří stanovením hmotnosti m vzorku a dělením molární hmotností M_r podle vztahu $n = m/M_r$. Tento přístup lze použít pouze když lze definovat chemickou entitu nebo entity specifikované v **měřené veličině**. Pokud tomu tak není, látkové množství nelze změřit. Pak lze zvolit jiné **veličiny**, u kterých entity nemusí být specifikované, jako je hmotnost. Pro uvedení **výsledků měření** v jednotce **SI** (VIM 1.16) molu, by realizace (ztělesnění) definice vyžadovalo **primární etalon** (VIM 5.4) pro každou z milionů chemických sloučenin. K překonání tohoto problému vybral Poradní výbor pro látkové množství v metrologii v chemii (CCQM) **měřicí principy** (VIM 2.4) a **metody měření** (VIM 2.5) s potenciálem určit **hodnotu veličiny** v molech nebo jeho **odvozených jednotkách** (VIM 1.11) tak, aby se veličiny obsažené v materiálech následně staly primárními kalibrátory, např. **certifikovanými referenčními materiály**.

2.1.3 Cesta k dosažení metrologické návaznosti

Dosažení a prokázání **metrologické návaznosti** není v chemii obvykle přímočaré. Jedním důvodem je, že může pro stejnou **měřenou veličinu** existovat několik způsobů získání **výsledku měření**. Například kvantitativní analýzu mědi ve vzorku vody lze provést s použitím různých typů spektrálních přístrojů, s rozkladem, separací a prekoncentračními kroky nebo bez nich. Navíc složitost testovaných materiálů často vyžaduje obsáhlou přípravu a čištění vzorku, což komplikuje přímé porovnání mezi etalony (standards) a vzorky.

Sekundární etalon/standard (VIM 5.5), znázorněný na schématu (obrázek 2), slouží ke **kalibraci měřicího systému** s použitím **referenčního postupu měření**. **Referenční postup měření** je ten, který byl použit ke stanovení hodnoty **kalibrátoru**, např. **CRM** používaného v laboratoři během analyzování rutinních vzorků. Výběr **kalibrátoru** závisí na **postupu měření** a na účelu měření. Analytici musí posoudit vliv celého měřicího procesu včetně vzorkování, je-li to vhodné, na **metrologickou návaznost výsledku měření**.

Výrobci běžně nabízejí různé materiály pro přípravu **pracovních etalonů** (VIM 5.7) ke **kalibraci** rutinních měření. Příkladem mohou být kusy kovové mědi s uvedenou čistotou, roztoky s uvedenou látkovou koncentrací a matričním složením. **Nejistota hodnoty kalibrátoru** přímo ovlivní **nejistotu měření** finálního výsledku, což může chemik ovlivnit svou volbou.



Obrázek 2. Příklad generického řetězce návaznosti. Řetězec návaznosti vztahuje výsledek měření rutinní zkoušky k referenčnímu bodu (zde SI) řetězcem kalibrací (šipky). Nejistoty, které jsou přítomny ve všech postupech a kalibrátorech, se ke konečnému výsledku rozšiřují. Šipky vlevo ukazují směr řetězce návaznosti (vzhůru) a směr kalibrační hierarchie (dolů). Šipka vpravo ukazuje, jak se nejistota měření zvětšuje od metrologické reference k výsledku měření

Nemnoho standardů splňuje podmínky pro **sekundární etalony/standarty** a ještě méně je k dispozici **primárních etalonů/standardů** (VIM 5.4) a primárních postupů. I když se spodní části řetězce na obrázku 2 mohou lišit, **měření** koncentrace mědi prováděné v různých laboratořích bude návazné na uvedenou konečnou referenci přes stejný primární **kalibrátor** nebo postup. Mnohá z **měření** bílkoviny transferinu v séru, prováděná v klinických laboratořích, jsou návazná na **SI** jednotku $g \cdot l^{-1}$ pomocí **CRM** ERM[®] DA 470k/IFCC [22]. Laboratoř musí zabezpečit **metrologickou návaznost** kroků uvedených pod čárkovanou čarou na obrázku 2. **Metrologická návaznost** je vlastnost výsled-

ku. Na obecném příkladu na obrázku 2 je **výsledkem měření hodnota veličiny** a její **nejistota měření** spolu s jakoukoliv relevantní informací související se vzorkem.

2.1.4 Praktická ukázka metrologické návaznosti

Příklady, jak dosáhnout **metrologickou návaznost**, lze nalézt v řadě dokumentů [17, 20, 23]. Většina informací potřebných k ustavení a prokázání **metrologické návaznosti**, které laboratoř pro rutinní zkoušky potřebuje, je dostupná v laboratoři.

- **Definice měřené veličiny:** zahrnuje druh **veličiny** (např. hmotnostní koncentrace), analyt (např. methylrtuť) a vzorky (např. sladká voda, mléčné výrobky, ...).
- **Popis postupu měření:** zahrnuje detaily všech kroků, vybavení a požadovaných materiálů, **měřicího systému** a **modelu měření** (VIM 2.48), který ukazuje způsob výpočtu výsledků.
- **Cílová nejistota měření** (VIM 2.34): největší akceptovatelná **nejistota**. Ta závisí na aplikaci (zamýšleném použití) a v ideálním případě ji zná zákazník. Znalost **cílové nejistoty měření** je třeba k volbě vhodných referencí.
- **Reference:** koncový bod **řetězce metrologické návaznosti** (např. **měřicí jednotka**, materiál se specifikovanou **hodnotou veličiny** nebo **postup měření**).
- **Hierarchie kalibrace** (VIM 2.40): laboratoř může třeba vybírat mezi několika pracovními **kalibrátory**, kde každý poskytuje svůj odlišný stabilní **řetězec návaznosti**. Po jeho výběru se **hierarchie kalibrace** určí podle dokumentace zvoleného **kalibrátoru**.
- **Prokázání metrologické návaznosti:** celá řada měření zahrnuje mnoho **vstupních veličin** (VIM 2.50) a **ovlivňujících veličin** (VIM 2.52). Ty všechny by měly být **metrologicky návazné**, z čehož vyplyne rozvětvená struktura **hierarchie kalibrace**. Laboratoř musí prokázat **metrologickou návaznost** všech **vstupních veličin** a **ovlivňujících veličin** pomocí dokumentovaných **kalibrací**. Úsilí vynaložené k zavedení **metrologické návaznosti** každé veličiny by

mělo být souměřitelné s jejím relativním příspěvkem k **výsledku měření**. Všechny **korekce** použité před uvedením **výsledku měření** musí být také návazné, například korigujeme-li výsledky na **vychýlení měření** (VIM 2.18).

- Kontrola, zda relevantní vlastnosti **kalibrátorů – hodnoty veličiny, nejistoty a metrologická návaznost** – jsou vhodné pro daný účel a plně dokumentované.

2.1.5 Vhodné vybavení a stupeň kontroly

Se znalostí **cílové nejistoty měření** (odstavec 2.1.4) může chemik zvolit vhodné vybavení a **etalony/standardy**. Je důležité identifikovat **vstupní a ovlivňující veličiny**, které mají významný vliv na **výsledek měření** tak, aby mohla být **nejistota** spojená s **měřením** těchto **veličin** přiměřeně pod kontrolou. Měříme-li na příklad objem kapaliny, lze volit z dostupného vybavení (odměrný válec, odměrná baňka, pipeta, atd.). **Nejistota měření** spojená s odměřováním objemu různým laboratorním sklem se bude lišit. Při přípravě činidla, jehož koncentrace není pro **výsledek měření** kritická, může být dostatečně použítí odměrného válce. Naproti tomu koncentrace kalibračního roztoku bude mít přímý vliv na **výsledek měření**, takže při odměřování objemu bude vyžadována vyšší přesnost (menší **nejistota měření**). Dále jsou pro přípravu kalibračního roztoku často dostupné chemikálie různé čistoty. Vhodnou čistotu (kvalitu) je třeba volit podle konkrétní aplikace. Například máme dostupné dvě chemikálie pro přípravu kalibračního roztoku ke stanovení hmotnostního zlomku pesticidu p,p'-DDE v živočišném tuku [23]:

- běžně dostupnou chemikálii s uvedenou čistotou ve formě hmotnostního zlomku >95 %,
- **CRM** s certifikovanou čistotou ve formě hmotnostního zlomku $(99,6 \pm 0,4) \%$.

Nejistota měření přidružená k uvedené čistotě běžně dostupné chemikálie může stačit k odhadu stupně kontaminace při screeningu.

Pokud je cílem stanovit, zda je určitý vzorek ve shodě s limitní hodnotou, bude vhodnější použít **CRM** s menší **nejistotou měření** přidruženou k udané čistotě. Jak bylo zmíněno výše, volba **kalibrátoru** pevně určuje **hierarchii kalibrace** a tím **řetězec návaznosti**.

Jako hrubý odhad by měla být **nejistota měření** kroků v **postupu měření**, které mají významný vliv na výsledek, $\leq 1/5$ **cílové nejistoty měření** konečného výsledku. Pokud je tato podmínka splněna, budou mít dotyčné kroky zanedbatelný příspěvek k celkové **nejistotě měření**.

Při volbě **etalonů/standardů** by se měly brát v úvahu certifikáty o analýze a kalibrační certifikáty z hlediska akreditací nebo uznání od vydávajících orgánů. Hodnoty uvedené v certifikátech neakreditovaných výrobců nemusí mít úroveň **metrologické návaznosti**, kterou koncový uživatel očekává.

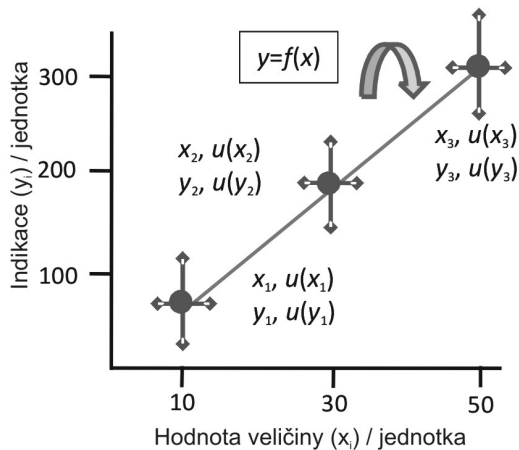
2.2 Kalibrace

činnost, která za specifikovaných podmínek v prvním kroku stanoví vztah mezi **hodnotami veličiny** s **nejistotami měření** poskytnutými **etalony/standardy** a odpovídajícími **indikacemi** s přidruženými nejistotami měření a ve druhém kroku použije tyto informace ke stanovení vztahu pro získání **výsledků měření** z indikace (VIM 2.39)

Kalibrace je v chemické analýze často spojována s kalibrováním **měřidla** nebo **měřicího systému**. Jejich typickými rysy jsou:

- obsahují chromatografické anebo spektrometrické přístroje,
- vyžadují častou (denní, týdenní, měsíční) **kalibraci**,
- **indikace**, tj. signál z přístroje nebo systému, přísluší jiné **veličině**, než té kterou zamýšlíme měřit, např. elektrický náboj nebo potenciál místo látkové koncentrace nebo hmotnostního zlomku.

Definice **kalibrace** ve VIM 3 je rozdělena do dvou částí. Obrázek 3 znázorňuje první část ve formě **kalibračního diagramu** (VIM 4.30).



Obrázek 3. Schéma prvního kroku v definici kalibrace. Indikace (signály y_i) z etalonů (kalibrátorů) s hodnotami veličiny x_i poskytují vztah (funkci) $y = f(x)$. Vertikální a horizontální šipky ukazují standardní nejistoty indikací a hodnot veličiny (nejsou v poměru)

Během kalibrace chemik obvykle připraví sérii kalibračních roztoků (označované také jako „kalibrátory“, „roztoky standardů“ nebo „pracovní standardy“ (VIM 5.7), tedy sérii **etalonů/standardů**. Měření každého z nich poskytne **indikaci** (signálu, odezvy). Závislost $y = f(x)$ mezi **indikací** a příslušnou **hodnotou veličiny** se nazývá **kalibrační křivka** (VIM 4.31). **Nejistota kalibrace** zahrnuje příspěvky **nejistoty etalonů/standardů**, variabilitu **indikací** a omezení matematického modelu při stanovení závislosti $y = f(x)$.

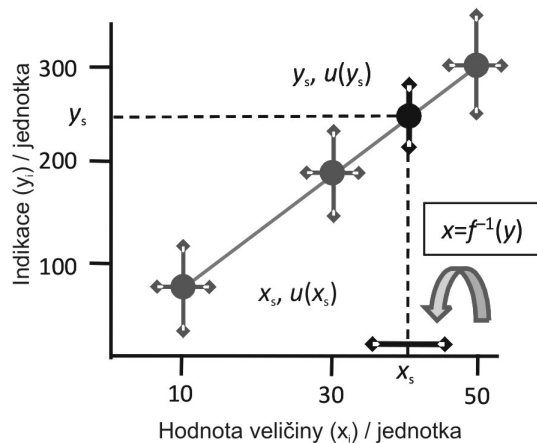
Chemik pak analyzuje neznámý vzorek a použije **indikaci** (y_s) k výpočtu odpovídající **hodnoty veličiny** (x_s) z kalibrační křivky z funkce

$$x = f^{-1}(y).$$

Tuto druhou fázi kalibrace znázorňuje obrázek 4. Je-li například $f(x)$ definována jako $y = a + bx$, kde b je směrnice křivky a a je úsek na ose y , pak

$$f^{-1}(y) \text{ je } x = (y - a)/b.$$

Nejistoty indikace, kalibrace a dalších korekcí (VIM 2.53) přispívají k **nejistotě výsledku měření**.



Obrázek 4. Schéma kalibračního diagramu ilustruje druhý krok definice kalibrace. Indikace (signál y_s) vzorku odpovídá hodnotě veličiny x_s . Vertikální a horizontální šipky ukazují standardní nejistoty indikace a hodnoty veličiny

2.3 Drift měřidla

spojitá nebo přírůstková změna **indikace** v čase způsobená změnami metrologických vlastností **měřidla** (VIM 4.21)

Drift měřidla je pozvolná změna **indikace** přístroje v čase. Pokud se změní kalibrační parametry mezi časem kalibrace přístroje a časem měření vzorku, ovlivní drift **pravdivost** výsledků. Míra driftu **indikace** určuje frekvenci rekalibrací přístroje. V analytické chemii lze pravidelně měřit „standardní korekci driftu“ se známou **hodnotou veličiny**, již lze kontrolovat stav **kalibrace** přístroje a určit, zda je třeba úprava konfigurace přístroje nebo rekalibrace.

2.4 Etalon (standard měření)

realizace definice dané **veličiny**, se stanovenou **hodnotou veličiny** a přidruženou **nejistotou měření**, používaná jako reference (VIM 5.1)

Komerční laboratoř pravidelně monitoruje hladinu kadmia v pitné vodě. Legislativa určuje, že měřenou **veličinou** má být hmotnostní koncentrace. Pro kalibraci přístroje laboratoř používá certifikovaný **referenční materiál (CRM)** (VIM 5.14), u kterého je podle certifikátu hodnota hmotnostní koncentrace kadmia

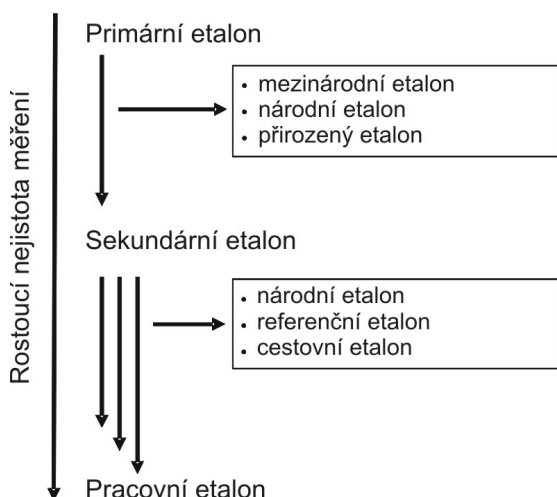
(1005 ± 3) $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. V tomto případě je **hodnota veličiny** $1005 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a **hodnota nejistoty měření** $3 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. CRM je příkladem **etalonu/standardu**.

Etalony/standarty měření se používají ve všech oblastech vědy. **Ztělesněné míry** (VIM 3.6), např. odměrné baňky a **certifikované referenční materiály** a **měřidla**, mohou sloužit jako **etalony/standarty**. Když analytici mluví o **kalibrátorech** nebo kalibrantech, myslí tím prostě **standarty** používané při kalibraci.

2.4.1 Hierarchie etalonů (standardů měření)

K označení vlastností nebo používání **etalonů/standardů** se používají různé termíny. Obrázek 5 ukazuje vztah mezi jednotlivými typy standardů.

Mezinárodním etalonem/standardem (VIM 5.2) pro diferenciální měření izotopických poměrů je „Vienna Standard Mean Ocean Water“ (VSMOW2). Mnoho metrologických ústavů má prototyp kilogramu, který slouží jako **státní etalon** (VIM 5.3) hmotnosti. Mezinárodní prototyp kilogramu je **primárním etalonem** (VIM 5.4). Podle VIM 3 může chemik přesným navážením a rozpuštěním glukózy o známe čistotě ve známém objemu připravit **primární standard měření** ve formě roztoku o známé koncentraci.



Obrázek 5. Znázornění hierarchie etalonů/standardů

Výše uvedené standarty a **sekundární etalony/standarty** (VIM 5.5), jakož i další **referenční etalony/standarty** (VIM 5.6), potřebují výrobci **referenčních materiálů** (VIM 5.13), výrobci přístrojů a referenční laboratoře. Rutinní aplikační laboratoř může ke kontrole **měřidel** používat **pracovní etalony/standarty** (VIM 5.7).

Obrázek 5 znázorňuje další dva typy **etalonů/standardů**. **Přirozený etalon/standard** (VIM 5.10) je **etalon/standard** založený na přirozené fyzikální konstantě nebo přirozeném fyzikálním jevu. Například baňka trojného bodu vody je přirozeným etalonem termodynamické teploty. **Cestovní etalon/standard** (VIM 5.8) je prostě **etalon**, jenž má sloužit k transportu mezi lokalitami.

2.5 Kalibrátor

standard používaný při **kalibraci** (VIM 5.12)

Analytičtí chemici často používají termín kalibrant, **kalibrátor** nebo standard, když odkazují na **etalon/standard** používaný při kalibraci. Četná měření používají **měřidla** a **měřicí systémy**, které vyžadují pravidelnou **kalibraci**. Neodmyslitelnou součástí každodenní práce chemika je proto příprava anebo údržba tohoto typu **standardu**.

Etalony/standarty se vyrábějí a používají k různým účelům. Existuje řada dokumentů, které obsahují pokyny pro výběr vhodných **etalonů/standardů**, např. [24]. Ne všechny materiály popsané výrobcem nebo dodavatelem jako **etalony/standarty** se mohou použít ke **kalibraci**. Uživatel musí být při nákupu „standardů“ obezřetný, protože výrobce si nemusí požadavky vykládat stejným způsobem jako VIM 3.

Mnoho rutinních **měřicích systémů** je určeno k práci se vzorky bez izolace nebo prekoncentrace analytu. V těchto případech je nezbytné demonstrovat, že se **kalibrátor** chová stejně jako rutinní vzorky. Výrobce nebo uživatel to může učinit zkoumáním **komutability referenčního materiálu** (odstavec 2.6).

Následuje několik příkladů materiálů, které chemici často při **kalibraci** používají.

- Materiály produkované výrobcem a určené k použití při **kalibraci** nebo **verifikaci** komerčního **měřicího systému**, např. **pracovní etalon/standard** (VIM 5.7) se vztažnou **hodnotou veličiny** a **nejistotou měření** pro látkovou koncentraci glukózy v krevním séru, který je dodán jako část in vitro diagnostického lékařského zařízení.
- **Referenční materiál** (VIM 5.13) a **certifikovaný referenční materiál (CRM)** (VIM 5.14).
- Materiály vyráběné státními orgány, uvedené např. v národním nebo mezinárodním lékopisu a určené k použití pro omezený specifikovaný účel.
- Materiály produkované a charakterizované v laboratoři, například v případě nedostupnosti komerčních produktů.

Z praktických důvodů musí mít materiály používané jako **kalibrátory** údaj o **nejistotě měření** a **metrologické návaznosti**.

2.5.1. Ověřte „zamýšlené použití“!

Obsah a struktura dokumentace dodávané s **referenčními materiály** (VIM 5.13) se významně liší. Názvy a záhlaví mají být přizpůsobeny tak, aby splňovaly požadavky konkrétního sektoru. Uživatelé nemají vždy jasné, zda může být materiál použit pro **kalibraci**.

Podstatnou částí certifikátu **CRM** je popis „zamýšleného použití“ [25]. Má být uveden primární účel, pro který výrobce **CRM** vyrábí. Mnoho materiálů nemá označení **certifikovaný referenční materiál**, ale i tak jsou způsobilé pro použití jako **kalibrátory**. Ověřte dokumentaci a své potřeby, např. v oboru zdravotnických laboratoří platí Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/EC o in vitro diagnostice [14].

Některé materiály velmi dobře splňují podmínky pro **kalibrátory**, ale záměr výrobce materiálu anebo měřicího systému může být odlišný, např. kvůli legislativním omezením. Například výrobce **měřicího systému** ručí za spolehlivost pouze když je použit předepsaný **kalibrátor**. Laboratoř však může chtít ověřit si výsledky použitím jiného **standardu**, a proto hledá během **verifikace** vhodnou „kontrolu pravdivos-

ti“, aby si ověřila **vychýlení měření** (VIM 2.18).

Dále jsou uvedeny tři příklady údajů z certifikátů, které indikují zamýšlené použití:

- „Primární použití tohoto materiálu je ke kontrole **kalibrace** automatických měřičů hustoty, používaných v průmyslu ke stanovení množství alkoholu...“.
- „Materiál je primárně určen pro **kalibraci** sérových proteinových standardů a ke kontrole produktů organizací, které nabízejí preparáty pro kvantifikaci C-reaktivního proteinu pomocí imunoanalýzy“.
- „Materiál je primárně určen pro kontrolu výkonnosti IFCC referenčního postupu... . Pokud je materiál použit jako **kalibrátor** v konkrétní analýze, měla by být ověřena komutabilita této analýzy“.

2.6 Komutabilita referenčního materiálu

vlastnost **referenčního materiálu** demonstrovaná těsností shody mezi vztahem mezi **výsledky měření** stanovené **veličiny** na daném materiálu, získanými dvěma danými **postupy měření**, a vztahem získaným mezi výsledky měření jiných specifikovaných materiálů (VIM 5.15)

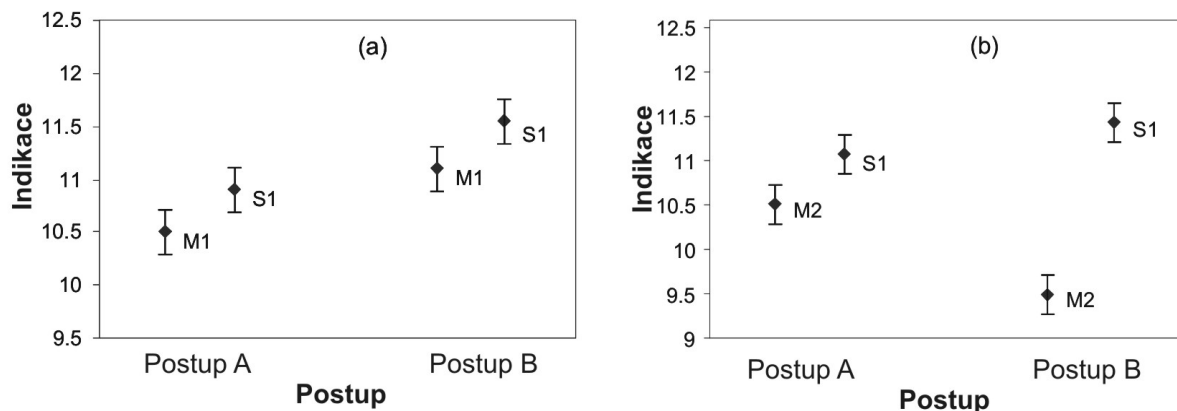
Text této definice se mírně liší od textu uvedeného v některých normách a pokynech ISO, ale v principu je shodný. Jak bylo uvedeno v odstavci 2.5, je důležité ověřit, že se **referenční materiál** (VIM 5.13), vybraný za kalibrant, chová stejně jako vzorky. To nazýváme **komutabilitou referenčního materiálu**. Komutabilita je obzvláště důležitá, když jsou metody velmi citlivé na matici vzorku nebo „fyzikální formu“ studovaného analytu.

V takovýchto případech je pro získání přesných **výsledků měření** nezbytná **kalibrace** velmi podobnými materiály. **Komutabilita referenčních materiálů** je důležitá také tehdy, když analytik nemůže modifikovat **postup měření** a přitom dostupný **referenční materiál** nesimuluje matici vzorku. Klinické laboratoře mohou na tento problém narazit, když používají analyzátory s **kalibrátory** dodávanými výrobcem.

„Jiným specifikovaným materiálem“, zmíněným v definici, jsou obvykle vzorky rutinně analyzované v laboratoři.

Pojem komutabilita lze nejlépe popsat graficky, jak je uvedeno na obrázku 6. Obrázek 6(a) znázorňuje případ, kde je **referenční materiál M1**

komutabilní, zatímco na obrázku 6(b) není **referenční materiál M2** komutabilní. M1, M2 a S1 představují **indikace** pro příslušné referenční materiály M1 a M2 a vzorek S1. **Indikací** může být signál přístroje nebo konkrétní **hodnota veličiny**.



Obrázek 6. Schéma, ilustrující komutabilitu referenčního materiálu, ukazuje výsledky měření spolu s jejich intervaly spolehlivosti. Na obrázku (a) můžeme referenční materiál považovat za komutabilní – vztah mezi indikací získanou pro referenční materiál (M1) a indikací získanou pro vzorek (S1) je nezávislý na postupu měření. Na obrázku (b) referenční materiál není komutabilní – vztah mezi indikací získanou pro referenční materiál (M2) a indikací získanou pro vzorek (S1) je odlišný pro dva postupy měření

3. NEJISTOTA MĚŘENÍ

Tato kapitola popisuje názvosloví vztahující se k nejistotě měření. Pokyn ISO/IEC 98-3 Nejistoty měření – Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM) popisuje principy vyhodnocení nejistoty [26]. Další informace jak vyhodnocovat nejistotu měření lze nalézt v Pokynu Eurachem/CITAC Stanovení nejistoty analytického měření [27].

3.1 Nejistota měření

nezáporný parametr charakterizující rozptýlení **hodnot veličiny** přiřazených k **měřené veličině** na základě použité informace (VIM 2.26)

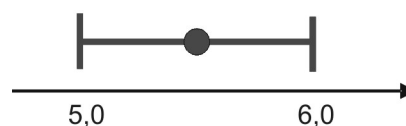
Nejistota měření poskytuje kvantitativní údaj o kvalitě **výsledku měření**. Synonymem je *nejistota*.

Definice vyjadřuje skutečnost, že parametry používané k popisu rozptýlení jednotlivých rozdělání, např. směrodatné odchytky, jsou obvykle pozitivní. Výrok „na základě použité informace“ vysvětluje, proč je nezbytné uvést co bylo použito při odhadu **nejistoty měření**. To neznamená, že můžeme vybrat co zahrneme a co ne. Existuje mnoho přístupů k odhadu **nejistoty měření**, které jsou popsány v literatuře [27, 28, 29].

Měření se skládá z mnoha kroků a vyžaduje různé položky vybavení. Například výpočet **výsledku měření** může obsahovat koncentrace činidla a hodnoty z **měřidel, kalibrátorů a referenčních materiálů** (VIM 5.13). Všechny tyto hodnoty mají nějaké **nejistoty**, a ty činí vypočtený výsledek nejistým. Neúplné informace o samotném vzorku, jako jsou možné interferenty, vlivy matrice a vlivy výtěžnosti analytu, jakož i manuálně prováděné operace, přispívají také k **nejistotě měření**. To znamená, že pro určitý vypočtený výsledek není jedna, ale celá řada **pravých hodnot veličiny** (VIM 2.11), které odůvodněně vedou k růstu **naměřené hodnoty veličiny**. Podle definice **nejistoty měření** ve

VIM 3 může být parametrem, charakterizujícím rozptýlení možných hodnot, směrodatná odchylka nebo interval spolehlivosti.

Výsledek měření se skládá ze dvou kvantitativních částí: 1. **naměřené hodnoty veličiny**, často v podobě průměru nebo mediánu z jednotlivých měření; a 2. **nejistoty měření**. Pokud je uváděn výsledek zahrnující i nejistotu, může být udán ve formátu (hodnota \pm nejistota) s jednotkami. Např. $(5,5 \pm 0,5)$ ml odpovídá intervalu 5,0-6,0 ml (obrázek 7). **Nejistotu** lze interpretovat jako interval, ve kterém předpokládáme, že leží hodnota **měřené veličiny**. Nejistota se obvykle uvádí jako **rozšířená nejistota** (VIM 2.35) (detaily v odstavci 3.1.1).



Obrázek 7. Ilustrace výsledku $(5,5 \pm 0,5)$ ml

3.1.1 Vyjadřování nejistoty

Odhady **nejistoty měření** lze vyjádřit mnoha způsoby, např. jako směrodatnou odchylku nebo interval spolehlivosti. Nicméně abychom mohli odhady nejistot slučovat, musí být jejich odhady vyjádřeny ve stejné formě, tedy může být zapotřebí nějakých přepočtů. Podle dokumentů ISO se mají odhady nejistot před jejich sloučením vyjádřit ve formě **standardních nejistot měření** (VIM 2.30) [26].

V certifikátech analýz, zprávách o zkouškách apod. označuje písmeno *u* **nejistotu**. Avšak existují různé způsoby vyjádření **nejistoty**:

- $u(x_i)$ – **standardní nejistota měření** (VIM 2.30) pro veličinu x_i vyjádřena jako směrodatná odchylka;
- $u_c(y)$ – **kombinovaná standardní nejistota** (VIM 2.31) měřené veličiny je matematickou kombinací několika **standardních nejistot měření**;

- U – **rozšířená nejistota měření** (VIM 2.35), tu obvykle laboratoř uvádí ve zprávě zákazníkovi. **Rozšířená nejistota** poskytuje interval, ve kterém s vysokou mírou spolehlivosti leží hodnota **měřené veličiny**. Hodnotu U získáme vynásobením **kombinované standardní nejistoty měření** $u_c(y)$ **koeficientem rozšíření** k (VIM 2.38), tedy $U = k u_c$. Volba koeficientu k vychází z požadované úrovně spolehlivosti.

Platí, že $u(x_i) < u_c(y) < U$. Tyto nejistoty se často vyjadřují ve vztahu k hodnotě, např. jako **relativní standardní nejistota měření** (VIM 2.32).

3.1.2 Vyhodnocení nejistoty

Celková výkonnost **postupu měření** se studuje v průběhu vývoje a **validace** metody (kapitola 4). Během tohoto procesu se identifikují jednotlivé zdroje **nejistoty** a studují detailně, pokud jsou shledány jako významné k celkovým požadavkům. Laboratoř usiluje o odstraňování zdrojů významné nejistoty do té doby, než se ujistí, že je **postup měření** vhodný pro daný účel. To znamená, že laboratoř by měla znát největší **nejistotu měření**, kterou může zákazník pro konkrétní použití akceptovat. Tu nazýváme **cílovou nejistotou měření** (VIM 2.34). Například legislativa EU, týkající se kontroly monitoringu stavu vody uvádí, že laboratoře provádějící **měření** musí používat **postupy měření** schopné poskytnout výsledky „na 50% nebo nižší **nejistotě měření** ($k = 2$), odhadnuté na úrovni příslušných standardů kvality životního prostředí“ [30]. Například norma kvality životního prostředí pro olovo v povrchových vodách je $7,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, tedy cílová nejistota měření je $3,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [31].

V průběhu **validace/verifikace postupu měření** se vyhodnocuje celková **preciznost měření** a **nejistota vychýlení měření** (VIM 2.18) ve formě rozptylů. V mnoha případech je kombinace těchto dvou složek **nejistoty** s využitím zákona propagace nejistot rozumným odhadem **standardní nejistoty měření** výsledků, pocházejících z **postupu měření**. Vzhledem k tomu, že **nejistota měření** může být odhadnuta různými způsoby, měla by být výsledná hodnota doplněna vysvětlením nebo odkazem na rele-

vantní informace, jak byla nejistota vyhodnocena. Uživatel je pak schopen **nejistotu** interpretovat (odstavec 3.2).

Minimální **nejistota** spojená s určitým **výsledkem měření** je zahrnuta v definici **měřené veličiny (definiční nejistota, VIM 2.27)**. Tak například **měřená veličina** „objem kapaliny obsažené v odměrné baňce“ má větší **definiční nejistotu** než **měřená veličina** „objem vody obsažené v odměrné baňce při 20 °C“. V prvním případě není specifikována ani kapalina ani její teplota. **Definiční nejistota** závisí na schopnosti analytika adekvátně definovat **měřenou veličinu**. Bez ohledu na množství úsilí vloženého do **měření** nelze **definiční nejistotu** snížit, nedojde-li ke zpřesnění definice **měřené veličiny**. Například **definiční nejistota** spojení s **měřením** celkového množství proteinu ve vzorku mléka bude vyšší než **definiční nejistota** spojená s distribucí konkrétních proteinových frakcí ve vzorku mléka. Dobrou praxí je definovat **měřenou veličinu** tak, aby **definiční nejistota** byla pro zamýšlené **měření** zanedbatelná.

3.2 Bilance nejistoty

Stanovení **nejistoty měření**, složek této nejistoty měření a jejich výpočtu a kombinace (VIM 2.33)

Všechny známé zdroje **nejistoty měření** se musí vyhodnotit a informace o nich musí být shrnuta v **bilanci nejistoty**. Slovo bilance (anglicky budget) se užívá v jiném smyslu než v obvyklém významu; není horní mezí **nejistoty měření**, ale je údajem o zdrojích **nejistoty** a jejich hodnotách. **Bilance** má zahrnovat také **model měření** (VIM 2.48) a způsob vyhodnocení nejistoty, např. ukázat, jestli je příspěvek **nejistoty** založen na statistické analýze **hodnoty veličiny** za definovaných podmínek, tedy **vyhodnocení typu A** (VIM 2.28), nebo jinými prostředky, tedy **vyhodnocení typu B** (VIM 2.29). Příkladem **vyhodnocení typu A** je směrodatná odchylka průměru z výsledků deseti opakování **měření** uskutečněných za **podmínek opakovatelnosti** (VIM 2.20). Hodnota **nejistoty** získaná z certifikátu **referenčního materiálu** (VIM 5.13) je příkladem **vyhodnocení typu B**. **Bilance nejistoty** má také obsahovat použitou

hustotu pravděpodobnosti a stupně volnosti pro každý příspěvek **nejistoty** a **koeficient rozšíření** (VIM 2.38) použitý k výpočtu **rozšířené nejistoty měření** (VIM 2.35).

Příklad **bilance nejistoty** pro hmotnostní koncentraci kalibračního standardu kadmia je uveden v tabulce 2 a vychází z příkladu uvedeného v Pokynu Eurachem/CITAC [27]. Hmotnostní koncentrace kadmia ρ_{Cd} ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) je dána

$$\rho_{Cd} = (1000mP)/V,$$

kde m je hmotnost v mg kadmia, P jeho čistota a V je objem baňky v ml. Každý člen vnáší **nejistotu** do počítané koncentrace roztoku, jak je

uvedeno v **bilanci nejistoty** v tabulce 2. **Nejistota** hmotnosti se získá z kalibračního certifikátu poskytnutého výrobcem vah a doporučeními pro odhad **nejistoty**. Údaj o čistotě kovu se získá z certifikátu **certifikovaného referenčního materiálu** (VIM 5.14) a převede se na **standardní nejistotu měření** (VIM 2.30) za předpokladu rovnoměrného rozdělení. **Nejistota** objemu baňky se skládá ze tří složek – **kalibrace** (u_{kal}), **opakovatelnosti** (VIM 2.21) plnění baňky (u_{op}) a rozdílu mezi teplotou, při níž byla baňka kalibrována a teplotou, při které je baňka používána (u_{tep}).

Tabulka 2. Bilance nejistoty hmotnostní koncentrace kalibračního standardu kadmia; hodnoty pochází z Pokynu Eurachem/CITAC [27]. Standardní nejistota ρ_{Cd} byla vypočtena kombinováním relativních standardních nejistot a pak vynásobením hodnotou ρ_{Cd}

Veličina	Hodnota	Standardní nejistota	Jednotky	Relativní standardní nejistota $u(x)/x$	Stupně volnosti	Typ vyhodnocení	Rozdělení
m	100,28	0,050	mg	0,00050	50	B	normální
P	0,9999	$5,8 \cdot 10^{-5}$	hmotnostní zlomek	$5,8 \cdot 10^{-5}$	∞	B	rovnoměrné
V	100,00	0,066	ml	0,00066	1100	Příspěvky viz níže*	
ρ_{Cd}	1002,70	0,84	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	0,00083	340		
Rozšířená nejistota k = 2		1,7	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$				

*Objemové příspěvky	Standardní nejistota	Jednotky	Stupně volnosti	Typ vyhodnocení	Rozdělení
u_{kal}	0,041	ml	∞	B	trojúhelníkové
u_{tep}	0,049	ml	∞	B	rovnoměrné
u_{lop}	0,020	ml	9	A	normální
Objem, kombinovaná standardní nejistota	0,066	ml	1100		

4. VALIDACE A VÝKONNOST METODY

Tato kapitola se věnuje názvosloví, které se týká validace a výkonnosti metody. Další informace o validaci metody lze nalézt v Pokynů Eura-chem Vhodnost analytických metod pro daný účel [32].

4.1 Ověřování (verifikace)

poskytnutí objektivního důkazu, že daná položka splňuje specifikované požadavky (VIM 2.44)

Ověřování je úzce spjato s konceptem **validace**.

4.2 Validace

ověřování, že specifikované požadavky jsou přiměřené pro zamýšlené použití (VIM 2.45)

K ilustraci těchto dvou pojmů použijeme příklad, v němž si laboratoř zakoupí přístroj. Po instalaci přístroje v laboratoři naplánuje analytik sérii experimentů aby ověřil, že výkonnostní parametry přístroje odpovídají specifikaci výrobce. Tento proces nazýváme **ověřováním/verifikací** – analytik získá objektivní důkaz (experimentální data), jež dokazují, že přístroj splňuje specifikaci výrobce. Po potvrzení, že je výkonnost přístroje uspokojivá, se bude přístroj používat jako součást **postupu měření**. Výkonnostní kritéria postupu byla stanovena laboratoří a odsouhlasena zákazníkem jako vhodná pro zamýšlený účel. Analytik naplánuje další sérii experimentů, aby potvrdil, že výkonnost **postupu měření** splňuje požadavky zákazníka. Tento proces nazýváme **validací** – analytik získá data jež dokazují, že výkonnost **postupu měření** odpovídá účelu určenému zákazníkem.

Podle VIM 3 **validace** je **ověření** nebo kontrola, že „daná položka“, např. **postup měření** nebo **měřidlo**, je vhodná pro zamýšlený účel. To se

posuzuje určením, zda jsou „specifikované požadavky“ – výkonnostní kritéria jako jsou **měřicí interval**, **selektivita**, **pravdivost**, **preciznost** a **nejistota měření** splněny.

Ověřování/verifikace zahrnuje plánování série experimentů, které vyprodukují hodnoty pro výkonnostní parametry – tj. „objektivní důkaz“. Získané hodnoty musí splnit určené požadavky na analytické výsledky.

Poznamenejme, že tyto definice jsou v podstatě tím, co je míněno definicí **validace** v ISO/IEC 17025 [4]. Termín **ověřování/verifikace** se dříve používal pro méně podrobnou studii, kterou laboratoř demonstrovala, že může dosáhnout publikované výkonnosti u validovaného postupu, např. podle normy ISO. To je ve shodě se současnou definicí **ověřování** ve VIM 3. Pro danou položku – postup podle normy ISO – je získán důkaz, že zaměstnanci v laboratoři jsou schopni dosáhnout výkonnostní kritéria uvedená pro daný postup.

Následující odstavce popisují výkonnostní parametry, které se obvykle studují při **ověřování/verifikaci** či **validaci**.

4.3 Měřicí interval

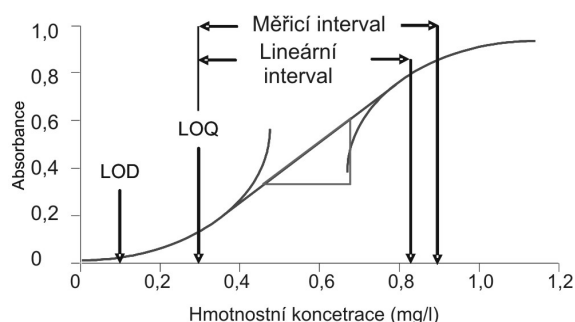
soubor **hodnot veličin** stejného **druhu**, které mohou být měřeny daným **měřidlem** nebo **měřicím systémem** se specifikovanou **přístrojovou nejistotou** za definovaných podmínek (VIM 4.7)

Uvnitř **měřicího intervalu** lze **veličiny** (např. hmotnostní koncentraci) uvedeným **postupem měření** měřit se stanovenou **nejistotou**. Dalšími výrazy používanými pro tento pojem jsou „pracovní rozsah“, „měřicí rozsah“ a „rozsah“ (ISO/IEC 17025).

Běžné používání termínů „měřicí rozsah“ a „rozsah měření“ pro označení **měřicího inter-**

valu je uvedeno v poznámce 1 definice ve VIM. Nicméně je třeba poznamenat, že ve VIM 3 termín „interval“ označuje soubor čísel definovaných svými koncovými hodnotami, zatímco termíny „rozsah“ nebo „rozsah intervalu“ jsou omezeny na rozdíl největší a nejmenší hodnoty intervalu (range ve významu rozpětí, pozn. překladatele). Podle této konvence je na obrázku 8 **měřicí interval** od $0,3 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ do $0,9 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a rozsah (rozpětí) $0,6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Za dolní mez **měřicího intervalu** se často považuje mez stanovitelnosti (LOQ) (pojem, který není definován ve VIM 3). Horní mez se obvykle určí podle nepřijatelné změny **nejistoty měření** nebo **citlivosti** (VIM 4.12). Obrázek 8 ilustruje souvislosti mezi klíčovými termíny, vztahujícími se k **měřicímu intervalu**. **Mez detekce** (LOD) je pod mezí stanovitelnosti. **Citlivost měřicího systému** je v případě lineární závislosti rovna směrnici **kalibrační křivky** (VIM 4.31).



Obrázek 8. Kalibrační diagram ukazující závislost absorbance na hmotnostní koncentraci se znázorněním měřicího intervalu, lineárního intervalu, LOD a LOQ. Trojúhelník ukazuje výpočet citlivosti neboli směrnici kalibrační křivky (Δ indikace/ Δ veličiny = Δ absorbance/ Δ hmotnostní koncentrace)

4.4 Mez detekce

VIM definuje mez detekce v termínech naměřené hodnoty veličiny.

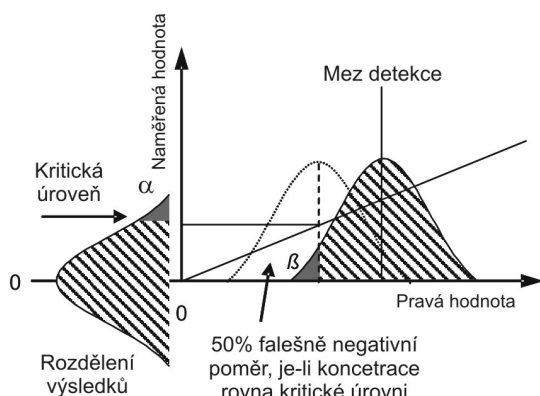
naměřená hodnota veličiny získaná daným **postupem měření**, pro kterou je pravděpodobnost nepravdivého tvrzení o nepřítomnosti složky v materiálu β , přičemž pravděpodobnost nepravdivého tvrzení o její přítomnosti je α (VIM 4.18)

Tato definice není konzistentní s IUPAC (a jinými) definicemi, které se dnes v analytické chemii používají a které používají spíše **pravou hodnotu veličiny** (VIM 2.11) než **naměřenou hodnotu**. Není zcela jasné, zda je rozdíl záměrný a pokud ano, jak jej implementovat. Níže uvedený popis se proto drží doporučení IUPAC pro zjištění detekční schopnosti analytických metod [33].

Řada analytiků je obeznámena s výpočtem **meze detekce** pro **postup měření** násobením směrodatné odchylky s (získané z výsledků analýzy slepého vzorku nebo vzorku obsahujícího nízkou koncentraci analytu) příslušným faktorem (typicky 3 a 5). Násobící faktor má svůj statistický základ. Následující text vysvětluje pozadí běžně používaného faktoru 3,3.

Tento odstavec popisuje LOD pro koncentraci, lze však stejně postupovat u dalších **veličin**, např. u hmotnostního zlomku. Typickým záměrem při určování LOD je stanovení nejnižší koncentrace analytu přítomného ve vzorku, kterou lze pro daný **postup měření** detekovat s předepsanou spolehlivostí. Definování LOD je proces sestávající ze dvou kroků. Nejprve stanovíme „kritickou úroveň“. Ta je nastavena tak, že v případě, kdy vzorek neobsahuje žádný analyt, není pravděpodobnost získání **výsledku měření** převyšujícího kritickou úroveň větší než α . Kritická úroveň nastavuje kritérium pro tvrzení, že vzorek je „pozitivní“. Běžně se používá pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku $\alpha = 0,05$, což vede ke kritické hodnotě přibližně $1,65s$ (kde s je směrodatná odchylka velkého množství výsledků slepého vzorku nebo vzorku obsahujícího nízkou koncentraci analytu a $1,65$ je jednostranná kritická hodnota Studentova t pro nekonečný počet stupňů volnosti na hladině

významnosti $\alpha = 0,05$). Na obrázku 9 je kritická úroveň znázorněna na vertikální ose tak, aby zdůraznila skutečnost, že se jedná o **naměřenou hodnotu**. Kritická úroveň se nejběžněji vyjadřuje pro koncentraci, v principu to nicméně může být libovolné pozorování, třeba plocha píku. Každý výsledek přesahující kritickou úroveň by měl být označen za pozitivní.



Obrázek 9. Ilustrace statistického základu pro výpočet meze detekce

Pokud by však **pravá hodnota** koncentrace ve vzorku byla přesně rovna kritické úrovni (vyjádřené pro koncentraci), dalo by se přibližně u poloviny **výsledků měření** očekávat, že budou pod kritickou úrovní, což by vedlo k 50 % falešně negativních výsledků. To je na obr. 9 znázorněno přerušovanou čarou. Očividně je 50 % falešně negativních výsledků příliš pro praktické použití. Metoda neposkytuje spolehlivé výsledky nad kritickou úrovní, pokud je **pravá hodnota** koncentrace rovna kritické úrovni. Mez detekce má označovat pravou koncentraci, pro kterou je počet falešně negativních výsledků pro danou kritickou úroveň přijatelný. Falešně negativní chyba β je obvykle nastavena tak, aby byla rovna falešně pozitivní chybě. Je tomu tak z historických důvodů (IUPAC doporučuje implicitní hodnoty pro $\alpha = \beta = 0,05$). Při použití $\alpha = \beta = 0,05$ bude LOD $1,65s$ nad hodnotou určené kritické úrovní. To je na obrázku 9 ilustrováno šrafováním rozdělení na horizontální ose. Faktor pro výpočet LOD při $\alpha = \beta = 0,05$ je pak $1,65 + 1,65 = 3,30$. To vše je založeno na několika aproximacích, které jsou popsány v literatuře [33].

4.5 Selektivita měřicího systému

taková vlastnost **měřicího systému** používajícího specifický **postup měření**, pomocí něhož poskytuje naměřené **hodnoty veličiny** pro jednu nebo více **měřených veličin**, že hodnoty každé měřené veličiny jsou nezávislé na jiných **veličinách** v rámci zkoumaného jevu, tělesa nebo látky (VIM 4.13)

Definice **selektivity** ve VIM 3 je konzistentní se známější definicí navrženou IUPAC: „rozmezí, ve kterém může být metoda použita ke stanovení konkrétních analytů ve směsi nebo matici bez interferencí od jiných složek s podobným chováním“ [34]. Například plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickým detektorem (GC-MS) je považována za selektivnější než plynová chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem (GC-FID), protože hmotnostní spektrometr poskytuje doplňující informace, které pomáhají s konfirmací identity. Používání termínu specifická IUPAC nedoporučuje a není definován ve VIM 3.

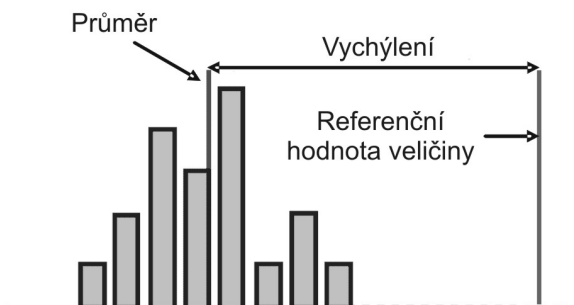
4.6 Pravdivost měření

těsnost shody mezi aritmetickým průměrem nekonečného počtu opakovaných **naměřených hodnot veličiny** a **referenční hodnoty veličiny** (VIM 2.14)

Pravdivost měření vyjadřuje hypotetickou schopnost **postupu měření** dosáhnout výsledky blízko očekávané **referenční hodnoty veličiny**, jako je hodnota **certifikovaného referenčního materiálu** (CRM) (VIM 5.14). **Pravdivost** není **veličina**, a proto nemůže být vyjádřena číselně. **Pravdivost** je však nepřímo úměrná **systematické chybě měření** (VIM 2.17), která může být odhadnuta **vychýlením měření (bias)**. Příklad odhadu vychýlení jako rozdílu mezi průměrem z několika **výsledků měření** a **referenční hodnoty veličiny** je znázorněn na obrázku 10. **Vychýlení** lze uvádět také jako poměr **naměřené a referenční hodnoty veličiny**.

Pokud je to vhodné, lze vliv známých **systematických chyb** na **výsledky měření** odstranit **korrekturou** (VIM 2.53) založenou na odhadnutém **vychýlení**, např. odečet z digitálního teploměru

může být korigován na základě **vychýlení** pozorovaného při **kalibraci**. Nicméně, každý faktor použitý ke **korekci** bude mít přidruženou **nejistotu**.



Obrázek 10. Schematická ilustrace odhadu vychýlení měření. Průměr několika výsledků měření je porovnán s referenční hodnotou veličiny (pozn.: nejistota referenční hodnoty není znázorněna)

Vychýlení měření může být například důsledkem nevhodné **kalibrace** nebo nedostatečné **selektivity** (odstavec 4.5).

Odhad **vychýlení výsledků měření** produkovaných laboratoří lze získat opakovaným měřením **hodnoty veličiny** jednoho či více **referenčních materiálů** (VIM 5.13) za **podmínek opakovatelnosti** (VIM 2.20) nebo za **podmínek mezilehlé preciznosti** (VIM 2.22) a vypočtením průměrné hodnoty. Odhad **vychýlení** je pak rozdíl mezi získanou průměrnou hodnotou a **referenční hodnotou veličiny**. Je třeba upozornit, že hodnota **vychýlení** bude zatížena **nejistotou měření** kvůli nejistotám průměrné hodnoty a **referenční hodnoty veličiny**.

PŘÍKLAD

Průměrná hodnota hmotnostního zlomku CaO v CRM cementu vypočtená z 10 **výsledků měření** pomocí XRF získaných za období 6 měsíců je 65,53 % se směrodatnou odchylkou 0,1 %. Certifikovaná **hodnota veličiny** je 63,23 % s **rozšířenou nejistotou měření** (VIM 2.35) 0,21 % ($k = 2$). **Vychýlení měření** pro tento CRM, stanovené za **podmínek mezilehlé preciznosti**, je odhadnuto jako $65,53 - 63,23 = 0,3$ %. **Vychýlení** lze vyjádřit také jako relativní hodnotu, tedy

$$100 \times 0,3 / 63,23 = 0,47 \%$$

4.7 Preciznost měření

těsnost shody mezi **indikacemi** nebo **naměřenými hodnotami veličiny** získanými opakovanými **měřeními** na stejném objektu nebo podobných objektech za specifikovaných podmínek (VIM 2.15)

V každodenní komunikaci v angličtině jsou preciznost (precision) a přesnost (accuracy) synonyma, ale v oblasti měření je preciznost omezena pouze na popis náhodné variability.

Preciznost měření se vztahuje na **náhodnou chybu měření** (VIM 2.19) a je mírou blízkosti výsledků.

Výsledek měření nelze opravit tak, aby se odstranil vliv **náhodné chyby**, lze ale snížit velikost **náhodné chyby** opakovaným měřením a výpočtem průměrné hodnoty.

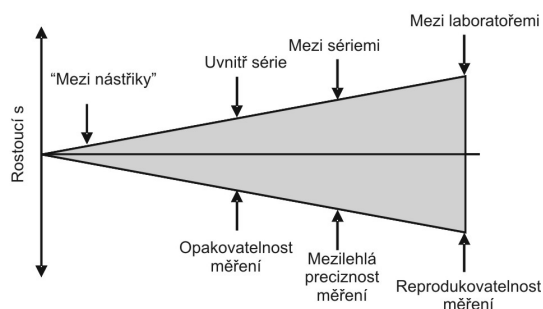
Preciznost měření se číselně vyjadřuje mírami nepřeciznosti, jako je směrodatná odchylka vypočtená z výsledků získaných opakovanými **měřeními** vhodného materiálu za specifikovaných podmínek. VIM 3 definuje tři podmínky měření: **podmínku opakovatelnosti** (VIM 2.20), **podmínku mezilehlé preciznosti** (VIM 2.22) a **podmínku reprodukovatelnosti** (VIM 2.24).

Odhady **opakovatelnosti měření** (VIM 2.21) a **mezilehlé preciznosti měření** (VIM 2.23) lze získat v jediné laboratoři. **Podmínka opakovatelnosti měření** se vztahuje na **měření** uskutečněné na stejném materiálu jedním analytikem s použitím stejného postupu za stejných podmínek v krátkém časovém období. **Opakovatelnost měření** se často používá jako odhad variability výsledků uvnitř série. Za **podmínky mezilehlé preciznosti** se **měření** provádí na stejném materiálu s použitím stejného postupu, ale po delší dobu a různými analytiky, kteří mohou používat různé vybavení. **Mezilehlá preciznost měření** se často používá jako odhad variability mezi sériemi. **Podmínky mezilehlé preciznosti** si definuje uživatel a použité podmínky se musí vždy zaznamenat (pozn. některé laboratoře používají pro **mezilehlou preciznost** termín vnitrolaboratorní reprodukovatelnost).

Vzhledem k tomu, že **opakovatelnost měření** odráží pouze variabilitu výsledků během krátké doby, je pravděpodobné, že při rutinním používání **postupu měření** dojde k podhodnocení variability výsledků. Za předpokladu, že se během validační studie použily vhodné **podmínky mezilehlé preciznosti**, poskytuje **mezilehlá preciznost měření** realističtější odhad dlouhodobé variability **výsledků měření** v laboratoři.

Odhady **reprodukovatelnosti měření** (VIM 2.25) se získávají z **výsledků měření** uskutečněných v různých laboratořích. **Podmínka reprodukovatelnosti měření** se vztahuje na **měření** uskutečněná na stejném materiálu různými analytiky pracujícími na různých místech. V mezilaboratorních validačních studiích se ve všech zúčastněných laboratořích používá stejný **postup měření**. Nicméně termín **podmínka reprodukovatelnosti** se vztahuje také na mezilaboratorní porovnání, kde se pro stejnou **měřenou veličinu** (VIM 2.24, poznámka 1) používají odlišné **měřicí postupy**, příkladem jsou programy zkoušení způsobilosti. Proto je důležité, aby byly podmínky, za kterých je **reprodukovatelnost** vyhodnocována, specifikovány.

Obrázek 11 ilustruje vztah mezi **opakovatelností měření**, **mezilehlou precizností měření** a **reprodukovatelností měření**, vyjádřený pozorovanou neprecizností, která se odhaduje jako směrodatná odchylka s . Na obrázku se text „mezi nástřiky“ vztahuje na opakování pouze posledního kroku měření vícekrokového **postupu měření** (např. opakované nástřiky podílu zkoušeného roztoku do plynového chromatografu). Opakování tohoto kroku poskytne **opakovatelnost měření** pouze posledního kroku, ale vyloučí efekt **náhodných chyb** spojených s jakoukoliv předúpravou vzorku nebo čisticími kroky. „Uvnitř série“ představuje opakování celého **měřicího postupu** za **podmínek opakovatelnosti**.



Obrázek 11. Schéma ilustrující očekávané souvislosti mezi odhady preciznosti získanými za různých podmínek měření, velikostně vyjádřené pozorovanou neprecizností. Čím více se podmínky měření proměňují (od opakování pouze části postupu měření (mezi nástřiky) po opakování celého postupu měření za podmínek opakovatelnosti nebo mezilehlé preciznosti), tím obecně roste směrodatná odchylka výsledků měření

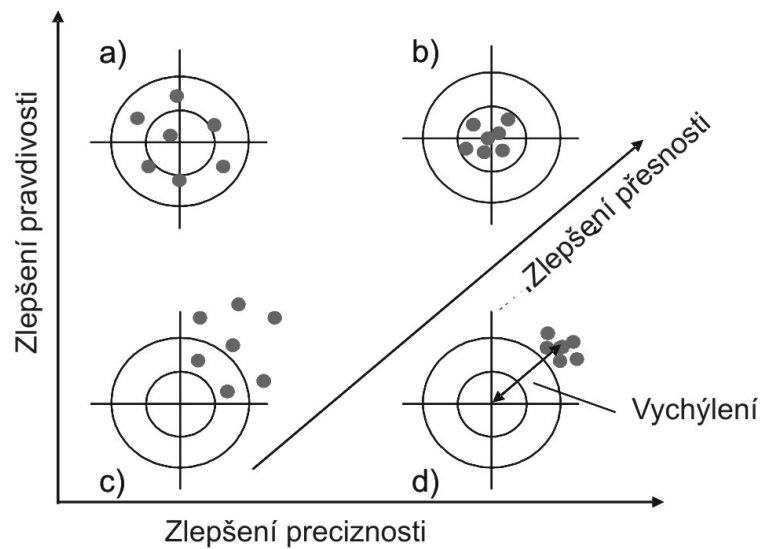
4.8 Přesnost měření

těsnost shody mezi **naměřenou hodnotou veličiny** a **pravou hodnotou veličiny měřené veličiny** (VIM 2.13)

Při běžném použití mimo oblast **metrologie** je přesnost (accuracy) synonymem preciznosti (precision) a v poznámce 3 definice VIM 2.13 je uvedeno, že přesnost měření se někdy chápe jako těsnost shody mezi **naměřenými hodnotami veličiny**. V analytické chemii je takové použití neakceptovatelné.

Přesnost měření popisuje, jak blízko je jeden **výsledek měření** k **pravé hodnotě veličiny** (VIM 2.11). **Přesnost** proto zahrnuje vliv jak **preciznosti**, tak **pravdivosti**. **Přesnost** nelze uvést číselnou hodnotou, ale je zvykem říkat, že **výsledky měření** jsou „přesnější“, když dojde ke snížení **chyby měření** a tím i **nejistoty měření**, jak je znázorněno na obrázku 12.

Přesnost měření nelze použít ke kvantitativní indikaci spolehlivosti **výsledků měření**. K tomu je třeba odhad **nejistoty měření** (kapitola 3).



Obrázek 12. „Zásahy“ do terče představují jednotlivé výsledky měření, střed terče je referenční hodnota veličiny. Nejlepší přesnosti (nejnižší nejistoty měření) se dosáhlo v případě b), kde jsou jednotlivé výsledky blízko referenční hodnoty. V případech a) a b) není významné vychýlení, protože výsledky jsou soustředěné u středu terče. Příklad a) má horší preciznost, protože výsledky jsou více rozptýlené. Preciznost v případě d) je podobná jako v případě b). V případě d) je však významné vychýlení, protože všechny výsledky leží mimo střed na stejném místě. Přesnost je nejhorší v případě c), protože výsledky jsou velmi rozptýlené a odchýlené na pravou stranu terče.

PŘÍLOHA

Tabulka A1. Pojmy diskutované v tomto pokynu, jejich synonyma a odkazy na VIM. Pojem uvede-
ný tučně je upřednostňovaný termín. Tučně jsou uvedeny ty odkazy na VIM 3, jež jsou definovány
v tomto pokynu.

Pojem	Synonymum	Odkaz na VIM 3
bilance nejistot		2.33
certifikovaný referenční materiál	CRM	5.14
cestovní etalon		5.8
cílová nejistota měření	cílová nejistota	2.34
citlivost měřicího systému	citlivost	4.12
definiční nejistota		2.27
drift měřidla		4.21
druh veličiny	druh	1.2
etalon	standard měření, standard	5.1
hierarchie kalibrace		2.40
hodnota veličiny		1.19
chyba měření	chyba	2.16
indikace	údaj	4.1
indikace naprázdno	indikace pozadí	4.2
indikační měřidlo		3.3
jmenovitá hodnota veličiny	jmenovitá hodnota	4.6
jmenovitá vlastnost		1.30
kalibrace		2.39
kalibrační diagram		4.30
kalibrační křivka		4.31
kalibrátor		5.12
koeficient rozšíření		2.38
kombinovaná standardní nejistota měření	kombinovaná standardní nejistota	2.31
komutabilita referenčního materiálu		5.15
korekce		2.53
měřená veličina		2.3
měření		2.1
měřicí interval	pracovní interval	4.7
měřicí jednotka	jednotka	1.9
měřicí princip		2.4

Pojem	Synonymum	Odkaz na VIM 3
měřicí systém		3.2
měřidlo	měřicí přístroj	3.1
metoda měření	měřicí metoda	2.5
metrologická návaznost		2.41
metrologická návaznost na měřicí jednotku	metrologická návaznost na jednotku	2.43
metrologická slučitelnost výsledků měření	metrologická slučitelnost	2.47
metrologická srovnatelnost výsledků měření	metrologická srovnatelnost	2.46
metrologie		2.2
mez detekce		4.18
mezilehlá preciznost měření	mezilehlá preciznost	2.23
mezinárodní etalon	mezinárodní standard	5.2
Mezinárodní soustava jednotek	SI	1.16
Mezinárodní soustava veličin	ISQ	1.6
model měření	model	2.48
náhodná chyba měření	náhodná chyba	2.19
naměřená hodnota veličiny	naměřená hodnota	2.10
nejistota měření	nejistota	2.26
odvozená jednotka		1.11
odvozená veličina		1.5
opakovatelnost měření	opakovatelnost	2.21
ovlivňující veličina		2.52
podmínka mezilehlé preciznosti měření	podmínka mezilehlé preciznosti	2.22
podmínka opakovatelnosti měření	podmínka opakovatelnosti	2.20
podmínka reprodukovatelnosti měření	podmínka reprodukovatelnosti	2.24
postup měření		2.6
pracovní etalon	pracovní standard	5.7
pravá hodnota veličiny	pravá hodnota, skutečná hodnota	2.11
pravdivost měření	správnost měření, pravdivost	2.14
preciznost měření	preciznost	2.15
primární etalon	primární standard	5.4
primární referenční postup měření	primární referenční postup	2.8
přesnost měření	přesnost	2.13
přirozený etalon	přirozený standard	5.10
referenční etalon	referenční standard	5.6
referenční hodnota veličiny	referenční hodnota	5.18
referenční materiál	RM	5.13
referenční postup měření		2.7
relativní standardní nejistota měření		2.32
reprodukovatelnost měření	reprodukovatelnost	2.25
rozšířená nejistota měření	rozšířená nejistota	2.35

Pojem	Synonymum	Odkaz na VIM 3
řetězec metrologické návaznosti	řetězec návaznosti	2.42
sekundární etalon	sekundární standard	5.5
selektivita měřicího systému	selektivita	4.13
soustava jednotek		1.13
soustava veličin		1.3
standardní nejistota měření	standardní nejistota	2.30
státní etalon		5.3
systematická chyba měření	systematická chyba	2.17
validace		2.45
veličina		1.1
verifikace		2.44
vstupní veličina v modelu měření	vstupní veličina	2.50
vyhodnocení nejistoty měření způsobem A	vyhodnocení způsobem A	2.28
vyhodnocení nejistoty měření způsobem B	vyhodnocení způsobem B	2.29
vychýlení měření	bias	2.18
výsledek měření		2.9
základní jednotka		1.10
základní veličina		1.4
zobrazovací měřidlo		3.4
ztělesněná míra		3.6

LITERATURA

1. ISO/IEC Guide 99:2007, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM). ISO/IEC, Geneva, 2007.
[TNI 010115, Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM). ČNI, Praha 2009.]
2. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2008, Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM), 2008. www.bipm.org.
[Terminologie z oblasti metrologie, 2. vydání – volně přístupné vydání VIM a slovníku legální metrologie na webových stránkách http://www.unmz.cz/files/Sborn%C3%ADky%20TH/Terminologie%20v%20oblasti%20metrologie_DEF.pdf (sborník 27, 2010).]
3. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2008. Corrigendum, Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM), 2010. www.bipm.org
4. ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC, Geneva, 2005.
[ČSN EN ISO/IEC 17025, Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří. ČNI, Praha 2005.]
5. ISO/IEC 17043:2010, Conformity assessment – General requirements for proficiency testing. ISO/IEC, Geneva, 2010.
[ČSN EN ISO/IEC 17043, Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti. ČNI, Praha 2010.]
6. ISO Guide 34:2009, General requirements for the competence of reference material producers. ISO, Geneva, 2009.
7. ISO Guide 35:2006, Reference materials – General and statistical principles for certification. ISO, Geneva, 2006.
8. International vocabulary of basic and general terms in metrology. 2. vydání. ISO, Geneva, 1993. ISBN 92-67-10175.
9. ISO 15189:2007, Medical laboratories – Particular requirements for quality and competence. ISO, Geneva, 2007.
[ČSN EN ISO 15189, Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost. ČNI, Praha 2007.]
10. Use of litre (L) with the International System of Units, Bureau International des Poids et Mesures, The International System of Units (SI). 8th edition, section 4.1, Table 6, 2006. www.bipm.org
11. Bureau International des Poids et Mesures, The International System of Units (SI). 8th edition, 2006. www.bipm.org

12. Council Directive 80/181/EEC of 20 December 1979 on the approximation of the laws of the Member States relating to units of measurement and on the repeal of Directive 71/354/EEC. Official Journal L 039, 15/02/1980, str. 40-50.
13. ISO 17511:2003, In vitro diagnostic medical devices – Measurement of quantities in biological samples – Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. ISO, Geneva, 2003.
[ČSN EN ISO 17511:2004, Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro – Měření veličin v biologických vzorcích – Metrologická návaznost hodnot přiřazených kalibrátorům a kontrolním materiálům.]
14. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. Official Journal L 331, 07/12/1998, p1-37.
15. JCTLM Database of higher-order reference materials, measurement methods/procedures and services. www.bipm.org/jctlm/
16. Tai S. S-C., Welch M. J.: Development and evaluation of a candidate reference method for the determination of total cortisol in human serum using ID-LC/MS and LC/MS/MS. Anal. Chem., **76**, 1008-1014 (2004).
17. Ellison S. L. R., King B., Rösslein M., Salit M., Williams A.: Eurachem/CITAC Guide: Traceability in chemical measurement – A guide to achieving comparable results in chemical measurement. EURACHEM/CITAC 2003.
[Návaznost chemických měření, Kvalimetrie 14 (Suchánek M., ed.). EURACHEM-ČR, Praha 2004. ISBN 80-86322-02-5]
18. Schumann G. se sp.: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), Primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin. Chem. Lab. Med. **40**, 725-733 (2002).
19. ISO 1736:2008: Dried milk and dried milk products – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)., International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2008.
20. De Bièvre P., Dybkaer R., Fajgelj A., Hibbert D. B.: Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation. (IUPAC Provisional Recommendations 2009). www.iupac.org
21. Davis R.: The SI unit of mass. Metrologia, **40**, 299-305 (2003).
22. Certificate of analysis, ERM®- DA470k/IFCC, 2009. <http://irmm.jrc.ec.europa.eu>
23. Barwick V., Wood S.: Meeting the traceability requirements of ISO 17025. 3. vydání, LGC, Teddington 2005. ISBN 0-948926-23-6. www.nmschembio.org.uk
24. ILAC-G9:2005: Guidelines for the selection and use of reference materials., www.ilac.org
25. ISO Guide 31: Reference materials – Contents of certificates and labels. ISO, Geneva 2000.
26. ISO/IEC Guide 98-3. Uncertainty of measurement – Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995). ISO, Geneva, 2008.
[TNI 014109-3, Nejistoty měření – Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995). ČNI, Praha 2011. Volně přístupné vydání na webových stránkách <http://www.unmz.cz/files/Sborniky%20TH/GUM%20-%20celele%20-DEF.pdf> – sborník 33 (2012).]

27. Ellison S. L. R., Rösslein M., Williams A. (eds.): Eurachem/CITAC Guide: Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2. vydání. EURACHEM/CITAC 2000. ISBN 0 948926 15 5 [Stanovení nejistoty analytického měření. Kvalimetrie 11, (Suchánek M., ed.). EURACHEM-ČR, Praha 2001. ISBN 80-901868-9-0]
28. Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Eurolab 2007/1, 2007. www.eurolab.org.
29. ISO/TS 21748:2010. Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation. ISO, Geneva, 2010. [ČSN P ISO/TS 21748, Návod pro použití odhadů opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a správnosti při odhadování nejistoty měření. ČNI, Praha 2005.]
30. Commission Directive 2009/90/EC of 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. Official Journal L 201, 07/08/2009, str. 36-38.
31. Directive 2008/105/EE of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council Official Journal L 348, 24/12/08, str. 84-97.
32. Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics. Eurachem 1998. ISBN 0 948926 12 0, www.eurachem.org. [Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti. Kvalimetrie 9, (Suchánek M., ed.). EURACHEM-ČR, Praha 1999. ISBN 80-901868-7-4]
33. Currie L. A.: Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure Appl. Chem.* **67**, 1699-1723 (1995).
34. Vessman J., Stefan R. I., van Staden J. F., Danzer K., Lindner W., Thorburn Burns D., Fajgelj A., Müller H.: Selectivity in analytical chemistry, (IUPAC Recommendations 2001). *Pure Appl. Chem.*, **73**, 1381-1386 (2001).

JAK VYHOVĚT POŽADAVKŮM ISO 17025 NA VERIFIKACI METOD

Poděkování

Výbor pro akreditační kritéria analytických laboratoří (Analytical Laboratory Accreditation Criteria Committee – ALACC) připravil tuto příručku podle požadavku Technické divize AOAC pro řízení laboratoří (AOAC Technical Division for Laboratory Management – TDLM) ve snaze vytvořit pomůcku pro manažery laboratoří, objasňující nezbytné činnosti potřebné k ověření, že provozují metodu úspěšně. Na návrhu a posouzení příručky se podíleli odborníci z různých odvětví analytické obce. Příručka představuje konsenzus různých skupin zainteresovaných stran včetně akreditačních orgánů, laboratoří, posuzovatelů, statistiků a zástupců farmaceutického a potravinářského průmyslu. Zahrnuje též evropská stanoviska.

Příručka byla vypracována pod vedením

M. L. Jane Weitzel, Watson Pharmaceuticals, USA, předsedkyně ALACC

a místopředsedů ALACC

Suzane M. Lee, General Mills, USA, předsedkyně podvýboru pro chemii,

Michele Smoot, Silliker Laboratories Group, USA, předsedkyně podvýboru pro mikrobiologii,

Nubia Viafara, Cangene Corp., Canada, předsedkyně farmaceutického podvýboru.

K mikrobiologické části přispěl též Michael Brodsky, Brodsky Consultants, Canada.

ÚČEL

Cílem této příručky je definovat činnosti, které se vyžadují při verifikaci metod založené na výkonnostních charakteristikách analytické metody.

ČSN EN ISO/IEC 17025 v odstavci 5.4.2 uvádí:

„ Před zahájením provádění zkoušek a kalibrací musí laboratoř potvrdit, že může standardní¹ metody řádně používat. Při změně standardní metody se musí toto potvrzení opakovat.“

V této příručce znamená potvrdit totéž co verifikovat/ověřit.

Verifikace/ověření, že laboratoř může provozovat standardní metodu odpovídajícím způsobem, vyžaduje poskytnout objektivní důkaz, že byly dosaženy výkonnostní parametry specifikované pro zkušební metodu v matricích, pro něž se metoda používá. Nejčastěji jsou kritickými parametry přesnost a preciznost (obecně vyjádřena jako opakovatelnost a reprodukovatelnost), které se promítají do nejistoty měření. Objektivním důkazem je přesnost a preciznost získaná z reálných laboratorních dat.

PŘEDMĚT A PŘÍSTUP K ŘEŠENÍ

Tato příručka se vztahuje na oficiální metody AOAC (AOAC Official Methods), EPA, FDA a FSIS (*Food Safety and Inspection Service*), metody NADA (New Animal Drug Applications) a metody používané v mikrobiologických, potravinářských a farmaceutických laboratořích.

Terminologie týkající se popisu analytických metod a jejich parametrů se v různých průmyslových odvětvích liší. V této příručce se používá terminologie používaná běžně v AOAC.

Jednotlivá průmyslová odvětví mohou mít i specifické požadavky. Určité federální orgány nebo zákazník mohou mít velmi specifické požadavky na verifikaci metod. V takovém případě by měly mít požadavky zákazníka nebo orgánů přednost před požadavky této příručky.

Zkušební analytické metody jsou uspořádány do skupin podle svého účelu. Laboratoř může určit, do které skupiny metoda patří a pak zjistit odpovídající parametry, které je třeba ověřit.

Při verifikaci/ověřování metod se požaduje, aby laboratoř prokázala schopnost dosahovat určitých specifických výkonnostních charakteristik/parametrů, které byly stanoveny v průběhu validační studie. Validační studie musí zahrnovat všechny relevantní výkonnostní charakteristiky. Určité výkonnostní charakteristiky, jako je linearita, se od laboratoře k laboratoři nemění a nemusí se ověřovat. Jiné, jako je opakovatelnost, jsou pro každou laboratoř provozující danou metodu specifické a musí se ověřit. Parametry, které je nutno ověřovat, jsou tedy podmnožinou výkonnostních parametrů obsažených ve validaci metody.

Tato příručka pojednává odděleně o chemických zkušebních metodách a o mikrobiologických metodách.

¹ Oprava nevhodného překladu *normalizované* v ČSN EN ISO/IEC 17025 (2005), pozn. překladatele.

CHEMICKÉ METODY

Kategorie chemických metod

Metody chemické analýzy slouží mnoha účelům, od kvantifikování analytu v nízké koncentraci až po identifikaci materiálu. Při takové různorodosti metod je logické, že různé zkušební metody vyžadují různou verifikaci. Pro usnadnění mohou být zkušební metody rozděleny do šesti odlišných kategorií podle svého účelu. Tyto kategorie jsou uvedeny níže. Každá z kategorií zkušebních metod potřebuje verifikovat jen relevantní výkonnostní charakteristiky. Tato příručka uvádí seznam všech výkonnostních charakteristik potřebných pro verifikaci, a vysvětluje důvod pro verifikaci určité výkonnostní charakteristiky.

Šest kategorií chemických analytických metod tvoří

1. Potvrzení identity; metoda potvrzuje, že materiál je to, za co je vydáván, nebo metoda potvrzuje detekování cílového analytu.
2. Kvantifikace analytu při nízké koncentraci.
3. Stanovení, zda je analyt přítomen nad či pod specifikovanou nízkou koncentrací (často nazývané zkouškou pro posouzení vůči mezi). Specifikovaná koncentrace je v blízkosti meze stanovitelnosti – LOQ.
4. Kvantifikace analytu při vysokých koncentracích.
5. Stanovení, zda analyt je přítomen nad či pod specifikovanou vysokou koncentrací (často nazývané zkouškou pro posouzení vůči mezi). Specifikovaná koncentrace je podstatně vyšší než mez stanovitelnosti – LOQ.
6. Kvalitativní zkouška.

Jelikož jsou činnosti potřebné pro verifikaci metody podmnožinou činností potřebných pro validaci, jsou na prvním místě uvedeny výkonnostní charakteristiky pro validaci. Tabulka 1 shrnuje výkonnostní charakteristiky potřebné po validaci každé ze šesti kategorií chemických zkušebních metod. Pokud není určitá výkonnostní charakteristika pro validaci potřebná, není ji potřeba ani při verifikaci. V tabulce 1 *ano* znamená, že tato výkonnostní charakteristika musí být součástí validace, *ne* pak znamená, že výkonnostní charakteristika nemusí být do validace zahrnuta.

Požadavky na verifikaci šesti kategorií chemických zkušebních metod (tabulky 2-6)

U tabulek 2 až 5 znamená *ano*, že výkonnostní charakteristika musí být součástí verifikace, *ne* pak znamená, že výkonnostní charakteristika nemusí být do validace zahrnuta.

Tabulka 1. Kategorie chemických zkušebních metod. Jelikož jsou činnosti potřebné pro verifikaci metody podmnožinou činností potřebných pro validaci, jsou v této tabulce uváděny výkonnostní charakteristiky požadované pro validaci

Výkonnostní charakteristika	Výkonnostní charakteristiky zahrnuté do validace					Kvalita
	Identifikace	Analyt při nízké konc. Kvantita	Analyt při nízké konc. vůči mezi	Analyt při vysoké konc. Kvantita	Analyt při vysoké konc. vůči mezi	
Kategorie metody	1	2	3	4	5	6
Přesnost	ne	ano	ne	ano	ano	ne
Preciznost	ne	ano	ne	ano	ano	ne
Specifičnost	ano	ano	ano	ano	ano	ano
LOD (mez detekce)	ne	ano	ano	ano/ne	ne	ne
LOQ (mez stanovitelnosti)	ne	ano	ne	ano/ne	ne	ne
Robustnost	ne	ano	ne	ano	ne	ne
Linearita/rozsah	ne	ano	ne	ano	ne	ne

Tabulka 2. Kategorie 1: Potvrzení identity. Metoda potvrzuje, že materiál je to, co se udává, nebo potvrzuje detekování cílového analytu

Výkonnostní charakteristika	Verifikace	Činnost při verifikaci	Důvod pro verifikaci
Specifičnost	Ne – pokud laboratorní vzorky jsou stejné jako vzorky u standardní metody a jestliže rozdílná instrumentace neovlivňuje specifičnost.	žádná	Pokud mají vzorky stejnou matici, není specifičnost, založená na základních principech, ovlivňována. Základními principy jsou chemické reakce, např. reakce Ag s Cl za tvorby sraženiny.
	Ano – pokud se laboratorní vzorky liší od vzorků standardní metody	Stejná jako je vyžadována pro validace.	
	Ano – pokud by rozdíly v instrumentaci mohly mít vliv na specifičnost.	Potřebná činnost souvisí pouze s unikátním charakterem laboratorních vzorků nebo instrumentace.	Specifičnost může být ovlivněna rozdíly v použité instrumentaci.

Tabulka 3. Kategorie 2: Analyt při nízkých koncentracích, kvantita

Výkonnostní charakteristika	Verifikace	Činnost při verifikaci	Důvod pro verifikaci
Přesnost	ano	Pokud je koncentrační rozsah, pro který je metoda validována, úzký (<1 řád), analyzujte jeden referenční materiál/standard/přídavek při jedné koncentraci. Jinak prokažte přesnost pro každou koncentrační úroveň (nízkou, střední a vysokou) analyzou jednoho referenčního materiálu/standardu/přídavku pro každou úroveň.	Uvnitř úzkého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost nemění a tedy postačuje prokázání na jedné koncentrační úrovni. U širokého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost mohou měnit a je tedy nutné je ověřit při různých koncentračních úrovních.
Preciznost	ano	Proveďte jednu testování opakovatelnosti. Pokud metoda pokrývá koncentrační rozsah >1 řád, pak musí testování opakovatelnosti zahrnovat nízké, střední a vysoké koncentrace.	Uvnitř úzkého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost nemění a tedy postačuje prokázání na jedné koncentrační úrovni. U širokého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost mohou měnit a je tedy nutné je ověřit při různých koncentračních úrovních. Mezilehlá preciznost mezi jednotlivými analytiky je zajištěna tím, že jsou prokazatelně zacvičeni a jsou schopni adekvátně provozovat metodu.
Specifičnost	ne/ano	Viz specifičnost ve Všeobecných požadavcích	Viz specifičnost ve Všeobecných požadavcích
LOD	ano	Analyzujte vzorek blízký LOD	LOD je velmi pravděpodobně specifická pro matrici a instrumentaci
LOQ	ano	Analyzujte vzorek blízký LOQ	LOQ je velmi pravděpodobně specifická pro matrici a instrumentaci

Tabulka 4. Kategorie 3: Analyt je přítomen nad či pod specifikovanou nízkou koncentrací (zkouška pro posouzení vůči mezi)

Výkonnostní charakteristika	Verifikace	Činnost při verifikaci	Důvody pro verifikaci
LOD	ano	Analyzujte vzorek blízký LOD	LOD je velmi pravděpodobně specifická pro matrici a instrumentaci
LOQ	ano	Analyzujte vzorek blízký LOQ	LOQ je velmi pravděpodobně specifická pro matrici a instrumentaci
Specifičnost	ne/ano	Viz Specifičnost ve Všeobecných požadavcích	Viz Specifičnost ve Všeobecných požadavcích

Tabulka 5. Kategorie 4: Kvantifikace analytu při vysokých koncentracích. Kategorie 5: Analyt je přítomen nad či pod specifikovanou vysokou koncentrací (často nazývané zkouškou pro posouzení vůči mezi)

Výkonnostní charakteristika	Verifikace	Činnost při verifikaci	Důvody pro verifikaci
Přesnost	ano	Pokud metoda slouží k posouzení vůči mezi nebo je koncentrační rozsah, pro který je metoda validována, úzký (<1 řád), analyzujte jeden referenční materiál/standard/přídavek při jedné koncentraci. Jinak prokažte přesnost pro každou koncentrační úroveň (nízkou, střední a vysokou) analýzou jednoho referenčního materiálu/standardu/přídavku pro každou úroveň.	Uvnitř úzkého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost nemění a tedy postačuje prokázání na jedné koncentrační úrovni. U širokého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost mohou měnit a je tedy nutné je ověřit při různých koncentračních úrovních.
Preciznost	ano	Proveďte jednou testování opakovatelnosti. Pokud metoda pokrývá koncentrační rozsah >1 řád, pak testování opakovatelnosti musí zahrnovat nízké, střední a vysoké koncentrace.	Uvnitř úzkého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost nemění a tedy postačuje prokázání na jedné koncentrační úrovni. U širokého koncentračního rozsahu se přesnost a preciznost mohou měnit a je tedy nutné je ověřit při různých koncentračních úrovních. Mezilehlá preciznost mezi jednotlivými analytiky je zajištěna tím, že jsou prokazatelně zacvičení a jsou schopni adekvátně provozovat metodu.
Specifičnost	ne/ano	Viz Specifičnost ve Všeobecných požadavcích	Viz Specifičnost ve Všeobecných požadavcích

Tabulka 6. Kategorie 6: Kvalitativní zkouška

Kvalitativní zkoušky slouží k identifikaci specifického prvku či sloučeniny (analytu) na základě reakce materiálu při zkoušce. Nejdůležitější charakteristikou kvalitativní zkoušky je její schopnost spolehlivě identifikovat analyt v přítomnosti jiných látek. To se nazývá specifičností.

Validace metody zahrnuje stanovení jakékoliv zkřížené reaktivity s jinými známými složkami. Absence zkřížené reaktivity prokazuje specifičnost metody. Jestliže jsou vzorky identické s těmi, pro které je metoda určena, není ověření specifičnosti nutné. Jestliže jsou jakékoliv matricové složky laboratorních vzorků unikátní, pak bude muset laboratoř prokázat, že neovlivňují specifičnost.

Přesnost kvalitativních zkoušek se obecně vyjadřuje jako míra falešně pozitivních/falešně negativních výsledků a stanovuje se na několika koncentračních úrovních. Verifikaci schopnosti laboratoře správně provádět kvalitativní metodu lze prokázat analyzováním souboru negativně a pozitivně fortifikovaných vzorků. Například se pro každou odlišnou matici vzorků analyzují duplikátní vzorky na třech úrovních. Doporučované úrovně jsou slepé vzorky (blanky – žádný analyt), nízká úroveň (v blízkosti spodní hranice rozsahu metody) a vysoká úroveň (v blízkosti horní hranice rozsahu metody). Potřebné koncentrační úrovně lze získat standardními přídavky. Poměry srovnatelné s deklarovanými ve validované metodě pak prokazují schopnost laboratoře provádět metodu.

POUŽITÍ NEJISTOTY MĚŘENÍ PŘI VERIFIKACI METODY CHEMICKÝCH ZKOUŠEK

Odhad nejistoty měření (MU) měřené veličiny je ukazatelem přesnosti a MU je jedním z prvků jimiž lze ověřit, že je laboratoř schopna provozovat metodu uspokojivě.

Když nejsou dostupné žádné validační údaje, může být pro posouzení, zda metoda funguje, MU jediným parametrem schopným porovnání se specifikací. K porovnání výkonnosti laboratoře (vychýlení/bias a preciznost) lze použít údaje získané v mezilaboratorní studii přístupem popsáním v ČSN ISO 21748:2012 *Návod pro použití odhadů opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a pravdivosti při odhadování nejistoty měření*. (ISO/TS 21748).

Další informace včetně příkladů použití přístupu popsaného v ISO/TS 21748 lze nalézt na webových stránkách AOAC.

MIKROBIOLOGICKÉ METODY

Výkonnostní charakteristiky potřebné pro validaci a verifikaci každé ze tří hlavních kategorií mikrobiologických zkušebních metod uvádí tabulka 7.

Pravidlo verifikace

Verifikace mikrobiologických metod vyžaduje zaměřit se rovněž na

1. schopnosti laboratoře dosahovat výkonnostních charakteristik trvale;
2. výkonnost analytika: jsou vaši analytici schopni provozovat metodu se stejným stupněm preciznosti a přesnosti?

Tabulka 7. Kategorie mikrobiologických zkušebních metod: Výkonnostní charakteristiky, které jsou součástí validační studie

Výkonnostní charakteristika	Identifikace	Kvantitativní	Kvalitativní (P/N)	Verifikace (je-li použitelné)
Relativní přesnost	ano	ano	ne	ne
Matricové vlivy	ne	ano	ano	ano
Preciznost	ne	ano	ne	ano
Selektivita	ne	ano	ano	ne
Specifičnost	ano	ano	ano	ne
Inkluzivita	ano	ano	ano	ne
Exkluzivita	ano	ano	ano	ne
Poměr falešně pozitivních	ne	ano	ano	ne
Poměr falešně negativních	ne	ano	ano	ne
LOD	ne	ano	ano	ne
LOQ	ne	ano	ne	ne
Robustnost	ano	ano	ano	ne
Linearita/rozsah	ne	ano	ne	ne

Nejistota měření v mikrobiologii

Nejistota měření (MU) je parametr přidružený k výsledku měření, který charakterizuje **míru rozptýlení hodnot**, které by mohly být důvodně prisuzovány měřené veličině, jinými slovy rozptýl nebo směrodatnou odchylku výsledku nebo míru spolehlivosti analytického výsledku. Výpočet MU je spolehlivější na základě nejméně 30 pozorování, abychom získali 95% interval spolehlivosti celkové přesnosti metody. Každá z požadovaných výkonnostních charakteristik by proto měla také vycházet z třiceti pozorování. MU obvykle vyžaduje započtení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti všech vlivů, které přispívají více než 10 % k variabilitě a používá ve výpočtu odmocninu součtu čtverců, např. pro dva klíčové vlivy je $(U_c) = \sqrt{RSD_1^2 + RSD_2^2}$. V nejjednodušším případě je relativní MU neboli relativní $U_e = 2 \times RSD_R$ (relativní směrodatná odchylka reprodukovatelnosti), pokud byly vzaty v úvahu všechny faktory, které mohou mít vliv na spolehlivost výsledku.

V tomto smyslu mohou být validační údaje použity srovnatelně k verifikaci metody, protože validační studie poskytuje referenční hodnoty pro RSD_r i RSD_R (relativní směrodatnou odchylku opakovatelnosti a relativní směrodatnou odchylku reprodukovatelnosti).

Například validační studie odečtu zředovací metodou poskytla následující údaje:

$$RSD_r \leq 7,7 \% (0,077) \text{ (analytiků)}$$

$$RSD_R \leq 18,2 \% (0,182) \text{ (mezi analytiky)}$$

Výpočet kombinované nejistoty odečtu:

$$\text{Součet čtverců} \quad (0,077)^2 + (0,182)^2 = 0,0371$$

$$\text{Kombinovaná relativní nejistota} \quad \sqrt{(0,0371)} = 0,193 = 19,3 \%$$

$$\text{Rozšířená relativní nejistota odečtu (s použitím koeficientu rozšíření } k = 2 \text{ pro 95\% spolehlivost)} \\ 2 \times 19,3 \% = 38,6 \%$$

Nejistota měření je pro tento postup 38,6 % a stává se referenční hodnotou pro MU stanovenou při vnitrolaboratorní verifikaci metody.

Experimentální údaje pro výpočet MU lze získat prostřednictvím

- programů zkoušení způsobilosti (PT),
- referenčních vzorků,
- výtěžnosti přídavků,
- replikovaných vzorků při verifikaci metody,
- duplikátů vzorků.

Další informace k odhadu nejistoty měření mikrobiologických metod lze najít ve směrnici American Association for Laboratory Accreditation *G108 — Guidelines for Estimating Uncertainty for Microbiological Counting Methods*.

Výkonnost analytika v mikrobiologii

Verifikace metody by se měli účastnit pouze analytici dostatečně vyškolení k provádění metody. Zácvik a kvalifikace analytiků vyžadují písemný protokol činností a dokumentaci dosažených výsledků. Zaškolení analytici musí být průběžně hodnoceni.

Nástroje pro hodnocení mohou zahrnovat

- slepé vzorky (známé pozitivní a známé negativní vzorky),
- sledování výkonnosti,
- písemný test, např. zásady řízení kvality, výpočty, interpretace výsledků, znalost politiky kvality a postupů,
- denní kontroly preciznosti duplikátních odečtů*,
- zkoušení způsobilosti**.

*Preciznost duplikátních odečtů:

1. Všichni analytici provedou duplikátní odečty u 15-30 vzorků pro každý typ matrice, označené D1 a D2;
2. konverze dat do \log_{10} ;
3. stanovení absolutní hodnoty rozpětí a jeho $\log(R_{\log})$ pro každý pár (D1 – D2);
4. výpočet průměrné hodnoty \bar{R} pro každý datový soubor $\bar{R} = \frac{\sum R_{\log}}{n}$;
5. analytici nyní mohou zpracovávat denní duplikáty;
6. 99% kritérium preciznosti: $R \leq 3,27 \bar{R}$;
7. vynášení výsledků v regulačním diagramu ke sledování variability.

Ref. SMEWW (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater) 1998, 20th ed. (9-11).

** Zkoušení způsobilosti:

1. Zkoušení způsobilosti uvnitř laboratoře
Interně zadávané kontrolní vzorky nebo vzorky s přídavkem (spikované vzorky) používané pro:
 - a) průběžné posuzování analytické výkonnosti a kompetence jednotlivých analytiků z laboratoře,
 - b) způsob jak prokázat způsobilost pro zkoušky, které nejsou zahrnuty do externích programů zkoušení způsobilosti,
 - c) zjištění potřeby školení.
2. Mezilaboratorní zkoušení způsobilosti
Zkoušení způsobilosti z externího zdroje např. AOAC, FDA
 - a) poskytuje míru preciznosti a relativní přesnosti analytických metod provozovaných různými laboratořemi,
 - b) poskytuje odhad relativní přesnosti a preciznosti výsledků mezi laboratořemi,
 - c) může být používáno i pro vnitrolaboratorní zkoušení způsobilosti, ale samo o sobě není určeno k hodnocení kompetence jednotlivých analytiků.

VŠEOBECNÉ POŽADAVKY (pro chemické a mikrobiologické metody)

Laboratoř musí mít systém managementu, který je v souladu se systémem popsaným v ISO/IEC 17025:2005.

Analytici musí být odpovídajícím způsobem vyškoleni:

- Analytik musí mít odpovídající znalosti, zkušenosti a školení k provádění postupu.
- Analytik musí být způsobilý pro vykonávání svěřené funkce v laboratoři:
 - obsluhu instrumentace,
 - provádění analýz podle specifikace,
 - pochopení analytické techniky.
- O školení musí existovat zápis.

Provádění verifikace musí být plánované, schválené a zdokumentované. Závěrečná zpráva musí být uchována jako důkaz, že je laboratoř schopna provozovat metodu odpovídajícím způsobem.

Dokumentace o verifikaci by měla být vytvářena tak, aby

- popisovala postup, který bude verifikován,
- obsahovala podrobnosti o analytické výkonnostní charakteristice, která bude vyhodnocována,
- stanovila kritéria pro přijetí používaná k rozhodnutí, že postup funguje uspokojivě,
- odůvodňovala odchylky od referenční metody.

Všeobecné požadavky – specifičnost

Pro specifičnost platí u všech kategorií metod, že pokud jsou vzorky identické s těmi, pro které je metoda určena a validována a pokud se metoda opírá o základní principy, pak není verifikace potřebná. Pokud mají vzorky stejnou matici, nebude specifičnost, která vychází ze základních principů, ovlivňována. Základními principy jsou chemické reakce např. reakce Ag s Cl za tvorby sraženiny. U některých metod může mít na specifičnost vliv použité přístrojové vybavení. V těchto případech by měla laboratoř posoudit, zda by rozdíly v přístrojích mohly mít vliv na specifičnost a jestliže ano, zahrnout specifičnost do verifikace, např. rozdílné rozlišení anebo detekční systémy optických emisních spektrometrů s indukčně vázaným plazmatem mohou mít za výsledek odlišné interference.

VÝBĚR METOD „VHODNÝCH PRO DANÝ ÚČEL“

Analytické metody jsou hodnoceny podle charakteristických znaků, jakými jsou přesnost, preciznost, specifická citlivost, detekovatelnost a použitelnost v praxi. Při výběru metod je u hodnocení znaků kompromis neodmyslitelný. Každá metoda zvolená k použití však musí vyhovovat požadavkům regulace a musí odpovídat schopnostem personálu laboratoře. V závislosti na dostupné dokumentaci metody se před jejím přijetím k rutinnímu používání doporučuje různá míra validace a verifikace.

Laboratoř musí nejprve zajistit, že je vybraná metoda aplikovatelná na vzorky, které bude touto metodou analyzovat. Pokud existuje rozdíl mezi laboratorními vzorky a těmi, pro které byla metoda validována, musí se posoudit rozsah rozdílnosti a jeho dopad. Důsledek rozdílnosti může vyžadovat částečnou validaci zahrnující ovlivněné výkonnostní charakteristiky, nebo může metoda vyžadovat úplnou validaci.

NAHODILÉ ZMĚNY/ODCHYLKY OD VALIDOVANÉ METODY

Z mnoha důvodů nemusí být laboratoř schopna provádět metodu přesně tak, jak byla validována. Za těchto okolností se může s těmito rozdíly vypořádat verifikace. Několik nepředvídaných scénářů ukazuje tabulka 8. Pokud k tomu dojde, musí se aplikovat uvedená studie ekvivalence. Mohou existovat i další scénáře, tento seznam není vyčerpávající.

LÉČIVA

Aby se zabránilo nedorozuměním, je zde vysvětlen termín identita ve farmaceutickém průmyslu.

Zkoušky identity jsou ve farmacii určeny k potvrzení identity analytu ve vzorku. Identita – je tento materiál tím čím má být?

V jiných oblastech analytiky má identita jiný význam, např. v definici EURACHEM. „Je nutné prokázat, že signál získaný v měřicím kroku nebo jiná měřená vlastnost, které byly přiřazeny analytu, odpovídají pouze analytu a nejsou odrazem přítomnosti něčeho fyzikálně či chemicky podobného nebo nejsou důsledkem koincidence. To je potvrzení identity.“ KVALIMETRIE 9. *Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti.* Eurachem-ČR 1999, str. 16.

Takže ve farmacii termín identita popisuje „druh analytické zkoušky“ zatímco v příručce EURACHEM je identita analytickým parametrem.

Tabulka 8.

Parametr validované metody	Rozdíl vůči validované metodě	Potřebná studie ekvivalence
a. Použité přístroje a vybavení	a. Buď přístroj, nebo vybavení jsou zastaralé, nebo je laboratoř nemá a chce použít přístroj nebo vybavení, které má k dispozici.	a. Je potřeba instrumentální překlenovací studie ekvivalence, aby se zajistilo, že hodnoty poskytované alternativním přístrojem a vybavením jsou reprodukovatelně v relaci ke koncentracím stanoveným validovanou metodou.
b. Specifický detektor	b. Laboratoř nemá specifický detektor a chtěla by použít ten, který má k dispozici.	b. Studie ekvivalence je potřebná pro porovnání hodnot získávaných z obou detektorů, aby se zajistilo, že získávané hodnoty jsou reprodukovatelně v relaci ke koncentracím stanoveným validovanou metodou.
c. Příprava vzorků: občas se vzorky připravují v kapalném dusíku, aby se zabránilo ztrátě analytu(ů)	c. Pokud má laboratoř vhodné prostředí, může zpracovávat vzorek rychle při laboratorní teplotě.	c. Nutná je překlenovací srovnávací studie obou příprav vzorků pro zajištění, že získávané hodnoty jsou reprodukovatelně v relaci ke koncentracím stanoveným validovanou metodou.
d. Další možné situace		d. Jakákoliv ze situací uvedených ve sloupci 2 vyžaduje překlenovací studii pro zajištění, že jsou získávané hodnoty reprodukovatelně v relaci ke koncentracím stanoveným validovanou metodou.
i. Kolony a kartridže	i. Laboratoř chce použít dostupné kolony a kartridže od různých dodavatelů.	
ii. Mobilní fáze	ii. Někdy se zjistí, že je mobilní fáze používaná ve validované metodě korozivní a poškozuje čerpadlo a těsnění. V tomto případě se může použít zaměnitelná náhrada.	
iii. Gradient mobilní fáze	iii. Nemá-li laboratoř třicestný gradientní systém, jsou rozpouštědla předem namíchána pro dvoucestný gradient.	
iv. Výkonnost postupu	iv. Mohou být nutné malé změny extrakčních a čistících kroků, jako je záměna extrakčního rozpouštědla za méně zdravotně závadné, třepání za mixování, použití zaměnitelného rozpouštědla, použití SPE kartridží různých dodavatelů, atd.	

POTRAVINY

Chemické zkoušení kategorie 3: metoda určující, zda je analyt přítomen nad či pod specifikovanou nízkou koncentrací (často nazývané zkouškou pro posouzení vůči mezi). Tato kategorie je do jisté míry ožehavá, protože leží na rozhraní kvantitativních a kvalitativních stanovení. Z hlediska bezpečnosti potravin však představuje velmi důležitou kategorii, např. residua zakázaných veterinárních léčiv, která nesmí být přítomna v potravinách živočišného původu. V EU je toto předmětem Rozhodnutí 657/2002/EC. V EU se klade mnohem větší důraz na validaci těchto metod, než je tomu v této příručce.

DEFINICE

Přesnost

Pro potřeby tohoto dokumentu je termín přesnost (accuracy) definován jako:

Těsnost souhlasu mezi naměřenou hodnotou a přijímanou „pravou“ nebo referenční hodnotou. Přesnost je indikátorem vychýlení/bias měřicího procesu. Přesnost se často vyhodnocuje opakovaným přidáváním (spikování) matrice nebo placebo známými úrovněmi analytu při cílových hodnotách nebo v jejich blízkosti. Podíl nebo procento přidaného analytu, získaného z čisté matrice se často používá jako ukazatel přesnosti. Přidaný analyt však nemusí vždy odrážet podmínky přirozeného analytu v materiálech, které přicházejí k analýze (*Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, 18th ed., Příloha E).

Je zřejmé, že definice z *Official Methods of Analysis* neodpovídá zcela současné definici přesnosti z VIM 3 (TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník— Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)*), která v odstavci 2.13 (3.5) zní:

přesnost měření

přesnost

Těsnost shody mezi naměřenou hodnotou veličiny a pravou hodnotou veličiny měřené veličiny.

POZNÁMKA 1. Pojem „přesnost měření“ není veličinou a není dán číselnou hodnotou veličiny. Měření je prohlášeno za přesnější, když nabízí menší chybu měření.

POZNÁMKA 2. Termín „přesnost měření“ nemá být používán pro „pravdivost měření“ a termín „preciznost měření“ nemá být používán pro „přesnost měření“, která se nicméně vztahuje k oběma těmto pojmům.

POZNÁMKA 3. „Přesnost měření“ je někdy chápána jako těsnost shody mezi naměřenými hodnotami veličiny, které jsou přiřazeny měřené veličině.

Mezilehlá preciznost

Mezilehlá preciznost (intermediate precision): preciznost analytického postupu vyjadřuje těsnost shody mezi sérií měření laboratorních vzorků odebraných ze stejného homogenního vzorku za předepsaných podmínek. Mezilehlá preciznost vyjadřuje variabilitu uvnitř laboratoře: různé dny, různé

analytici, různé zařízení, atd. (ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2R).

Mezilehlá preciznost: preciznost měření za souboru podmínek mezilehlé preciznosti měření (TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)*, 2.23 bez poznámek).

Opakovatelnost

Opakovatelnost (repeatability) (výsledků měření): Těsnost shody mezi výsledky následných měření stejné měřené veličiny prováděných při splnění všech následujících podmínek:

- stejný měřicí postup,
- stejný pozorovatel,
- stejné měřicí zařízení, používané za stejných podmínek,
- stejné místo a
- opakování v krátkém časovém intervalu.

(ISO Guide 30:1992 A7)

Opakovatelnost

Preciznost měření za souboru podmínek opakovatelnosti měření (TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny*, (VIM 2.21).

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost (reproducibility) (výsledků měření): Těsnost shody mezi výsledky měření stejné měřené veličiny, jsou-li měření prováděna za změněných podmínek jako:

- princip či metoda měření,
- pozorovatel,
- měřicí zařízení,
- místo,
- podmínky použití a
- čas.

(ISO Guide 30 A.8)

POZNÁMKA: Pro potřeby této příručky ALACC by změna principu měření vedla k vytvoření nové metody, která by se musela validovat.

Reprodukovatelnost

Preciznost měření za podmínek reprodukovatelnosti měření (TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)*, 2.25).

Standardní metoda

Metoda, která byla validována autoritativním orgánem. Většinu potravinářských a farmaceutických metod lze nalézt v příručkách sbírkách AOAC, USDA, FDA, EPA, AOCS, AACC, ISO, IUPAC, USP, a FCC. Mnoho obchodních společností publikuje své vlastní metody a poskytuje užitečné zdroje. Mezi příklady lze uvést Corn Refiners Association, National Food Processors Association, Association for Dressings and Sauces, a American Spice Trade Association.

Validovaná metoda

Plánovaný a dokumentovaný postup stanovení výkonnostních charakteristik metody. Výkonnostní charakteristiky nebo validační parametry metody určují její vhodnost pro daný účel. Definují, co je metoda schopna dokázat za optimalizovaných podmínek rozpouštění matrice, izolace analytu, nastavení přístrojů a dalších experimentálních podmínek. Zahrnutí určitého validačního parametru do postupu validace závisí podle okolností na aplikaci, zkušebních vzorcích, cíli metody a domácích nebo mezinárodních směrnících nebo právně závazných předpisech. (Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 18th ed., Příloha E)

POZNÁMKY

Validace pomocí systematické laboratorní studie potvrzuje, že je metoda vhodná pro daný účel, tedy že její výkonnostní charakteristiky umožňují poskytovat výsledky odpovídající potřebám daného analytického problému. Důležité výkonnostní charakteristiky zahrnují selektivitu a specifickou (popis měřené veličiny), měřicí rozsah, kalibraci a návaznost, linearitu a její sklon, mez detekce/mez stanovitelnosti, robustnost a preciznost. Tyto charakteristiky navzájem souvisejí. Mnoho z nich přispívá k celkové nejistotě měření a získané údaje se mohou použít k vyhodnocení nejistoty měření. Rozsah validace musí být jasně uveden v dokumentované metodě, aby mohli uživatelé posoudit vhodnost takové metody pro svoje konkrétní potřeby.

Příklady validovaných metod lze získat od organizací, jako je např. AOAC INTERNATIONAL.

Verifikace/Ověřování²

Poskytnutí objektivního důkazu, že daná položka splňuje specifikované požadavky.

PŘÍKLADY:

1. Potvrzení, že daný referenční materiál je pro dotčenou hodnotu veličiny a postup měření homogenní tak, jak je to o něm deklarováno, a to až do měřících navážek s hmotností 10 mg.
2. Potvrzení, že jsou dosaženy funkční vlastnosti nebo zákonné požadavky na měřicí systém.
3. Potvrzení, že cílová nejistota měření může být splněna.

POZNÁMKY:

1. Pokud je to vhodné, má být brána v úvahu nejistota měření.
2. Položkou může být např. proces, postup měření, materiál, sloučenina nebo měřicí systém.
3. Specifikovanými požadavky může být například, že jsou splněny specifikace výrobce.
4. Ověřování v legální metrologii, definované ve VIML a obecně v posuzování shody, se týká přezkoušení a označení a/nebo vydání ověřovacích listů pro měřicí systém.
5. Ověřování nemá být zaměňováno s kalibrací. Ne každé ověření je validací.

² Při překladu termínu *verification* se v této příručce používá přednostně anglikanismus *verifikace*, protože je to zažitý termín v chemických a zdravotnických laboratořích v Česku; *ověřování* se v nich především používá v péči o stanovená měřidla ve smyslu plnění právně závazných požadavků zákona č. 505/1990 Sb., o metrologii, ve znění pozdějších předpisů (pozn. překladatele).

6. V chemii se k ověření identity obsažené entity nebo aktivity vyžaduje popis struktury nebo vlastností příslušné entity nebo aktivity.

TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny* (VIM), 2.44.

Verifikace/Ověřování²

Potvrzení prostřednictvím poskytnutí objektivních důkazů, že specifikované požadavky byly splněny (ISO 9000:2000 3.8.4)

POZNÁMKA: V souvislosti s managementem měřicích zařízení poskytuje ověřování způsob kontroly, že odchylky mezi hodnotami vykazovanými měřicím přístrojem a odpovídajícími známými hodnotami měřené veličiny jsou systematicky menší než maximálně dovolené chyby definované v normě, závazných právních předpisech nebo specifikaci týkajících se managementu daného měřicího zařízení. Výsledkem ověřování je rozhodnutí o opětovém uvedení do provozu, provedení justování, opravy, přeřazení do nižší kategorie nebo vyřazení. Ve všech případech je vyžadován písemný záznam o ověřování, uchovávaný v materiálech o měřicím přístroji.

Řada příruček KVALIMETRIE

V prodeji jsou následující tituly:

8. Základy metrologie v chemii (1998).
9. Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti (1999).
10. Jakost v analytické laboratoři 2000 (2000).
11. Stanovení nejistoty analytického měření (překlad rozšířeného anglického vydání z r. 2000), (Dotisk třetího rozšířeného vydání 2008).
12. Průvodce jakostí v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci (překlad anglického vydání *Guide to Quality in Analytical Chemistry. An Aid to Accreditation*. EURACHEM/CITAC 2002), (2003).
13. Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. Kolektiv autorů (2003).
14. a) Návaznost chemických měření. Průvodce k dosažení srovnatelných výsledků chemických měření (překlad anglického vydání *Traceability in chemical measurement. A guide to achieving comparable results in chemical measurement*, EURACHEM/CITAC 2003).
b) Používání referenčních materiálů v chemické analýze. K. Bičovský, J. Dempír, L. Dohnal, B. Friedecký, J. Kratochvíla, J. Kučera, Z. Plzák (2004).
15. a) Použití informací o nejistotě k posuzování shody (překlad anglického vydání *Use of uncertainty information in compliance assessment*, EURACHEM/CITAC Guide 2007).
b) Nejistota měření vyplývající z odběru vzorků: Metodická příručka s postupy (překlad anglického vydání *Measurement uncertainty resulting from sampling. A guide to methods and approaches*, EURACHEM/CITAC 2007) (2008).
16. Statistické metody v metrologii a analytické chemii. Řešené příklady na CD-ROM v Excelu. M. Suchánek (2009).
17. Mezinárodní porovnávání a zkoušení způsobilosti. M. Suchánek, M. Budina, E. Klokočnicková, J. Kratochvíla (2010).

ISBN 80-86322-06-8