



# **Analitik Metotların Amaca Uygunluğu**

**Metodun Geçerli Kılınması ve İlgili Konular için Laboratuvar Kılavuzu**

**İngilizce İkinci Baskı 2014**

**Türkęe Çeviri 2018**



## Eurachem Kılavuzu

# Analitik Metotların Amaca Uygunluğu

## Metodun Geçerli Kılınması ve İlgili Konular için Laboratuvar Kılavuzu

İkinci baskı

### Teşekkür

Bu doküman, Eurachem'in Metodun Geçerli Kılınması Çalışma Grubu üyeleri ve bu konu için görevlendirilmiş diğer üyeler tarafından oluşturulmuştur. Bu baskıya katkıda bulunanlar aşağıda sıralanmıştır.

### Proje Grubu

Vicki Barwick	LGC (UK)
Pedro P. Morillas Bravo	Canal de Isabel II Gestión (ES)
Stephen L. R. Ellison	LGC (UK)
Joakim Engman	National Food Agency (SE)
Elin L. F. Gjengedal	Norwegian University of Life Sciences (NO)
Ulla Oxenbøll Lund	Eurofins Miljø A/S (DK)
Bertil Magnusson (editor)	SP Technical Research Institute of Sweden (SE)
Hans-Thomas Müller	Mersin (TR)
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanità (IT)
Barbara Pohl	Merck KGaA (DE)
Piotr Robouch	European Commission (EU)
Lorens P. Sibbesen (chairman)	Labquality International (DK)
Elvar Theodorsson	University Hospital in Linköping (SE)
Florent Vanstapel	University Hospital Leuven, Leuven (BE)
Isabelle Vercauteren	BELAB (BE)
Aysun Yılmaz	Çevre Gıda ve Analiz Laboratuvarı (TR)
Perihan Yolcu Ömeroglu	Okan Üniversitesi (TR)
Ulf Örnemark (editor)	Emendo Dokumentgranskning (SE)

### Telif Hakkı ©

Bu dokümanın telif hakkı katkıda bulunan yazarlara aittir. Çeviri de dahil olmak üzere dokümanın herhangi bir ortamda çoğaltılmasına ilişkin talepler Eurachem sekreteriyasına yöneltilmelidir. Doküman satılmak üzere çoğaltılamaz.

### Önerilen Atıf Biçimi

Bu yayına, “B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2<sup>nd</sup> ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).” şeklinde atıfta\* bulunulmalıdır.

\*Derginin gerekliliklerine tabidir.

**Türkçe çeviri**

Kılavuzun Türkçe çevirisi; F. Akçadağ\*, M. Bilsel\*, B. Binici\*, O. Cankur\*, K. Topal\*, A. Yılmaz† ve P. Yolcu Ömeroğlu‡ tarafından yapılmıştır.

Bu doküman Türkçe çevirisinin kontrolünü yapan M. Akgöz\* ve M. Tunç\*a teşekkür ederiz.

---

\* TÜBİTAK UME

† İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı

‡ Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

## İçindekiler

<i>İkinci baskıya önsöz</i> .....	1
<i>Birinci baskıya önsöz</i> .....	2
<i>Kısaltmalar ve semboller</i> .....	3
<b>1. Giriş</b> .....	5
<b>1.1 Bu Kılavuz'un gerekçesi ve kapsamı</b> .....	5
<b>1.2 Kılavuz'un kullanımı hakkında notlar</b> .....	5
1.2.1 Terimler.....	5
1.2.2 Hızlı Referanslar.....	6
<b>2 Metodun geçerli kılınması nedir?</b> .....	7
<b>2.1 Tanımlar</b> .....	7
<b>2.2 Geçerli kılma ve doğrulama arasındaki fark nedir?</b> .....	7
<b>3 Metodun geçerli kılınması neden gereklidir?</b> .....	9
<b>3.1 Analitik ölçümün önemi</b> .....	9
<b>3.2 Analitik kimyacının asli görevi</b> .....	9
<b>3.3 Metot geliştirme</b> .....	9
<b>4 Metotlar ne zaman geçerli kılınmalı ve doğrulanmalıdır?</b> .....	11
<b>4.1 Metodun geçerli kılınması</b> .....	11
<b>4.2 Metodun doğrulanması</b> .....	11
<b>5 Metotlar nasıl geçerli kılınmalıdır?</b> .....	13
<b>5.1 Metodun geçerli kılınmasını kim gerçekleştirir?</b> .....	13
5.1.1 Metodun geçerli kılınması için yaklaşımlar.....	13
5.1.2 Laboratuvarlararası yaklaşım.....	13
5.1.3 Tek laboratuvar yaklaşımı.....	13
<b>5.2 Geçerli kılma çalışmalarının derecesi</b> .....	13
<b>5.3 Geçerli kılma planı ve raporu</b> .....	14
<b>5.4 Geçerli kılma araçları</b> .....	15
5.4.1 Boş numuneler.....	15
5.4.2 Rutin test numuneleri.....	15
5.4.3 Analit eklenmiş malzemeler/çözeltiler.....	15
5.4.4 Üretim aşamasında analit eklenmiş malzemeler.....	15
5.4.5 Ölçüm standartları.....	15
5.4.6 İstatistikler.....	16
<b>5.5 Geçerli kılma gereklilikleri</b> .....	16
<b>5.6 Metodun geçerli kılınması süreci</b> .....	16
<b>6 Metot performans özellikleri</b> .....	19
<b>6.1 Seçicilik</b> .....	19
6.1.1 Terimler ve tanımlar.....	19
6.1.2 Girişimlerin etkileri.....	19
6.1.3 Seçiciliğin değerlendirilmesi.....	19

<b>6.2</b>	<b>Algılama sınırı ve tayin sınırı</b> .....	<b>20</b>
6.2.1	Terimler ve tanımlar .....	20
6.2.2	Düşük seviyelerde standart sapmanın belirlenmesi .....	21
6.2.3	LOD'nin tahmini .....	24
6.2.4	LOQ'nun tahmini .....	24
6.2.5	Alternatif prosedürler .....	25
6.2.6	Nitel analizler için algılama kabiliyeti .....	25
<b>6.3</b>	<b>Çalışma aralığı</b> .....	<b>27</b>
6.3.1	Tanım .....	27
6.3.2	Geçerli kılma çalışmasında dikkat edilmesi gerekenler .....	27
6.3.3	Metot ve cihaz çalışma aralığı .....	27
6.3.4	Cihaz çalışma aralığının değerlendirilmesi .....	27
6.3.5	Metot çalışma aralığının değerlendirilmesi .....	28
<b>6.4</b>	<b>Analitik duyarlılık</b> .....	<b>30</b>
6.4.1	Tanım .....	30
6.4.2	Uygulamalar .....	30
<b>6.5</b>	<b>Gerçeklik</b> .....	<b>30</b>
6.5.1	Ölçüm kalitesini tanımlayan terimler .....	30
6.5.2	Sapmanın belirlenmesi .....	31
6.5.3	Sapma ölçümlerinin yorumlanması .....	34
<b>6.6</b>	<b>Kesinlik</b> .....	<b>35</b>
6.6.1	Tekrarlama .....	35
6.6.2	Kesinlik koşulları .....	35
6.6.3	Kesinlik sınırları .....	36
6.6.4	Tekrarlanabilirlik ve ara kesinliğin eş zamanlı belirlenmesi .....	36
<b>6.7</b>	<b>Ölçüm belirsizliği</b> .....	<b>38</b>
<b>6.8</b>	<b>Sağlamlık</b> .....	<b>38</b>
6.8.1	Tanım .....	38
6.8.2	Sağlamlık testi .....	38
<b>7</b>	<b>Geçerli kılınmış metotların kullanımı</b> .....	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>Geçerli kılma verilerinin kalite kontrol tasarımında kullanımı</b> .....	<b>43</b>
<b>8.1</b>	<b>Giriş</b> .....	<b>43</b>
<b>8.2</b>	<b>İç kalite kontrol</b> .....	<b>43</b>
<b>8.3</b>	<b>Dış kalite kontrol</b> .....	<b>44</b>
<b>9</b>	<b>Geçerli kılınan metotların dokümantasyonu</b> .....	<b>45</b>
<b>9.1</b>	<b>Taslaktan son sürüme</b> .....	<b>45</b>
<b>9.2</b>	<b>Tavsiyeler</b> .....	<b>45</b>
9.2.1	Talimatların kontrolü .....	45
9.2.2	Standartlardaki tavsiyeler .....	45
9.2.3	Doküman kontrolü .....	45
<b>10</b>	<b>Sonuçların hesaplanması ve raporlanması için geçerli kılma verilerinin ifade ettikleri</b> .....	<b>47</b>
<b>Ek A</b>	<b>Metot dokümantasyon protokolü</b> .....	<b>49</b>
<b>Ek B</b>	<b>Algılama sınırı hesaplarının istatistiksel temeli</b> .....	<b>53</b>
<b>Ek C</b>	<b>Varyans analizi (ANOVA)</b> .....	<b>54</b>
<b>Ek D</b>	<b>Nitel analizler ile ilgili notlar</b> .....	<b>56</b>
<b>2</b>	<b>Kaynakça</b> .....	<b>59</b>

## İkinci baskıya önsöz

Bu Kılavuz'un 1998 yılındaki birinci baskısından beri, analitik kalite alanında bir takım önemli gelişmeler olmuştur. İlk olarak, kalite yönetim sistemine temel oluşturmak amacıyla kullanılan ISO 9000 serisi standartları gözden geçirilmiştir. Adı geçen dokümanlar laboratuvarların, yeterlilik test sağlayıcılarının (YT) ve referans malzeme (RM) üreticilerinin yeterlilik gerekliliklerini destekleyen uygunluk değerlendirme standartları ve kılavuzlarının felsefesinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Tüm bu dokümanlar, geçerli kılınmış metotların kullanılmasının önemine vurgu yapmaktadır.

İkinci olarak, geçerli kılma konusunda, genel veya sektöre özel birçok kılavuz gözden geçirilmiş veya geliştirilmiştir. AB mevzuatı, birçok sektörde analitik ölçümler için zorunlu gereklilikler içermektedir.

Üçüncü olarak, analitik camia, belirsizlik kavramını hayata geçirmek için çok fazla gayret sarfetmiştir. Örneğin, IUPAC, "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (2002)", kılavuzunda "... amaca uygunluğun ve sonuçların güvenilirliğinin bir göstergesi olarak ölçüm belirsizliğine güveni artırarak ölçüm belirsizliği tahminini desteklemek için analitik kimyacılar, daha fazla metot geçerli kılma faaliyetleri yürüteceklerdir" tahmininde bulunmuştur. Takip eden yıllarda, akreditasyon kuruluşları, ölçüm belirsizliği tahmin sürecinde geçerli kılma verisinin kullanılmasını açıkça tanıyan politikalar ve kılavuzlar yayınlamıştır.

Dahası, kimyasal ve biyolojik ölçümler dikkate alınarak "Uluslararası Metroloji Sözlüğü - Temel ve Genel Kavramlar, İlgili Terimler (VIM)" büyük oranda değiştirilmiştir. Geçerli kılmayla ilgili teknik terimler her ne kadar birbiriyle uyumlu olmaktan uzak olsa da, durum iyileşmiştir. VIM, örneğin, ISO/IEC 17025 ve ISO 15189'a göre akredite olan laboratuvarlar için de kural teşkil eden bir dokümandır.

Bu Kılavuz'un ikinci baskısı, uluslararası standartlardaki ve kılavuz dokümanlardaki değişiklikleri yansıtmayı hedeflemekte, terimlere ve tanımlara daha az vurgu yapmaktadır. Bunun yerine, bu Kılavuz, VIM'e ve diğer ulaşılabilir kaynaklara atıfta bulunmaktadır. Dolayısıyla, terimler ve tanımlar listesi Ek'ten çıkarılmıştır. Kılavuz'un bu baskısında kullanılan yayınlar son kısımda, kaynaklarda verilmiştir. Metot geliştirme ve geçerli kılma hususundaki ek kaynaklar ve literatür Eurachem'in [www.eurachme.org](http://www.eurachme.org) internet sitesi menüsündeki "Publications" seçeneği altında "Reading list" başlığında yer almaktadır. Ek A, ISO 78-2'deki değişiklikler doğrultusunda değiştirilmiştir. Bu baskı, algılama sınırı hesaplamalarının istatistiksel temelini (Ek B), varyans analizini (Ek C) ve nitel analizleri (Ek D) içerecek şekilde genişletilmiştir.

Ticari ölçüm sistemlerini kullanmak, rutin laboratuvarlar arasında, özellikle klinik sektörde gittikçe yaygınlaşmaktadır. Bu da geçerli kılma sorumluluğunun temel olarak üreticide olduğu anlamına gelir. Laboratuvarın çalışması, üreticinin yayınladığı performans verisinin doğrulanmasına ve metodun son kullanıcının imkanları dahilinde çalışmasının gösterilmesine odaklanacaktır.

Ancak, birinci baskının önsözüne tekrar baktığımızda, orada sunulan altı kuralın hala geçerli ve ISO/IEC 17025 gibi uluslararası standartların şartları ile uyumlu olduğu sonucuna varırız.

## Birinci baskıya önsöz\*

Birleşik Krallık'ta analitik ölçümde iyi uygulamaları desteklemeyi hedefleyen bir girişim, uygulamaların temelini oluşturduğu düşünülen altı analitik uygulama ilkesi belirlemiştir. Başka bir kılavuzda<sup>†</sup> daha detaylı tanımlanmış olan bu altı ilke;

1. “Analitik ölçümler, uzlaşılan gerekliliğin yerine getirilmesi için yapılmalıdır” (örneğin tanımlanmış bir amaç).
2. “Analitik ölçümler, amaca uygunlukları test edilmiş metotlar ve cihazlar kullanılarak yapılmalıdır”.
3. “Analitik ölçümleri gerçekleştiren personel, görevi yerine getirme becerisine sahip ve yetkin olmalıdır” (ve analizi uygun bir şekilde gerçekleştirebildiğini göstermelidir).
4. “Laboratuvarın teknik performansının düzenli bağımsız bir değerlendirmesi olmalıdır”.
5. “Bir yerde yapılan analitik ölçümler, başka yerde yapılanlarla uyumlu olmalıdır”.
6. “Analitik ölçümleri yapan organizasyonlar, iyi tanımlanmış kalite kontrol ve kalite güvence prosedürlerine sahip olmalıdır”.

Bu prensipler, tek başına çalışan veya elde ettiği sonuçları diğer laboratuvarlarla karşılaştıran laboratuvarlar için eşit oranda geçerlidir.

Bu doküman, 2. prensibi geliştirmeye çalışan laboratuvarlara, test metotlarının amaca uygunluğunu göstermek üzere değerlendirilmesinde kılavuzluk etmek amacını taşır.

---

\* Bu kılavuzun birinci baskısı (1998) LGC tarafından oluşturulan Eurachem Çalışma Grubu tarafından geliştirilmiştir. O zamanlar aşağıda adı verilen kişiler Eurachem üyesiydi:

D. Holcombe, P. De Bièvre, D. Böttger, C. Eastwood, J. Hlavay, M. Holmgren, W. Horwitz, M. Lauwaars, B. Lundgren, L. Massart, J. Miller, J. Morkowski, B. te Nijenhuis, B. Nyeland, R. Philipp, P. Radvila, J. Smeyers-Verbeke, R. Stephany, M. Suchanek, C. Vandervorst, H. Verplaetse, H. Wallien, M. Walsh, W. Wegscheider, D. Westwood, H. J. van de Wiel.

<sup>†</sup> VAM'a yönetici kılavuzu, Birleşik Krallık Ticaret ve Endüstri Departmanı, Geçerli Analitik Ölçümler Programı. VAM İlkeleri olarak yayınlanan M. Sargent. Anal.Proc., 1995, 32, 201-202.



## Kısaltmalar ve semboller

Bu Kılavuz'da aşağıda verilen kısaltmalar, akronimler ve semboller geçmektedir.

AMC	Analytical Methods Committee	Analitik Metotlar Komitesi
ANOVA	Analysis of variance	Varyans analizi
AOAC International	a globally recognized standards developing organization	küresel olarak tanınan bir standart geliştirme organizasyonu
ASTM International	a globally recognized standards developing organization	küresel olarak tanınan bir standart geliştirme organizasyonu
BIPM	International Bureau of Weights and Measures	Uluslararası Ağırlıklar ve Ölçüler Bürosu
CCQM	Consultative Committee for Amount of Substance – Metrology in Chemistry	Madde Miktarı Danışma Komitesi – Kimyada (ve Biyolojide) Metroloji
CEN	European Committee for Standardization	Avrupa Standartlaştırma Komitesi
CITAC	Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry	Analitik Kimyada Uluslararası İzlenebilirlik Birliği
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CRM	certified reference material	sertifikalı referans malzeme (SRM)
EA	European co-operation for Accreditation	Avrupa Akreditasyon Birliği
EC	European Commission	Avrupa Komisyonu
EPA	Environmental Protection Agency	Çevre Koruma Ajansı
EQA	external quality assessment	dış kalite değerlendirme (DKD)
EU	European Union	Avrupa Birliği
GUM	Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement	Ölçüm sonucunun değerlendirilmesi – Ölçüm belirsizliğinin hesaplanması kılavuzu
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	İlaçların İnsan Kullanımının Tescillendirmesindeki Teknik Gereklilikleri Düzenleme Konferansı
IEC	International Electrotechnical Commission	Uluslararası Elektroteknik Komisyonu
ISO	International Organization for Standardization	Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
JCGM	Joint Committee for Guides in Metrology	Metroloji Kılavuzları Ortak Komitesi
LOD	limit of detection	algılama sınırı
LOQ	limit of quantification	taayin sınırı
NATA	National Association of Testing Authorities	Ulusal Test Yetkilileri Birliği (Avustralya)
QA	quality assurance	kalite güvence
QC	quality control	kalite kontrol
RSC	Royal Society of Chemistry	Kraliyet Kimya Topluluğu
SANCO	European Commission's Directorate-General for Health and Consumers	Avrupa Komisyonu Sağlık ve Tüketiciyi Koruma Genel Müdürlüğü
SOP	standard operating procedure	standart çalışma prosedürü
PT	proficiency testing	yeterlilik testi (YT)
RM	reference material	referans malzeme
RSD	relative standard deviation	bağıl standart sapma
UV/VIS	ultraviolet/visible	ultraviyole/görünür
VIM	International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms	Uluslararası metroloji sözlüğü – Temel ve genel kavramlar, ilgili terimler

$b$	mutlak sapma
$b$ (%)	% bağıl sapma
$k_Q$	tayin sınırını hesaplamak için kullanılan katsayı
$m$	ölçüm sayısı
$n$	sonuçların raporlanmasında ortalaması alınan tekrarlı gözlemlerin sayısı
$n_b$	boş düzeltmesi hesaplamasında ortalaması alınan boş gözlemlerin sayısı
$r$	tekrarlanabilirlik sınırı
$R$	tekrar üretilebilirlik sınırı
$R$ (%)	yüzde bağıl geri kazanım (bilinen geri kazanım)
$R'$ (%)	analit ekleme ile elde edilen bağıl yüzde geri kazanım
$s$	standart sapma
$s_0$	sıfır derişim veya civarında tek tekrarlı sonuçların tahmini standart sapması
$s'_0$	LOD ve LOQ hesaplamak için kullanılan standart sapma
$s_I$	ara kesinlik standart sapması
$s_r$	tekrarlanabilirlik standart sapması
$s_R$	tekrar üretilebilirlik standart sapması
$u$	standart belirsizlik
$\bar{x}$	ortalama değer (aritmetik ortalama)
$x_{\text{ref}}$	referans değer
$\bar{x}_{\text{ref}}$	alternatif metotla elde edilen ölçümlerin ortalama değeri, ör. referans metot
$\bar{x}'$	geri kazanım çalışmalarında analit eklenmiş numunenin ortalama değeri
$x_{\text{eklenen}}$	geri kazanım çalışmasında numuneye eklenen derişim

## 1. Giriş

### 1.1 Bu Kılavuz'un gerekçesi ve kapsamı

Metodun geçerli kılınması, kimyasal analizlerin uygulanmasında önemli bir gerekliliktir. Birçok analitik kimyacı bunun önemini farkındadır, ancak neden yapılmalı, ne zaman ve tam olarak neler yapılmalı her zaman açık değildir. Bazı analistler metodun geçerli kılınmasını sadece diğer laboratuvarla işbirliği ile yapılabilen bir şey olarak görür ve bu nedenle yapmaktan kaçınırlardı. ISO/IEC 17025 [1], ISO 15189 [2] ve ISO 15195 [3] gibi standartlardaki gereklilikler, bu konuyu netliğe kavuşturmaya yardımcı olmuştur. Örneğin, metodların amaca uygunluğunun gösterilmesi ihtiyacı ISO/IEC 17025'in 5.4.2 maddesinde vurgulanmıştır:

*“Laboratuvar, müşterilerinin ihtiyaçlarını karşılayabilen ve uygulanacak deney ve/veya kalibrasyon metotlarına uygun, numune alma metodunu da içeren deney ve/veya kalibrasyon metotlarını kullanmalıdır....”* ve devamında: *“Müşteri, kullanılacak metodu belirtmemiş ise laboratuvar uygun metotları seçmelidir...”*

Bu Kılavuz'un amacı, metodun geçerli kılınması ile ilgili konuları tartışmak, ne içerdiği, neden önemli olduğu hakkında okuyucunun bilgisini artırmak ve bunun nasıl gerçekleştirilebileceği hakkında fikir vermektir.

Bu Kılavuz'un, en çok, a) gözetimleri altındaki metotların uygun biçimde geçerli kılındığından emin olmak durumunda olan laboratuvar yöneticileri ve b) geçerli kılma amacına yönelik çalışma yöntemleri planlamak ve yürütmekten sorumlu analistler tarafından kullanılacağı tahmin edilmektedir. Diğerleri - yönetici bakış açısıyla uzman ve teknik personel veya eğitim amacıyla uzman olmayan personel - için kılavuz, temel bir ön bilgi kaynağı olarak kullanılabilir.

Bu Kılavuz, tek laboratuvarda yapılan geçerli kılmaya odaklanır. Kılavuz, okuyucuyu daha önce oluşturulmuş protokoller varsa bunlara yönlendirmeyi, yoksa geçerli kılma süreçlerine basit bir giriş yapıp okuyucuya kendi geçerli kılma stratejisini tasarlayabilmek için bazı temel fikirler sağlamayı amaçlamaktadır. Kılavuz, geçerli kılmanın özel bazı teknik yönleri hakkında daha fazla bilgi sağlayan kaynaklar içermektedir.

Bu kılavuz, nicel metotların geçerli kılınmasını hedefler. Ancak, burada tanımlanan seçicilik ve

algılama sınırı (LOD) gibi bazı kavramlar, bir veya daha fazla analitin varlığının tespitinde kullanılan nitel metotlarla da ilgilidir.

Geçerli kılma sürecinin anlaşılması ve uygulanması, temel istatistik bilgisine sahip kişilere, tartışmasız, daha kolay gelecek olmasına rağmen, bu Kılavuz istatistiklerin kullanımına vurgu yapmaktan kaçınır. Kimyacılar için temel istatistik üzerine birkaç yayına atıf yapılmıştır. [4, 5, 6].

Farklı sektörlerdeki analitik ölçümlerin değerlendirilmesi süreçlerinde kullanılan birçok metrolojik ve teknik terimin, gerek anlam gerekse belirleme yolu bakımından çeşitlilik göstermesi, analistin metod geçerli kılma algısını kısıtlamaktadır. Bu Kılavuz, açıklık getirmek amacıyla yazılsa da bir terimin nerede doğru nerede yanlış biçimde kullanıldığını söyleyemez. Yanlış anlaşılabilir bir terim kullanılması durumunda en iyi öneri, kaynağın ve uygulanan yaklaşımın belirtilmesidir.

Metodun geçerli kılınması sürecinde, metod performans özellikleri\* belirlenirken kullanılan cihazların tanımlanmış sınırları içerisinde doğru şekilde kullanıldığı ve amaca uygun kalibre edildiği bilinir. Bu nedenle, bu Kılavuz “ekipman nitelikleri” veya “cihaz nitelikleri” kavramlarını özel olarak ele almaz. Benzer şekilde, çalışmalarını gerçekleştiren analist, çalışılan alanda ustalık ve çalışma sırasında yaptığı gözlemlerden yola çıkarak uygun kararları verebilmek için yaptığı işle ilgili yeterli bilgiye sahip olmalıdır.

### 1.2 Kılavuz'un kullanımı hakkında notlar

#### 1.2.1 Terimler

Bu Kılavuz'un güncellenmesindeki temel amaç, onbeş yıl önce yayınlanan ilk baskısından bu yana ortaya çıkan gelişmeleri yansıtacak şekilde terimler ve kaynakların güncellenmesidir. Terimler için mümkün olduğunca ilk baskısı 2007'de yapılmış olan VIM'in 3. baskısını takip ettik [7, 8]. Bu, gerektiğinde analitik laboratuvarlar tarafından yaygın olarak kullanılan terimleri yansıtmak adına ISO 17025:2005 [1], diğer ISO belgeleri [9, 10, 11] ve 2002 yılında yayınlanan “IUPAC Harmonized Guidelines for

\* Metod performans özellikleri için yaygın olarak kullanılan eşanlamlı terimler “metod performans parametreleri”, “metrolojik özellikleri” ve “performans özellikleri”dir.

Single-Laboratory Validation” [12] dökümanı ile desteklenmiştir.

Bazı durumlarda, benzer terimler kullanılmıyorsa, hangi terimin kullanılacağına karar vermek zordur. Anlaşılır olması açısından, tüm Kılavuz boyunca aynı terimin tutarlı şekilde kullanılmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Bu duruma; belirli bir laboratuvardaki personel ve cihaz kullanılarak geçerli kılınacak metodun detaylı tanımının yapıldığı doküman için kullanılan terim örnek olarak verilebilir. Nicel analizler için, VIM, *ölçüm prosedürü’ne* atıf yapar, ISO/IEC 17025’te *metot*’tur, ISO 15189 [2] *inceleme prosedürü’dür* ve birçok laboratuvar ise kendilerinin *standart çalışma prosedürüne* (SOP) atıf yapar. Çalışma grubu, ISO/IEC 17025’e bağlı kalmaya ve yaygın olarak kullanılan *metot* terimini kullanmaya karar vermiştir. Dolayısıyla, “prosedürün geçerli kılınması” daha doğru olacaksa da bu Kılavuz yaygın olan “metodun geçerli kılınması” terimi kullanır.

“Sağlamlık” ve “seçicilik” terimleri IUPAC [12] tarafından kullanıldığı için “dayanıklılık” ve “özgüllük” [13] terimlerine tercih edilmişlerdir.

Laboratuvar işlerini tanımlamak için “kalibrasyon”, “ölçüm”, “test”, “analiz”, “inceleme” gibi terimler kullanılmaktadır. Bu kılavuz, “analiz” terimini genel anlamda kullanmakta ve gerekli durumlarda koşulları belirtmektedir. Benzer şekilde, bir kimya laboratuvarında başka büyüklükler de düzenli olarak incelenmesine rağmen, Kılavuz ölçülen derişime atıfta bulunmaktadır [14].

Numune alma, numune hazırlama ve analiz süreçlerinde “numune alma hedefi”, “birincil numune”, “yığın”, “paçal/karma numune”, “alt numune”, “laboratuvar numunesi”, “test numunesi”, “test porsiyonu”, “test çözeltisi” gibi terimler kullanılabilir [15, 16]. Bu Kılavuz’da normal şartlarda genel terim olan “numune” veya “test numunesi”ni kullandık [17].<sup>†</sup> Kılavuz’da kullanılan en önemli terimler metin içinde tanımlanmıştır. Mümkün olduğunca VIM, ISO 9000 [9] ve IUPAC [17, 18] dokümanlarında bulunan tanımlar verilmiştir. VIM’de bulunan analitik kimya ile ilgili terimler “Terminology in Analytical Measurement” başlıklı EURACHEM Kılavuzu’nda [8] detaylı olarak açıklanmıştır. Kullanıcılar, metodun geçerli kılınması sırasında kullanılan bazı terimlerin dünya çapında hala fikir birliğine varılmış tanımlarının olmadığını dikkate almalıdır.

### 1.2.2 Hızlı Referanslar

6. Bölümde, gölgelendirilmiş kutucuklar bir metodun belirli performans özellikleri ile ilgili “Hızlı Referans” niteliğinde tavsiyeler sunmaktadır. Ancak çoğu durumda, laboratuvarların, burada açıklandığı kadar detaylı olarak bu deneyleri yapmaya zamanının ve kaynağının olmadığı bilinmektedir. Bu kutucuklarda tanımlanan işlemleri önerilenden daha az tekrarlar gerçekleştirmek bile faydalı bilgiler verecektir ve kesinlikle hiçbir çalışma yapılmamasından daha iyidir. Ancak, elde edilen bilgiler, tüm tekrarlar yapılarak elde edilen çalışmalara kıyasla daha az güvenilir olacaktır.

<sup>†</sup> Test numunesi: Test veya analiz yapmak için laboratuvar numunesinden test porsiyonları alınarak hazırlanan, numunedir [17].

## 2 Metodun geçerli kılınması nedir?

### 2.1 Tanımlar

Üç uluslararası dokümandan alınan *geçerli kılma* tanımı, Tablo 1’de verilmektedir. *Metodun geçerli kılınması* temel olarak, analitik gerekliliğin tanımlandığı ve ele alınan metodun ihtiyaç duyulan gereksinimi karşılayacak yeteneğe sahip olduğunun onaylanması sürecidir. Bunun doğasında da metodun performansının değerlendirilmesi ihtiyacı vardır. Metodun uygunluğuna karar verilmesi önemlidir; geçmişte metodun geçerli kılınması, sadece metodun performans özelliklerinin değerlendirilmesine yoğunlaşma eğilimindedir.

Metodun geçerli kılınmasının genellikle metodun geliştirilmesi ile çok yakın ilişkili olduğu düşünülür. Metodun geçerli kılınması ile ilişkili birçok metod performans özelliği (Tablo 2) en azından yaklaşık olarak, metod geliştirilmesinin bir parçası olarak incelenir. Bununla birlikte, metodun son halinin (yazılı hale getirilmiş prosedür) geçerli kılınması gerektiğinin hatırlanması önemlidir.

Bazı sektörler “birincil geçerli kılma” ve doğrulama anlamına gelen “ikincil geçerli kılma” kavramlarını kullanmaktadır [19]. “Nitelendirme” ve “metrolojik açıdan teyit etme” [20] kavramlarının, doğrulamayı da kapsadığı görülmektedir (Tablo 1).

### 2.2 Geçerli kılma ve doğrulama arasındaki fark nedir?

ISO 9000 [9] doğrulamayı, “belirtilen şartların sağlandığının açık kanıtlar sunularak teyit edilmesi” olarak tanımlar. Bu, Tablo 1’de verilen geçerli kılma tanımına çok benzerdir. VIM [7], doğrulamayı “bir ögenin belirtilen gereklilikleri sağladığını gösteren açık kanıtların sunulması” olarak, geçerli kılmayı ise “belirtilen gerekliliklerin amaçlanan kullanım için yeterli olduğunun doğrulanması” olarak tanımlamaktadır.

Bir laboratuvar, geçerli kılınmış prosedürü, örneğin standart olarak yayınlanmış bir prosedürü veya belirli bir uygulamada kullanılmak üzere ticari bir üreticiden alınan ölçüm sistemini uyarlayabilir. Her iki durumda da, laboratuvar temel geçerli kılma çalışmalarını tamamlamış olur, ancak laboratuvarın hala metodu uygulayabilme yetkinliğini teyit etmeye ihtiyacı vardır. Bu **doğrulama**dır. Son kullanıcının laboratuvarında metodun çalıştığını göstermek için bazı deneysel çalışmaları yapması gerektiği anlamına gelir. Bununla birlikte, iş yükü, laboratuvarda geliştirilmiş metodun geçerli kılınmasına kıyasla kayda değer ölçüde azdır.

Geçerli kılma ve doğrulama terimleri Eurachem’in analitik ölçümlerde kullanılan terimler için oluşturduğu kılavuzda daha detaylı ele alınmaktadır [8].

**Tablo 1 – “Geçerli kılma” kavramının ISO 9000, ISO/IEC 17025 ve VIM’de verilen tanımları**

Tanım	Referans
özel amaçlı bir kullanım veya uygulama için şartların sağlandığının açık kanıtlar elde ederek teyit edilmesi	ISO 9000 [9] <sup>a</sup>
özel amaçlı bir kullanım için gerekli şartların yerine getirildiğinin inceleme sonucunda teyit edilmesi ve objektif bir delil elde edilmesi	ISO/IEC 17025 [1]
belirlenmiş şartların amaca uygun bir kullanım için yeterli olduğunun doğrulanması	VIM [7] <sup>b</sup>
<sup>a</sup> ISO 9000 “nitel analiz süreci”ni “belirlenmiş şartların yerine getirilebilmesinin ortaya konulma süreci” olarak tanımlanmaktadır. <sup>b</sup> VIM “doğrulama”yı “bir ögenin belirtilen şartları sağladığını gösteren açık kanıtların elde edilmesi” olarak tanımlamaktadır	

**Tablo 2 – Metodun geçerli kılınması sırasında değerlendirilen genel metod performans özelliklerine genel bakış**

<b>Performans özellikleri</b>
Seçicilik
Algılama sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ)
Çalışma aralığı
Analitik duyarlılık
Gerçeklik <ul style="list-style-type: none"><li>• sapma, geri kazanım</li></ul>
Kesinlik <ul style="list-style-type: none"><li>• tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar üretilebilirlik</li></ul>
Ölçüm belirsizliği <sup>a</sup>
Sağlamlık (dayanıklılık)
<sup>a</sup> Ölçüm belirsizliği, kesinlikle, belirli bir ölçüm prosedürünün performans özelliği değildir, fakat, o ölçüm prosedürü kullanılarak elde edilmiş sonuçların bir özelliğidir.

### 3 Metotun geçerli kılınması neden gereklidir?

#### 3.1 Analitik ölçümün önemi

Dünya genelinde her gün binlerce laboratuvarında milyonlarca test, ölçüm ve inceleme yapılmaktadır. Bunun arkasında sayısız sebep vardır; örneğin: ticari amaç için ürünlere değer biçilmesi; sağlığın korunmasına destek sağlanması, içme suyu, gıda ve yem kalitesinin kontrolü, hava araçları imalatında kullanılan alaşımların element içeriğinin uygunluğunun teyidine yönelik analizlerin yapılması, cezai soruşturmalarda vücut sıvılarının adli açıdan analizi. Neredeyse toplumun her unsuru analitik çalışmalarla bir şekilde desteklenmektedir.

Bu ölçümleri gerçekleştirmenin maliyeti yüksektir ve sonuçlara dayanarak verilen kararlar nedeni ile ek maliyetler de ortaya çıkabilir. Örneğin, gıdanın tüketime uygun olmadığını ortaya koyan testler tazminat taleplerine neden olabilir; yasaklı ilaçların kullanıldığını teyit eden testler para cezası, hapis cezası ve hatta bazı ülkelerde idam cezası ile sonuçlanabilir. Açıkçası, ölçümün doğru yapılması ve sonucun doğru olduğunun gösterilebilmesi önemlidir.

#### 3.2 Analitik kimyacının asli görevi

Eğer bir analizin sonucuna güvenilemez ise değeri düşer ve hatta analiz hiç yapılmamış gibi bir durum bile ortaya çıkabilir. Müşteriler, bir laboratuvarından analitik bir iş talep ettiğinde, laboratuvarın, müşterilerde olmayan uzmanlığa sahip olduğu varsayılır. Müşteri raporlanan sonuçlara güvenebilmeyi bekler ve genel olarak bunları sadece anlaşmazlık durumunda sorgular. Dolayısıyla laboratuvarın ve personelinin, problemin analitik kısmına çözüm getirmeye, diğer bir ifadeyle “amaca uygunluğu” gösterilebilir sonuçlar ile müşterinin güvenini sağlamaya, yönelik açık bir sorumluluğu vardır. Bu da, yapılan testlerin, müşterinin çözülmesini istediği problemin analitik kısmına uygun olduğu ve sonuç raporunun müşterinin kolayca anlayabileceği ve ihtiyaç duyduğu çıkarımları elde edebileceği bir şekilde analitik verileri sunduğu anlamına gelir. Metodun geçerli kılınması, kimyacılar metodun “amaca uygun” olduğunu gösterebilme olanağı sağlar.

Bir analitik sonucun kullanım amacına uygun olması için, ona dayanarak karar almaya yetecek kadar güvenilir olması gerekir.

Bu nedenle, metodun performansı geçerli kılınmalı ve belirli bir güvenilirlik aralığında

sonucun belirsizliği tahmin edilmelidir. Belirsizlik, yaygın olarak kabul görmüş, kendi içinde tutarlı ve kolay yorumlanacak bir şekilde değerlendirilmeli ve ifade edilmelidir [21]. Belirsizliği değerlendirmek için gereken bilgilerin çoğu metodun geçerli kılınması sırasında elde edilebilir. Bu konu kısaca Bölüm 6.7’de ve daha detaylı bir şekilde ise “Eurachem/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement” kılavuzunda [22] ele alınmıştır.

Metodun ne kadar iyi olduğuna ve ne kadar ustaca kullanıldığına bakılmaksızın, bir analitik sorun, sadece probleme uygun numunelerin analiziyle çözülebilir. Uygun numunelerin alınması, problemin ve onunla ilgili kimyanın anlaşılmasını gerektiren bir ustalık işidir. Laboratuvar, mümkün olduğu durumlarda, hizmetinin bir parçası olarak müşteriye numune alma ile ilgili tavsiyelerde bulunmalıdır. Elbette, laboratuvarın numune alamayacağı veya alınmasına etki edemeyeceği durumlar olacaktır. Böyle durumlarda, analiz sonuçlarının, numunenin teslim alınan haline göre raporlanması gerekecektir ve rapor bunu açıkça belirtmelidir.

Çoğunlukla (ve haklı olarak) metodu geçerli kılmanın genel hedefine, yani metodun “amaca uygun” kullanıldığını göstermeye odaklanılır. Bununla birlikte, bir metot geçerli kılma çalışmasının, çalışmayı gerçekleştiren laboratuvara ek faydalar sağladığı bilinmelidir. Bu, süreçteki herhangi bir kritik aşamanın farkına varılmasını da içeren, metodu uygulamanın pratik detayları ile ilgili, elle tutulur bilgi ve tecrübe sağlar. Geçerli kılma, laboratuvara ve çalışanlarına, kendi sonuçları konusunda daha fazla güven duymalarını sağlar.

#### 3.3 Metot geliştirme

Geçerli kılma çalışması, farklı personelin kullanılabilirdiği ve birkaç farklı biçim içerebilen bir geliştirme sürecinden sonra gelir.

Bazı durumlarda, geçerli kılma, varolan bir metodun küçük değişiklikler yapılarak yeni bir uygulamaya uygun hale getirilmesi için uyarlanmasını içerebilir. Örneğin, suda toluen tayini için kullanılacak bir metot, suda benzen tayini için kullanılan bir metottan uyarlanabilir. Matriks aynıdır ve iki analit genel olarak benzer özelliklere sahiptir. Benzene uygulanan ayırıştırma, tanımlama ve miktar tespiti ile ilgili

kuralların toluene de uygulanması olasıdır. Diğer taraftan, toprakta benzen tayini için metot gerektiğinde, suda benzen metodunun uyarlanması en iyi seçenek olmayabilir. Topraktaki organik maddelerin tayini için kullanılan başka bir metodun uyarlanması daha iyi bir başlangıç noktası olabilir.

Diğer bir durumda, analitik kimyacı taslak fikirlerle başlayabilir ve uygun bir metot kurgulamak üzere deneyim ve uzmanlığını kullanır. Bu açıkçası, çok daha fazla iş ve metodun son halinin başarılı olup olmayacağına dair şüphe içerir. Bir metot seçmeden önce,

metodun geliştirilmesi için birden fazla farklı fikrin art arda denenmesi alışılmadık bir durum değildir.

Metot geliştirirken ne kadar emek sarfedildiğine bakılmaksızın geçerli kılma sırasında (veya bir laboratuvardaki rutin koşullarda) metodun yeteri kadar iyi çalışacağına garantisizdir. Bu, geliştirme ve geçerli kılma sürecinde farklı personel yer aldığına, talimatların (ölçüm prosedürü) doğru anlaşıldığına ve uygulandığının kontrol edilmesini sağlar.



## 4 Metotlar ne zaman geçerli kılınmalı ve doğrulanmalıdır?

### 4.1 Metodun geçerli kılınması

Bir metot, belirli bir amaç doğrultusunda kullanılmak için performans özelliklerinin yeterli olduğunu göstermek gerektiğinde geçerli kılınmalıdır. Örneğin, ISO/IEC 17025'in [1] 5.4.5.2 no.lu maddesinde laboratuvar:

- standart olmayan metotları;
- laboratuvarda-tasarlanmış/geliştirilmiş metotları;
- amaçlanan kapsamı dışında kullanılan standart metotları;
- ilavelerle takviye edilmiş veya değiştirilmiş standart metotları

geçerli kılmalıdır.

Geçerli kılma, verilen kullanım veya verilen uygulama ile ilgili gereklilikleri karşılayacak kadar kapsamlı olmalıdır [23]. Geçerli kılmanın boyutu ("ölçek", "kapsam") uygulama, yapılan değişikliklerin doğası ve metodun kullanılacağı şartlara bağlı olacaktır.

Geçerli kılma, iki metot kullanılarak elde edilen sonuçların denkliğinin gösterilmesi için de gerekir, örneğin yeni geliştirilmiş bir metot ile mevcut standart/mevzuatla ilgili metot.

### 4.2 Metodun doğrulanması

ISO veya ASTM gibi kuruluşlar tarafından yayımlanan standart(laştırılmış) metotların, metodu kullanan laboratuvarlar tarafından geçerli kılınmasına gerek yoktur. Ancak, ISO/IEC 17025'in 5.4.2. maddesinde verildiği üzere, laboratuvarın metot performansını doğrulaması gerekir:

*...Laboratuvar, seçilmiş olan metodu deneylere ve kalibrasyonlara uygulamadan önce, standard metotları uygulayabildiğini teyit etmelidir.*

Yeni, fakat benzer bir cihazın devreye alınması, cihazın yerinin değiştirilmesi gibi önemli değişiklikler olduğu durumlarda da doğrulama gereklidir.

Bir tıbbi laboratuvarında ölçüm ve testlerin büyük çoğunluğu, üretici tarafından geçerli kılınmış, fakat son kullanıcı tarafından doğrulanması gereken ticari prosedürler kullanılarak gerçekleştirilirler [24]. ISO 15189 [2] *değişikliğe tabi olmadan kullanılacak olan prosedürlerin, rutin kullanıma alınmadan önce, laboratuvar tarafından bağımsız doğrulamaya tabi tutulması gerektiğini* vurgular. Bu, bir cihazın yeni yazılımla güncelenmesi veya kalite kontrol çalışmalarında oluşturulan metodun performansının zamanla değişiklik göstermesi durumlarını da içerebilir.



## 5 Metotlar nasıl geçerli kılınmalıdır?

### 5.1 Metodun geçerli kılınmasını kim gerçekleştirir?

#### 5.1.1 Metodun geçerli kılınması için yaklaşımlar

Metodun geliştirilme aşaması tamamlandığında, laboratuvar ölçüm prosedürünü detaylı bir şekilde yazılı hale getirmelidir (bkz. Ek A). Bu, geçerli kılma kullanılmak üzere yazılı hale getirilmiş prosedürdür.

Metodun geçerli kılınması için laboratuvarlararası karşılaştırma ve tek laboratuvar yaklaşımı olmak üzere iki temel yaklaşım mevcuttur. Yaklaşımdan bağımsız olarak, metodun amaçlanan kullanıma uygunluğunun sağlanması ve gerekirse var olan geçerli kılma verisini desteklemeye yönelik ilave çalışmalar yapılması metodu kullanan laboratuvarın sorumluluğundadır.

#### 5.1.2 Laboratuvarlararası yaklaşım

Literatürde “işbirliğine dayanan çalışma” veya “ortak çalışma” olarak da bilinen laboratuvarlararası karşılaştırmalara dayalı geçerli kılma çalışmaları ile ilgili birçok yayın bulunmaktadır. Hem bu tür geçerli kılma çalışmaları ile ilgili protokoller [25, 26, 27, 28], hem de yaygın olarak kullanılabilen kabul edilen ISO 5725 standartları [29] bulunmaktadır.

Geniş kapsamlı olarak kullanılacak olan bir metot, standart bir prosedür olarak yayınlanacak veya geliştirilecekse muhtemelen bir grup laboratuvarın katılacağı bir işbirliği çalışması, metodun geçerli kılınması için tercih edilen yöntem olacaktır. Bu şekilde, geçerli kılınarak yayınlanmış bir metodun dayanıklı olduğu gösterilmiş olur. Yayınlanmış bilgiler genellikle kesinlik (tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik ve/veya ilgili kesinlik sınırları) ve bazen de sapma tahminlerini içerir. Metodun ISO, CEN, AOAC gibi uluslararası standart onaylayan kuruluşlar tarafından geçerli kılındığı durumlarda ise kullanıcı, kendi kullanımı için metodun sadece varolan performans verilerini doğrulamaya ve/veya saptamaya ihtiyaç duyacaktır. Dolayısıyla bu yaklaşım, metodu kullanan laboratuvarın iş yükünü azaltır.

#### 5.1.3 Tek laboratuvar yaklaşımı

Laboratuvarlar zaman zaman yayınlanmış bir standart olarak bulunmayan bir metoda ihtiyaç duydukları durumlarla karşılaşabilirler. Eğer metot sadece bir laboratuvarda kullanılmak üzere

geliştirilmişse, örneğin, metoda genel anlamda bir ilgi yok ise veya laboratuvarlar arasında bir rekabet söz konusu ise, tek laboratuvar yaklaşımı daha uygundur [12].

Laboratuvar içi geçerli kılınmış metodun mevzuatla ilgili talepleri karşılamak amacı ile kullanılıp kullanılmayacağı, ölçümü yapılan alandaki kılavuzlara bağlıdır. Durum hakkında ilgili düzenleyici kurumdan açık bir beyan almak mümkün olabilir.

### 5.2 Geçerli kılma çalışmalarının derecesi

Laboratuvar, metodu geçerli kılma için hangi performans özelliklerinin incelenmesi gerektiğine (bkz. Tablo 2 ve 6. Bölüm) ve bazı durumlarda bir performans özelliğinin ne kadar detaylı inceleneceğine karar vermelidir. IUPAC protokolü [12] diğer hususların yanısıra metodun ve laboratuvarın yeterliliğinin dikkate alındığı bir dizi durumu listeler.

Analitik çalışmanın kapsamının çok iyi tanımlandığı ve uygulamaların zaman içinde aynı olduğu kurum veya sektörlerde, geçerli kılma çalışmalarının kapsamı için genel kılavuzlar yayınlanması mümkün olabilir. Farmasötik sektörden bir örnek Tablo 3'te gösterilmiştir.

Yazılı prosedürün kapsamında (bkz. Ek A, A.5) özenle tespit edilmiş analitik tanımlamalar ile başlamak, geçerli kılma sürecinin planlanması için iyi bir temel oluşturur, fakat pratikte bunun her zaman mümkün olmadığı bilinmektedir. Metot performansının değerlendirmesi sınırlandırılmış olabilir. Bu, ISO/IEC 17025'in 5.4.5.3 maddesinde “Geçerli kılma daima maliyetler, riskler ve teknik olanaklar arasında bir dengedir” şeklinde ifade edilir. Laboratuvar, tanımlanan sınırlar içerisinde müşteri beklentisini, mevzuatla ilgili gereklilikleri, metotla ilgili varolan tecrübe ve ulaşılabilir araçları, (Bölüm 5.4) kendinin ve diğer laboratuvarların kullandığı benzer metotlar ile metrolojik uyumluluk [7] ihtiyacını dikkate alarak elinden gelenin en iyisini yapmalıdır. Bazı performans özellikleri metodun geliştirilmesi veya uygulaması sırasında yaklaşık olarak belirlenmiş olabilir. Belirli bir deney grubu, çoğunlukla bazı performans özellikleri hakkında bilgi verecek, böylece dikkatli bir planlama, gerekli bilginin elde edilmesi için ihtiyaç duyulan çabayı azaltacaktır.

**Tablo 3 – Dört tip analitik uygulama için geçerli kılma çalışmasının kapsamı. İlaç sektöründen örnek [13]. “x” normalde geçerli kılınmış bir performans özelliğini gösterir.**

Performans erforma	Analitik uygulama tipi			
	Tanımlama testi	Safsızlık için nicel test	Safsızlık için sınır	Ana bileşenin nicel analizi
Seçicilik	x	x	x	x
Algılama sınırı			x	
Tayin sınırı		x		
Doğrusallığı içeren çalışma aralığı		x		x
Gerçeklik (sapma)		x		x
Kesinlik (tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik)		x		x

NOT: Tablo basitleştirilmiş olup bu Kılavuz'da kullanılan kurgu ve terimlere uyarlanmıştır.

Özellikle metot rutin olarak kullanılmayacaksa, yukarıda açıklanan kısıtların etkileri önemlidir. Rutin çalışmalarda kullanılacak metotların geçerli kılınması nispeten iyi tanımlanmıştır. Açıkcası, aynı prensipler bir defaya mahsus kullanılan metotlarda da uygulanır. Elde edilen sonuçların yeterli seviyede güvenilir olması gereklidir. Zaman ve maliyet kısıtları ile metodun geçerli kılınma ihtiyacı arasında bir denge kurmak zordur. Bazı durumlarda, analizleri, bu işi rutin olarak gerçekleştiren bir başka laboratuvara yaptırmak daha uygun olabilir.

### 5.3 Geçerli kılma planı ve raporu

Geçerli kılma çalışması ve sonuçların raporlanması yazılı bir prosedüre göre gerçekleştirilmelidir.

Geçerli kılma planı (“geçerli kılma protokolü”) ve raporunun taslağı sektörel kılavuzlarda (bkz. Bölüm 5.5) verilmiş olabilir. Ulusal akreditasyon kuruluşları bu dokümantasyon için gereken asgari gerekliliklere işaret edebilir [23]. Fakat geçerli kılma planı ve raporu için birleştirilmiş basit bir şablon örnek olarak aşağıdaki bölümleri içerebilir.

- **Başlık:** Bu bölüm, metodu ve işin ne zaman ve kimin tarafından gerçekleştirildiğini belirtmelidir. Metodun durumu (örneğin uluslararası bir standart, laboratuvar içi geliştirilmiş bir metot vb.), analit, ölçülen büyüklük, ölçüm birimi, numunenin türü ve kullanım amacı ile ilgili detayların yanısıra

metodun kapsamı ve kısa bir tanımı da verilmelidir. Numune alma ve alt örnekleme, ölçüm prosedürünün bir parçası olabilir, böyle durumlarda numune alma ve alt örnekleme de geçerli kılınmalıdır. Bu aşamalar, başka bir yerde gerçekleştirilseler bile ilgili bilgilerin geçerli kılma plan/raporunda yer alması faydalıdır.

- **Planlama:** Bu bölüm, yeni bir metodun tam geçerli kılınması, standart metodun performansının doğrulanması, metodun kapsamının genişletilmesi gibi amaçları ana hatları ile belirtmelidir. Geçerli kılma çalışmasının kapsamı, yani incelenecek performans özellikleri ve beraberindeki gereklilikler belirtilmelidir.
- **Performans özellikleri:** Bu bölüm, performans özellikleri hakkında kısa bir açıklama vermeli, özel gereklilikleri tekrar etmeli, yapılacak deneyleri ve sonuçların nasıl yorumlanacağını ana hatları ile belirtmelidir. Sonuçlar ve deneylerden elde edilen bulgular verilmelidir. Her performans özelliği için ayrı bir bölüm kullanılır.
- **Özet:** Son bölüm, geçerli kılma çalışmasını ve sonuçlarını özetlemelidir. Rutin kullanım, iç ve dış kalite kontrol çalışmaları ile ilgili hususlar verilebilir. En önemlisi, metodun amaca uygun olup olmadığına dair bir sonuç cümlesi verilmelidir. Bu, ISO/IEC 17025’in bir gerekliliğidir [1].

## 5.4 Geçerli kılma araçları

### 5.4.1 Boş numuneler

Farklı türde boş numunelerin kullanımı, ölçülen sinyalin ne kadarının analitten, ne kadarının başka nedenlerden kaynaklandığının değerlendirilmesini sağlar. Analistler için farklı türde boş numuneler mevcuttur:

- **Reaktif boşları**<sup>\*</sup>: Analitik süreç boyunca (özütleme ve çözünme için kullanılan çözücülerini içeren) reaktifler, ölçüm sinyaline katkılarının olup olmadığını belirlemek için analiz edilirler.
- **Numune boşları**: Bunlar temelde analit içermeyen numune matrisleridir. Örneğin; bağımlılık yapan ilaçlar içermeyen insan idrarı veya hormon kalıntısı içermeyen et numunesi. Numune boşlarını bulmak zor olabilir, fakat bu tür malzemeler test numunelerinin analizi sırasında ortaya çıkabilecek girişimlere gerçekçi bir yaklaşım ortaya koymak için gereklidir.

### 5.4.2 Rutin test numuneleri

Rutin test numuneleri günlük çalışmalar sırasında gerçeğe uygun olarak ortaya çıkabilecek kesinlik, girişimler ve benzeri bilgiler verebildiği için faydalıdır. Test malzemesindeki analit miktarı biliniyorsa ölçüm sapmasını değerlendirmek için kullanılabilir. Böyle metotlar, her zaman mevcut olmasa da, analit miktarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi, referans metot kullanılarak sağlanabilir.

### 5.4.3 Analit eklenmiş malzemeler/çözeltiler

Bu malzemeler, ilgili analitlerin bilinçli olarak eklendiği malzemeler veya çözeltilerdir. Bu malzeme veya çözeltiler hali hazırda hedef analiti içerebilir, bu nedenle, yapılan eklemenin analit seviyesini metodun çalışma aralığının dışına çıkarmamasına dikkat edilmelidir. Ekleme öncesi ve sonrası, mevcut analit miktarı tam olarak bilinmese de, bilinen miktarda analit eklenmesi, ölçümü ve hesaplanması hedeflenen analitin sinyalinde eklenen miktar oranında artış sağlar. Analitin bu yolla eklendiği metotların çoğunda, analitin numune matrisine doğal olarak var olduğu şekilde bağlanmayacağı bilinmelidir. Bu nedenle, ekleme yoluyla elde

edilen sapma tahminlerinin daha iyimser olması beklenebilir.

Eklemenin, ilgilenilen analit ile sınırlandırılması gerekmez. Eklemenin etkisini anlamak için numuneye eklenen herhangi bir bileşeni içerebilir. Örneğin, analit tayinini olumsuz yönde etkileyecek girişim yapan maddenin derişimini belirlemek için numuneye bu maddeden farklı miktarlarda eklenebilir. Eklenenin doğasının belirlenmesinin gerekliliği açıktır.

### 5.4.4 Üretim aşamasında analit eklenmiş malzemeler

Bu malzemeler, ilgilenilen analitin numunede bulunmaması gerekirken, numune alma işleminden önce herhangi bir noktada numune yığına eklenmesiyle elde edilen malzemelerdir. Böylece, analit, matris analit ekleme yoluyla katılmasından daha sıkı bağlanmış olur. Analitin değeri, malzeme ile temas halindeki analitin miktarına, matris tutunma ve bırakılma oranına, metabolizma, kendiliğinden parçalanma veya kimyasal veya fiziksel işlemler nedeniyle oluşan diğer kayıplara bağlı olacaktır. Bu numunelerin, geçerli kılma süreçleri için ne kadar kullanışlı olduğu, analitin değerinin ne kadar iyi tanımlanabileceğine bağlıdır. Aşağıdakiler bu tür malzemelere örnektir.

1. Yetiştirme esnasında herbisit püskürtülmüş tahıl ununda herbisitler
2. Formülasyon aşamasında farmasötik formülasyonlara eklenen aktif bileşenler.
3. Allerjen araştırmalarında pişirilme öncesi bisküvi hamuruna eklenen (protein içeriği bilinen) yumurta akı tozu.

### 5.4.5 Ölçüm standartları

“Standart” terimine atıfta bulunurken dikkatli olunması gerekir, zira ISO standartları gibi yazılı dokümanlar için de bu terim kullanılmaktadır. Kalibrasyon veya tanımlama amaçlı kullanılan maddelere atıfta bulunulduğunda ölçüm standartları veya kalibrant/kalibratör terimlerinin kullanılması daha uygundur [7]. Bunlar yaygın olarak tek maddenin çözeltisi gibi düşünülür, ancak pratikte metrolojik referans olarak kullanılacak ölçüde bir parametresi veya özelliği karakterize edilen herhangi bir madde olabilir.

Metodun geçerli kılınma sürecindeki kullanımları arasındaki ciddi farklılık (6.5.2) nedeni ile referans malzemeler (RM'ler) ile sertifikalı referans malzemeleri (SRM'ler) ayırt etmek önemlidir [7, 30]. RM'ler, referans olarak kullanılacak herhangi bir malzeme olabilir ve bilinen saflıktaki laboratuvar reaktifleri,

\* Tüm analitik prosedürün uygulandığı reaktif boşu bazen “prosedür boşu” olarak adlandırılır.

endüstriyel kimyasallar veya diğer maddeler olabilir. İlgilenilen özellik veya analitin kararlı ve homojen olması gerekir, ancak malzemenin çok iyi karakterizasyona, metrolojik izlenebilirliğe, belirsizlik ve SRMler ile ilgili dokümantasyona sahip olması gerekmez.

Bir SRM'de ilgilenilen parametrenin karakterizasyonu, RM'ye göre daha sıkı kontrol edilir ve buna ek olarak karakterize edilen değer, metrolojik izlenebilirliği ve belirsizliği dokümanite edilerek sertifikalandırılır. Karakterizasyon, normal olarak birkaç farklı metot veya tek bir birincil ölçüm prosedürü kullanılarak yapılır, böylece karakterizasyondan gelen sapma mümkün olduğunca azaltılır ya da ortadan kaldırılır.

Sapmanın değerlendirilmesi, güvenilir bir referans noktası, tercihen test numuneleriyle aynı matriks ve analit derişimine sahip olan bir SRM gerektirir.

#### 5.4.6 İstatistikler

İstatiksel metotlar, verilerin özetlenmesi ve veri setleri arasındaki farklılıklar hakkında objektif kararların verilmesi için önemlidir (önem testi). Analistler, özellikle kesinliğin, sapmanın, doğrusal aralığın, LOD, LOQ ve ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi için en azından istatistiksel teoremin temel unsurlarını bilmelidir. Analitik kimya için istatistiği tanıtan birçok faydalı kitap bulunmaktadır [5, 6, 31, 32, 33, 34].

#### 5.5 Geçerli kılma gereklilikleri

Geçerli kılmanın nasıl yapılacağına ilişkin gereklilikler, metot ile ilgili sektöre özel kılavuzlarda belirtilmiş olabilir [örneğin 13, 25, 35]. Böyle gereklilikler var ise takip edilmeleri önerilir. Bu husus, kullanılan istatistiklerle beraber geçerli kılma terimlerinin ilgili sektörde tutarlı bir biçimde yorumlanmasını sağlayacaktır. Bir metodun yasal olarak tanınması ortaklaşa çalışma kullanılarak yapılan karakterizasyonu gerektirebilir.

#### 5.6 Metodun geçerli kılınması süreci

Belirli bir müşteri problemiyle karşılaşıldığında, laboratuvar, öncelikle metodun bu problemi çözmek için sahip olması gereken performans özelliklerini tanımlayan analitik gereklilikleri belirlemelidir (Şekil 1).

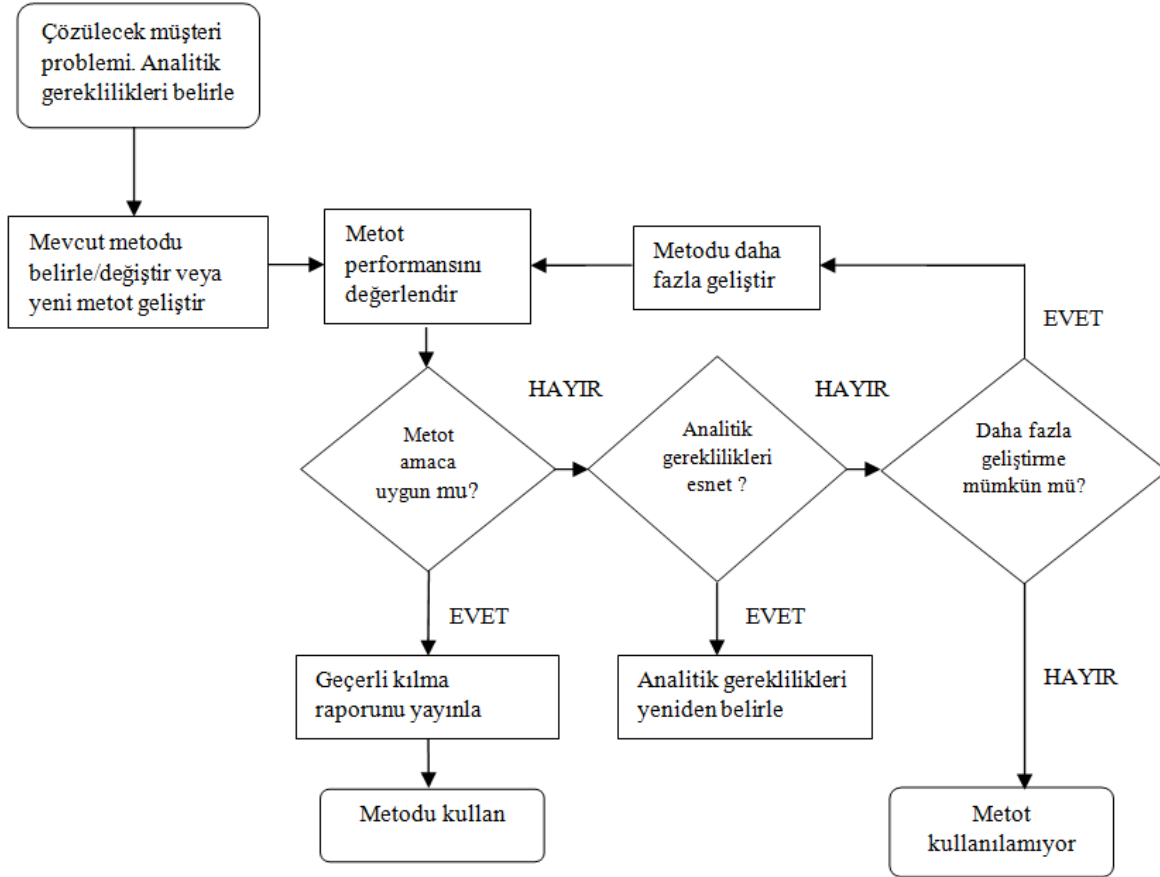
Bu gerekliliklere karşı, laboratuvarın mevcut uygun bir metodu belirlemesi veya gerekirse yeni

bir metodu geliştirmesi/modifiye etmesi gerekir. Bazı düzenlemelerin belirli bir metodun izlenmesini gerektirebileceği dikkate alınmalıdır. Tablo 4, bir analitik gerekliliği biçimlendirirken ortaya çıkabilecek soru türünü (sütun 1) ve değerlendirilmesi gereken ilgili metot performans özelliklerini (sütun 2) göstermektedir. Laboratuvar, böylece, ilgili performans özelliklerini belirleyecek, değerlendirecek ve bunları analitik gereklilik doğrultusunda kontrol edecektir. Geçerli kılma süreci, analitik gerekliliğin karşılanıp karşılanmadığına dair bir değerlendirme ve sonuç beyanı ile sona erer. Eğer analitik gereklilik karşılanmamışsa, metodun biraz daha geliştirilmesi gerekir. Bu geliştirme ve değerlendirme süreci, *metodun gerekliliği karşılayabilecek duruma geldiği* sonucuna ulaşılan kadar devam eder.

Gerçekte, müşteri ile nadiren, analitik bir gereklilik üzerinde önceden resmi bir şekilde uzlaşılır. Metotların, bir şartname veya mevzuata bağlı olduğu durumlarda, metotların performans gereklilikleri belirtilmiş olmasına rağmen, müşteriler, gerekliliklerini genellikle maliyet ve/veya zaman açısından belirlerler ve metotların ne kadar iyi uygulanacağını nadiren bilirler. Örneğin, Avrupa Birliği (AB), içme suyu analizi [36], su çerçeve direktifine göre yapılan analizler [37], hayvan kaynaklı gıdalarda veterinerlik ilaç kalıntılarının seviyelerinin belirlenmesi [38] ve gıda ve yemdeki pestisit kalıntılarının belirlenmesi için [39] gereklilikleri yayınlamıştır.

Bununla birlikte, bir performansın ne seviyede gerekli olduğuna karar vermek, genellikle analistin takdirine bırakılacaktır. Çoğu zaman bu, analitik gerekliliklerin, metodun bilinen yeterliliği (örneğin, standart metotlarda yayımlandığı gibi, yeterlilik testi (YT) çevrimlerinde gözlemlendiği gibi veya Horwitz fonksiyonu gibi matematiksel modellerden tahmin edilmesi [40]) doğrultusunda belirlenmesi anlamına gelecektir.

Mali kısıtlamalar, belirli bir analitik gerekliliği karşılamak üzere geliştirilen bir metodun ekonomik açıdan uygulanabilir olmadığını gösterebilir, bu durumda, gerekliliğin daha erişilebilir bir seviyeye getirilip getirilmeyeceğine ya da analizin gerekçesinin yeniden değerlendirilmesine karar verilmelidir.



**Şekil 1 – Metodun geçerli kılınması süreci:** Müşteri probleminden, müşteri talebinin belirlenen metotla gerçekleştirip gerçekleştirilemeyeceğine dair laboratuvar kararına kadar geçen süreç. Not: Metodun geçerli kılınması, performans özelliklerinin değerlendirildiği ve sonrasında analitik gerekliliklerle karşılaştırıldığı bir aşama içerir. Metot için mevcut performans verisinin olup olmadığına bakılmaksızın, amaca uygunluğa, atanmış analist tarafından kullanıldığında mevcut cihaz/imkanlar ile metodun nasıl çalıştığına bakılarak karar verilecektir.

**Tablo 4 – Analitik gerekliliklerin ve bu Kılavuz’un ilgili bölümlerinde açıklanan metot performans özelliklerinin belirlenmesinde sorulabilecek sorular**

Soru	Performans özelliği	Bölüm	Not
İnsan, para, zaman, ekipman, reaktif ve laboratuvar koşullarını ilgilendiren bir kaynak kısıtlaması var mıdır ve nasıldır?	-	-	a)
Numune alma ve alt örnekleme gerekiyor mu (ve bu işlem laboratuvarda mı yapılacak)?			
Numune büyüklüğü/ulaşılabilirliği ile ilgili kısıtlamalar var mıdır?			
Matriksin kimyasal, fiziksel ve biyolojik durumu nedir?			
Analit dağılmış mı, belirli bir yerde toplanmış mı?			
Nitel veya nicel bir sonuç mu gerekiyor?	Seçicilik LOD ve LOQ	6.1 6.2	
İlgilenilen analitler ve olası seviyeleri nelerdir (% , µg/g, ng/g, vb.)? Analit birden fazla kimyasal yapıda mı bulunuyor (örneğin yükseltgenme seviyesi, stereoizomerler) ve değişik yapılar arasında ayırım yapılması gerekli midir?	Seçicilik LOD ve LOQ Çalışma ve doğrusal aralıkları	6.1 6.2 6.3	
Ölçümü istenen nicelik nedir (“ölçülen büyüklük”)? Var olan analitin “toplam” derişimi ile mi veya belirlenen koşullarda “özütlenen miktarı” ile mi ilgileniliyor?	Geri kazanım	6.5	
Gereken gerçeklik ve kesinlik değerleri nelerdir? Hedef belirsizlik değeri nedir ve nasıl ifade edilecektir?	Gerçeklik ve geri kazanım Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik, tekrar üretilebilirlik, Belirsizlik	6.5 6.6 6.7	b)
Analit(ler) üzerindeki olası girişimler nelerdir?	Seçicilik	6.1	
Analizi gerçekleştirmek için kritik olan tüm parametreler için tolerans sınırları oluşturuldu mu (örneğin özütleme süresi, inkübasyon sıcaklığı)?	Sağlamlık	6.8	c)
Sonuçların diğer laboratuvarlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılması gerekir mi?	Belirsizlik	6.7	b)
Sonuçların laboratuvar dışı tanımlamalarla karşılaştırılması gerekir mi?	Belirsizlik	6.7	b)
<p>a) Analitik gerekliliklerin tüm unsurları metodun geçerli kılınma gereklilikleri ile doğrudan bağlantılı değildir, fakat genel olarak, belirli tekniklerin uygulanıp uygulanmama kararının verilmesinde belirleyici olur. Örneğin, analitin numune içinde dağılımı veya yüzeyinde ayrışma durumuna bağlı olarak farklı teknikler uygulanabilir.</p> <p>b) Analitik gerekliliğin vazgeçilmez unsurlarından biri, metodun hedeflenen amaca uygun olup olmadığına karar verilmesinin mümkün olması ve böylece standart belirsizlik olarak ya da genişletilmiş belirsizlik olarak ifade edilen gerekli belirsizliği içermesidir.</p> <p>c) Yayınlanmış standart prosedürler matriks tipleri ve çalışma aralığı gibi kendi kapsamları içinde normalde sağlam olarak gösterilmiştir. Bu nedenle, yayınlanmış standart bir prosedürün, tekli laboratuvarda uygulamasına yönelik doğrulamasının normalde sağlamlık içermesine gerek yoktur.</p>			



## 6 Metot performans özellikleri

### 6.1 Seçicilik

#### 6.1.1 Terimler ve tanımlar

Analitik seçicilik “bir metodun, karışımlar veya matrisler içindeki belirli analitleri tanımlamak üzere, benzer özellik gösteren diğer bileşenlerin girişimleri olmaksızın kullanılabilme derecesini” ifade eder [41].

Farklı dokümanlarda yer alan tanımlar [7, 18, 42] bu yoruma az çok uymaktadır. IUPAC “seçicilik” terimini önerse de farmasötik sektörü gibi bazı alanlar [13], “özgüllük” veya “analitik özgüllük” terimlerini kullanmaktadır. En son bahsi geçen terim tıbbi laboratuvarlarda kullanılan “tanısal özgüllük” terimi ile karışıklığı önlemek için önerilir [43].

#### 6.1.2 Girişimlerin etkileri

Genelde, analitik metotların, öncesinde ayırıştırma gerektiren veya gerektirmeyen bir ölçüm aşaması içerdiği söylenebilir. Ölçüm aşamasında, normalde bir analit derişimi doğrudan ölçülemez. Bunun yerine belirli bir özelliğin (örneğin, ışığın şiddeti) miktarı belirlenir. Bu nedenle, ölçülen özelliğin sadece analitten kaynaklandığı, ölçüm sonucunda bir sapmaya neden olabilecek şekilde kimyasal veya fiziksel olarak benzer bir şeyden kaynaklanmadığı veya tesadüfen ortaya çıkmadığının belirlenmesi hayati derecede önemlidir. Ölçüm sisteminin seçiciliğini iyileştirmek için ölçüm aşamasından önce bir ayırıştırma aşaması gerekebilir.

Girişimler, ölçülen büyüklüğe ait sinyali artırarak veya azaltarak bir sapmaya neden olabilir. Verilen bir matris için etkinin büyüklüğü genellikle sinyalle orantılıdır ve bu nedenle bazen “orantılı” etki olarak adlandırılır. Kalibrasyon fonksiyonunun eğimini değiştirir, ancak kesme noktasını değiştirmez. Bu etki “dönel” olarak da adlandırılır [44].

Test çözeltisinde bulunan girişimlerin ürettiği bir sinyalden bir “ötelenme” veya “sabit etki” meydana gelir. Dolayısıyla, bu etki analit derişiminden bağımsızdır. Bu genellikle, “arka plan” veya “zemin çizgisi” girişimi olarak adlandırılır. Bu durum, kalibrasyon fonksiyonunun kesme noktasını etkiler, ancak eğimini etkilemez.

Orantılı etki ve ötelenme etkilerinin aynı anda görülmesi alışılmadık bir durum değildir. Standart ekleme metodu sadece orantılı etkiyi düzeltebilir.

#### 6.1.3 Seçiciliğin değerlendirilmesi

Bir prosedürün seçiciliği, laboratuvar içi geliştirilmiş metotlar, bilimsel kaynaklardan uyarlanmış metotlar ve standardizasyon kuruluşları tarafından yayınlanmış kapsamı dışında kullanılan metotlar için belirlenmelidir. Standardizasyon kuruluşları tarafından yayınlanan metotlar, kapsamı dahilinde kullanıldığında, seçicilik genellikle standardizasyon sürecinin bir parçası olarak çalışılmış olacaktır.

Bir metodun seçiciliği genellikle (numunelerde bulunması muhtemel) girişim yapan belirli bileşenlerin bilinçli olarak eklendiği numunelerdeki ilgilenilen analitin ölçülebilme yeteneğinin çalışılmasıyla incelenir. Girişim olup olmadığının açık olmadığı durumlarda, metodun seçiciliği, ilgilenilen analiti ölçebilme yeteneğinin diğer bağımsız metotlarla kıyaslanmasıyla incelenebilir. Aşağıda verilen Örnek 1, Örnek 2 ve altındaki Hızlı Referans 1, seçiciliğe ilişkin pratik hususları göstermektedir.

Teyit amaçlı teknikler, tanımlamayı doğrulama aracı olarak faydalı olabilir. Ne kadar çok kanıt elde edilirse tanımlama o kadar iyi olur. Analiti tanımlama maliyeti, harcanan zaman ve tanımlamanın doğru bir şekilde yapıldığına dair kararın güvenilirliği arasında kaçınılmaz bir denge mevcuttur.

Tekrarlanabilirliğin değerlendirilmesi, aynı teknik kullanarak ölçümün birkaç kez tekrarlanmasını gerektirirken, analit kimliğinin teyidi, ölçümün birkaç kez tercihen bağımsız tekniklerle yapılmasını gerektirir. Teyit, incelenen tekniğe güveni artırır ve teyit teknikleri, önemli derecede farklı prensiplere dayanarak çalışırsa özellikle yararlı olur. Bazı uygulamalarda, örneğin, bilinmeyen organiklerin gaz kromatografi ile analizinde teyit tekniklerinin kullanılması önemlidir. Değerlendirilen ölçüm metodunun seçiciliği yüksek olduğunda, teyit amaçlı tekniklerin kullanılması gerekmez.

Seçicilikte dikkate alınması gereken önemli hususlardan biri, analitin numunede birden fazla yapıda bulunabilmesi, bağlı veya bağlanmamış olması gibi, inorganik veya organometalik olması veya farklı yükseltgenme basamağında bulunmasıdır. Karışıklığı önlemek için ölçülen büyüklüğün tanımı kritiktir.

**Örnek 1 – Kromatografi.** Kromatografik sinyaldeki bir pik, onunla aynı noktada sinyal veren RM'nin içinde bulunan analite dayandırılarak tanımlanır. Fakat sinyal analitten midir yoksa tesadüfen analitle beraber gelen başka bir şey midir, yani sabit bir etki midir? Sadece biri ya da her ikisi de olabilir. Analitin sadece bu yolla tanımlanması güvenilir değildir ve destekleyici bazı kanıtlar gerekir. Örneğin, kromatografi, farklı bir ayırma prensibi ile numunedeki analite ait sinyalin RM'ye ait sinyal ile hala aynı zamanda görünüp görünmeyeceğini anlamak için polaritesi farklı kolon kullanılarak tekrarlanabilir. Bir pikin birden fazla bileşikten kaynaklandığı durumlarda, polaritesi farklı olan bir kolon kullanılması, bu bileşiklerin ayrılması için iyi bir yol olabilir. Çoğu durumda, modern kütle spektrometrik cihazlar yüksek seçicilik imkanı sağlar, örneğin, kütle spektrometrik algılayıcı gaz veya sıvı kromatografileri.

**Örnek 2 – Spektroskopi.** Kızılötesi spektroskopide, bilinmeyen bileşiklerin tanımlanması, analit spektrumundaki absorpsiyon sinyallerinin (yani, "piklerin"), bir spektral kütüphanede bulunan referans spektrum sinyalleriyle eşleştirilmesiyle yapılabilir. Doğru tanımlama yapıldığından emin olunduktan sonra, analit RM'sine ait spektrum, test porsiyonu ile aynı şartlarda alınmalıdır. Analit ve RM arasında birbiriyle örtüşen ne kadar çok sayıda pik olursa, tanımlamanın doğru yapıldığına güven o kadar artar. Analitin nasıl ayrıştırıldığına ve kızılötesi analiz için nasıl hazırlandığına bağlı olarak, spektrumun şeklinde olabilecek değişikliklerin gözlenmesi önemlidir. Örneğin, eğer spektrum pelet (tuz diski) olarak kaydedilmişse, diskteki test porsiyonunun parçacık boyutu dağılımı, spektrumun şeklini etkileyebilir.

### Hızlı Referans 1 – Seçicilik

Ne yapılmalı	Kaç defa	Veriden ne hesaplanmalı/belirlenmeli	Açıklamalar
Test numunelerini ve RM'leri, aday ve diğer bağımsız metotlarla analiz ediniz.	1	Metodun analit kimliğini doğrulama yeteneğini ve analiti diğer girişim yapan bileşenlerden ayrı olarak ölçme yeteneğini değerlendirmek için teyit amaçlı kullanılan tekniklerin sonuçlarını kullanınız.	Yeterli güvenilirlik sağlamak için ne kadar destekleyici kanıtın gerekli olduğuna karar veriniz.
İlgilenilen analitlerin varlığında girişim yapan olası değişik bileşenleri içeren test numunelerini analiz ediniz.	1	Girişim yapan bileşenlerin etkisini inceleyiniz. Girişim yapan bileşenlerin varlığı hedef analitin algılanmasını ve tespit edilmesini engelliyor mu?	Eğer girişim yapan bileşenler analitin algılanması ve miktar tayinin yapılmasını engelliyorsa, metodun biraz daha geliştirilmesi gerekecektir.

## 6.2 Algılama sınırı ve tayin sınırı

### 6.2.1 Terimler ve tanımlar

Ölçümler düşük derişimlerde yapıldığında dikkate alınması gereken üç genel kavram vardır. Birincisi, belirgin bir şekilde sıfırdan farklı bir analit seviyesi gösteren bir sonuç elde edilmesi gerekebilir. Genellikle bu seviyede malzemenin kirli olduğunun açıklanması gibi bazı faaliyetlerin yapılması gerekir. Bu seviye "kritik değer", "karar sınırı" veya AB direktiflerinde CC $\alpha$  olarak bilinir [38].

İkincisi, metotla belirli bir güvenilirlik seviyesinde tespit edilebilecek en düşük analit

derişiminin bilinmesi önemlidir. Yani, hangi derişim seviyesinde yukarıda tanımlanan kritik değeri doğru ve güvenilir bir şekilde geçeriz? Bu kavram için "algılama sınırı" (LOD), "en düşük tespit edilebilir değer", "algı sınırı" veya AB direktiflerinde CC $\beta$  terimleri [38] kullanılır.

Üçüncüsü, belirli bir uygulama için performansın kabul edilebilir olduğu en düşük derişim seviyesinin belirlenmesi önemlidir. Bu üçüncü kavram genellikle tayin sınırına karşılık gelir (LOQ)\*.

\* Bu terim yerine kullanılan eş anlamlı sözcükler "tayinin sınırı", "nicel sınır", "nicelin sınırı" "tespitin sınırı", "raporlama sınırı", "raporlamanın sınırı" ve "uygulama sınırı".

Tüm bu kavramlar ile ilgili terimler çeşitlidir ve sektörlere göre değişir. Örneğin, “algılama sınırı” (LOD) ve “algı sınırı” (DL) bazı sektörel dokümanlarda kullanılmasına rağmen eskiden genel olarak kabul edilen terimler değildi [13, 38]. Bununla birlikte, şu anda VIM [7] ve IUPAC Gold Book’a [17] eklenmiştir. ISO, kimyada “en düşük algılanabilen net derişim” anlamına gelen “net durum değişkeninin minimum algılanabilen değeri” genel terimini kullanır [45, 46, 47, 48]. Bu kılavuzda “kritik değer”, “algılama sınırı” (LOD) ve “tayin sınırı” (LOQ) terimleri yukarıdaki üç kavram için kullanılmaktadır. Metodun geçerli kılınmasında genellikle LOD ve LOQ belirlenir.

Ayrıca, cihazın algılama sınırı ile metodun algılama sınırını birbirinden ayırmak gereklidir. Cihazın algılama sınırı, genellikle (yani numune hazırlama aşamaları atlanarak) cihaza doğrudan sunulan reaktif boşu gibi bir numunenin analizine veya bir kromatogramda olduğu gibi sinyalin gürültüye oranına dayanabilir. Bir metodun algılama sınırını (LOD) belirlemek için numuneler, tüm ölçüm prosedürü izlenerek analiz edilmeli ve test numunelerinin hesaplamalarında kullanılan eşitlik kullanılarak sonuçlar hesaplanmalıdır. Metodun geçerli kılınması için en faydalı olan parametre metodun algılama sınırındır ve bu nedenle bu Kılavuz’un odak noktasıdır.

Aşağıdaki paragraflar LOD ve LOQ’nun deneysel tahminini açıklar. LOD’nin hesaplanması için istatistiksel temel Ek B’de verilmiştir. LOD ve LOQ sıfır veya sıfır civarındaki kesinlik verilerine bağlı olduğundan, Bölüm 6.2.2 öncelikle sıfıra yakın sonuçların standart sapmasının deneysel olarak tahmin edilmesini açıklar.

### 6.2.2 Düşük seviyelerde standart sapmanın belirlenmesi

LOD ve LOQ, normal olarak standart sapmanın ( $s'_0$ ) uygun bir katsayı ile çarpılması ile hesaplanır. Bu standart sapmanın, tipik test numuneleri için elde edilen kesinliği temsil etmesi ve güvenilir bir tahminin yapılması için yeterli sayıda tekrar ölçümlerinin yapılmış olması önemlidir. Bu bölümde, standart sapma,  $s'_0$ , sıfır yakınlarında, pratikte kullanılan herhangi bir ortalama alma veya boş düzeltmesi uygulanarak düzeltilen tekli sonuçların standart

sapmasına,  $s_0$ , dayanmaktadır (aşağıdaki açıklamalara bakınız). Alternatif yaklaşımlar Bölüm 6.2.5’de ele alınmıştır.

Tekrarlı basit bir deneyden LOD ve LOQ belirlenirken aşağıdaki hususlar göz önünde bulundurulmalıdır.

**LOD ve LOQ tahmini için uygun numuneler:** Kullanılan numuneler tercihen a) boş numuneler, yani tespit edilebilir seviyede analit içermeyen matrisler veya b) beklenen LOD değerine yakın veya altında analit derişimine sahip test numuneleri olmalıdır. Boş numuneler, spektrofotometri ve atomik spektroskopi gibi boş için ölçülebilir bir sinyalin elde edildiği metotlar için uygundur. Bununla birlikte, kromatografi gibi, gürültü seviyesinin üstünde bir piki algılamaya dayanan teknikler için LOD’ye yakın veya daha yüksek derişim seviyelerine sahip numuneler gereklidir. Bunlar, örneğin bir boş numuneye, analit ekleme yapılarak hazırlanabilir (bkz. Bölüm 5.4).

Düşük derişimlerde boş numunelerin ve test numunelerinin olmadığı durumlarda, genellikle reaktif boşları<sup>†</sup> kullanılabilir. Bu reaktif boşlarına tüm ölçüm prosedürü uygulanmayıp cihaza doğrudan verilmesi ile yapılan ölçümlere dayanan hesaplamalar, cihazın LOQ/LOD’sini verecektir.

**Metot kapsamının ele alınması:** Farklı matrisleri kapsayan metotlar için, her matrikse ait standart sapma değerinin ayrı ayrı belirlenmesi gerekli olabilir.

**Temsil etmeye yetecek tekrar sayısının sağlandığından emin olunması:** Standart sapma, metodun laboratuvarında kullanılan halinin performansını temsil etmelidir, yani standart sapma, numune hazırlama dahil tüm yazılı ölçüm prosedürüne göre analiz edilen test sonuçlarına dayanarak hesaplanmalıdır.  $s_0$  standart sapmasının hesaplanmasında kullanılan tüm değerler, prosedürde belirtilen ölçüm birimde olmalıdır.

**Ölçüm koşulları:** Standart sapma, normalde tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilir ve bu bölümde tanımlanan bu prosedürdür. Bununla

<sup>†</sup> Boş ile ilgili terimler konusunda karışıklık vardır-daha fazla açıklama için Bölüm 5.4.1’e bakınız.

birlikte, daha güvenilir bir tahmin, ara kesinlik koşullarının kullanılmasıyla elde edilebilir. Bu yaklaşım Bölüm 6.2.5’de daha ayrıntılı olarak tartışılmaktadır.

**Gözlem sayısı:** Tekrarların sayısı ( $m$ ) uygun bir standart sapma tahmini elde etmek için yeterli olmalıdır. Genellikle 6 ve 15 arası tekrar yeterli olarak değerlendirilir; geçerli kılma prosedürlerinde/protokollerinde çoğunlukla 10 tekrar önerilir (bkz. Bölüm 6.2.5.1).

**Ortalama alınmasına izin verilmesi:** Metodun rutin kullanımında birçok ölçüm prosedüründe, tüm ölçüm prosedürü uygulanarak elde edilen tekrarların ortalaması raporlanır. Bu durumda tek elde edilen sonuçların standart sapması ( $s_0$ ), rutin kullanımda ortalaması alınan tekrarların sayısını ifade eden  $n$ ’nin kareköküne bölünerek düzeltilmelidir.

**Boş düzeltmesi etkisine izin verilmesi:** Ölçüm prosedüründe boş düzeltmesi tanımlanmışsa, LOD veya LOQ hesaplamasında kullanılacak olan standart sapma belirlenirken özen gösterilmelidir. Geçerli kılma çalışmaları sırasında elde edilen sonuçların tamamı aynı boş değeri kullanılarak düzeltilmişse – işlemleri basitleştirmek için burada önerilen yaklaşım – sonuçların standart sapması, pratik uygulamalardaki farklı çalışmalarda farklı boşlar ile düzeltme yapılan sonuçlara kıyasla daha küçük olacaktır. Bu durumda  $s_0$  değeri,  $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$  ile çarpılarak düzeltilmelidir.

$n$  değeri sonuçlar raporlanırken ortalaması alınan ve tüm ölçüm prosedürü uygulanarak elde edilen tekrarlı gözlemlerin sayısını ve  $n_b$  değeri ise boş düzeltmesinde kullanılan boş gözlemlerin sayısını verir. Ara kesinlik koşullarında sonuçlar farklı boş değerleri ile düzeltilmiş olduğundan

standart sapmanın düzeltilmesine gerek olmadığı unutulmamalıdır (bkz. Bölüm 6.2.5).

Örnek 3 bu hesaplamaları göstermektedir ve Şekil 2’deki akış şeması, ortalamalar ve boş düzeltme için gereken düzeltmeleri özetlemektedir.

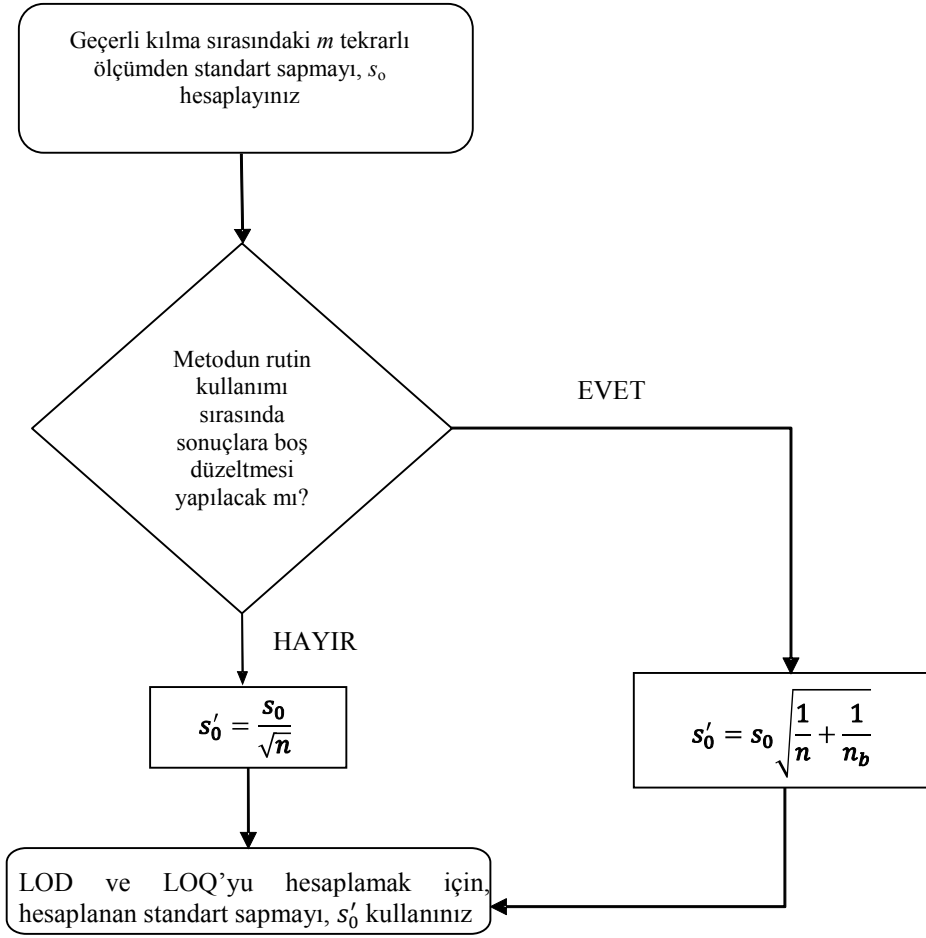
**Örnek 3** – Bir geçerli kılma çalışması, bir numune boşunun analizine dayanmaktadır. Tekrarlanabilirlik koşulları altında boş numunenin on ( $m$ ) bağımsız ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar, 2 mg/kg ortalama değere ve 1 mg/kg standart sapma,  $s_0$ , değerine sahiptir.

Durum 1 – Ölçüm prosedürü test numunesinin ( $n=1$ ) bir sefer ölçülmesi gerektiğini belirtmektedir ve sonuçlar bir tek numune boşu numunesi sonucu ile düzeltilmiştir ( $n_b=1$ ). Bir dizi ölçümde, her bir çalışma rutin numune ve boş numunenin ( $n_b$ ) bir tekrarlı ölçümünü içermektedir. Şekil 2’ye göre LOD/LOQ hesaplamak için kullanılan standart sapma: Bu durumda,

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{1}} = 1\sqrt{2} = 1,4 \text{ mg/kg}$$

Durum 2 – Ölçüm prosedürüne göre test numunesi ve boş numune iki tekrarlı ( $n=2$ ) olarak analiz edilmelidir. Bir dizi ölçümde, her bir çalışma iki tekrarlı ( $n=2$ ) rutin numune ölçümü ve iki ( $n_b$ ) boş numunenin ölçümünü içerir. Rutin numuneler için elde edilen derişim değeri, iki boş numunenin ortalama değeri çıkarılarak düzeltilir. Bu durumda, Şekil 2’ye göre LOD/LOQ hesaplamak için kullanılan standart sapma:

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} = 1 \text{ mg/kg}$$



$s_0$  sıfır veya yakınındaki derişimlerde,  $m$  tekli sonuçlardan tahmin edilen standart sapma değeridir.

$s'_0$  LOD ve LOQ hesaplamak için kullanılan standart sapma değeridir.

$n$  tüm ölçüm prosedürü takip edilerek elde edilen, sonuçlar raporlanırken ortalaması alınan tekrarlı gözlemlerin sayısıdır.

$n_b$  ölçüm prosedürüne göre boş düzeltmesinin hesaplanmasında ortalaması alınan boş gözlemlerin sayısıdır.

**Şekil 2 – LOD ve LOQ tahmini için kullanılacak standart sapmanın  $s'_0$  hesaplanması. Akış şeması, sıfıra yakın derişime sahip bir numunenin, tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen, metotta belirtilen şekilde tüm sonuçlara boş düzeltmesi yapılarak veya yapılmadan, tekrarlı ölçüm sonuçlarından hesaplanan standart sapma  $s_0$  ile başlar. Bu boş düzeltmesi, bir tek boş gözlem veya birçok boş gözlemin ortalamasına dayanabilir.**

### 6.2.3 LOD'nin tahmini

Normalde, geçerli kılma amacı için, yani analit tespitinin sorunlu olmaya başladığı seviye için yaklaşık bir LOD değeri sağlamak yeterli olur. Bu amaç için, Hızlı Referans 2'de gösterilen "3s" yaklaşımı genellikle yeter.

Düzenlemelere ya da belirtilen özelliklere uygunluğun değerlendirildiği destek çalışmalarında özellikle  $s_0$ 'a ait serbestlik derecesinin de dikkate alındığı daha kesin yaklaşım gerekir. Bu, IUPAC [49] ve literatürde bulunan diğer kaynaklarda [50,51] detaylı olarak açıklanmıştır. Kritik değerin ve/veya LOD'nin karar verme amaçlı kullanıldığı durumlarda, kesinlik izlenmeli ve zaman zaman sınırlar yeniden hesaplanmalıdır. Farklı sektörler ve/veya mevzuat, LOD tahmininde farklı yaklaşımlar kullanılabilir. Algılama sınırı ifade edilirken hesaplamada kullanılan yaklaşımın belirtilmesi önerilir. LOD tahminine yönelik herhangi bir sektörel kılavuz yok ise, Hızlı Referans 2'de

verilen yaklaşımlar genel bir kılavuz olarak kullanılabilir.

### 6.2.4 LOQ'nun tahmini

LOQ, kabul edilebilir performans ile belirlenebilen en düşük analit seviyesidir. ("Kabul edilebilir performans" farklı kılavuzlarda kesinlik, kesinlik ve doğruluk veya ölçüm belirsizliğini içerecek şekilde ele alınmıştır) [52]. Fakat pratikte LOQ, birçok mevzuata göre, düşük seviyelerde elde edilen standart sapmanın ( $s_0$ ) bir  $k_Q$  faktörüyle çarpımına eşdeğer analit derişimi olarak hesaplanır. IUPAC'nin  $k_Q$  için verdiği değer 10'dur [49] ve eğer düşük derişimlerde standart sapma yaklaşık olarak sabit ise, bu çarpan % 10'luk bağıl standart sapma (RSD) değerine karşılık gelir. Sırasıyla, % 20 ve % 17'lik RSD değerine karşılık gelen 5 ve 6 faktörleri de zaman zaman kullanılmaktadır [53,54]. Daha fazla bilgi için ilgili referansa [8] ve Hızlı Referans 3'e bakınız.

#### Hızlı Referans 2 – Algılama sınırı (LOD)

Ne yapılmalı	Kaç defa	Veriden ne hesaplanmalı	Açıklamalar
a) Boş, yani tayin edilebilir seviyede analit içermeyen matriks numunelerin tekrarlı ölçümleri.  veya  Düşük derişimlerde analit içeren test numunelerinin tekrarlı ölçümleri.	10	Sonuçların standart sapmasını, $s_0$ , hesaplayınız.  Şekil 2'deki akış şemasını takip ederek, $s_0$ değerinden $s_0'$ değerini hesaplayınız.  LOD'yi $LOD = 3 \times s_0'$ şeklinde hesaplayınız.	
b) Reaktif boşu çözeltilerinin tekrarlı ölçümleri.  veya  Düşük derişimlerde analit eklenmiş reaktif boşu çözeltilerinin tekrarlı ölçümleri.	10	Sonuçların standart sapmasını, $s_0$ hesaplayınız.  Şekil 2'deki akış şemasını takip ederek, $s_0$ değerinden $s_0'$ değerini hesaplayınız.  LOD'yi $LOD = 3 \times s_0'$ şeklinde hesaplayınız.	Boş numunelerin veya düşük derişim seviyesinde analit içeren test numunelerinin bulunmasının mümkün olmadığı durumlarda b) yaklaşımı kabul edilebilir.  Reaktif boşu çözeltileri, tüm ölçüm prosedürü uygulanarak hazırlanamazsa ve doğrudan cihaza verilirse hesaplamalar cihazın LOD değerini verecektir.
<b>NOTLAR</b>			
<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Kromatografi gibi, bazı analitik teknikler için çok düşük derişim seviyelerdeki test numunesine veya reaktif boş çözeltilisine sıfırdan farklı bir standart sapma elde etmek için analit ekleme gerekebilir.</li> <li>2) Her bir tayin için ölçüm prosedürünün tamamı tekrar edilmelidir.</li> <li>3) Standart sapma derişim biriminde ifade edilir. Standart sapma sinyal olarak ifade edildiğinde LOD değeri, boşa ait sinyale (<math>y_B + 3 \times s_0'</math>) karşılık gelen derişimdir. LOD'nin sinyal türünden hesaplanmasına dair kısa bir örnek Referans [5]'te verimiştir.</li> </ol>			

## Hızlı Referans 3 – Tayin sınırı (LOQ)

Ne yapılmalı	Kaç defa	Veriden ne hesaplanmalı	Açıklamalar
a) Boş, yani tayin edilebilir seviyede analit içermeyen matris numunelerin tekrarlı ölçümleri.  veya  Düşük derişimlerde analit içeren test numunelerinin tekrarlı ölçümleri.	10	Sonuçların standart sapmasını, $s_0$ , hesaplayınız.  Şekil 2'deki akış şemasını takip ederek, $s_0$ değerinden $s'_0$ değerini hesaplayınız.  $LOQ$ 'yi $LOQ = k_Q \times s'_0$ şeklinde hesaplayınız.	Çarpım faktörü, $k_Q$ için genellikle 10 kullanılır, ancak 5 ve 6 gibi değerler de sıklıkla kullanılır ("amaca uygunluk" kriterine bağlı olarak).
b) Reaktif boş çözeltilerinin tekrarlı ölçümleri  veya  Düşük derişimlerde analit eklenmiş reaktif boş çözeltilerinin tekrarlı ölçümleri.	10	Sonuçların standart sapmasını, $s_0$ hesaplayınız.  Şekil 2'deki akış şemasını takip ederek, $s_0$ değerinden $s'_0$ değerini hesaplayınız.  $LOQ$ 'yi $LOQ = k_Q \times s'_0$ şeklinde hesaplayınız.	Boş numunelerinin veya düşük derişim seviyesinde analit içeren test numunelerinin bulunmasının mümkün olmadığı durumlarda b) yaklaşımı kabul edilebilir.  Reaktif boş çözeltileri, tüm ölçüm prosedürü uygulanarak hazırlanamazsa ve doğrudan cihaza verilirse, hesaplamalar cihazın $LOQ$ değerini verecektir.
<b>NOTLAR</b>			
<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Kromatografi gibi, bazı analitik teknikler için çok düşük derişim seviyelerindeki test numunesine veya reaktif boş çözeltilisine sıfırdan farklı bir standart sapma elde etmek için analit ekleme gerekebilir.</li> <li>2) Her bir tayin için ölçüm prosedürünün tamamı tekrar edilmelidir.</li> <li>3) Standart sapma derişim biriminde ifade edilir.</li> </ol>			

**6.2.5 Alternatif prosedürler**

Önceki bölümler, LOD ve LOQ tahmini için tekrarlanabilirlik koşulları altında sifıra yakın derişimlerde elde edilen sonuçların standart sapmasına dayanan genel yaklaşımı tarif etmiştir. Bu yaklaşım, yaygın olarak kullanılır, fakat başka standartlar ve protokollerde alternatif prosedürler verilmiştir.

Boş değerlerinin günden güne önemli ölçüde değiştiği bazı durumlarda, ara kesinlik koşulları, tekrarlanabilirlik koşullarına tercih edilir. Örneğin, düşük derişim seviyelerinde test numuneleri için kalite kontrol sonuçları varsa, bu sonuçların standart sapması LOD ve LOQ tahmininde kullanılabilir. LOD ve LOQ hesaplanmasında kullanılan standart sapma, ara kesinlik koşullarında elde edildiğinde, Şekil 2'de gösterilen boş düzeltmesinin dikkate alınmasına gerek yoktur. Dolayısıyla, iç kalite kontrolden elde edilen deneysel standart sapma, LOD ve LOQ hesaplamasında kullanılacak standart sapmaya,  $s'_0$ , eşittir. ISO 11843-2 [46] cihazın

LOD'sinin kalibrasyon eğrisinden nasıl doğrudan elde edilebileceğini açıklamaktadır.

**6.2.5.1 LOD ve LOQ tahminlerinin güvenilirliği**

Hızlı Referans 2 ve Hızlı Referans 3'te verildiği gibi 10 tekrarla bile yapılsa, standart sapma tahminlerinin değişkenlik göstereceği unutulmamalıdır. Dolayısıyla, geçerli kılma sırasında elde edilen LOD/LOQ tahminleri gösterge olarak ele alınmalıdır. Bu, basitçe numune derişimlerinin LOD/LOQ'dan yüksek olduğunu göstermek için yeterli olacaktır. Laboratuvar numunelerinin düşük derişim seviyelerinde analit içermesi beklendiğinde LOD/LOQ rutin olarak izlenmelidir.

**6.2.6 Nitel analizler için algılama kabiliyeti**

Nitel bir analiz (Ek D) maddelerin tanımlanmasını veya sınıflandırılmasını içerir ve verilen bir kesim derişiminde analit varlığına, etkin bir "evet"/"hayır" cevabıdır [55]. Nitel metotlar için kesinlik, standart sapma ya da bağlı

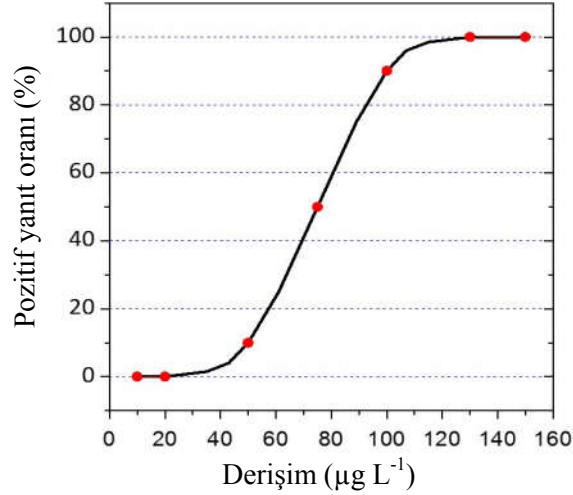
standart sapma olarak ifade edilemez, ancak doğru ve yanlış pozitif ve negatif oran olarak ifade edilebilir.

Bir geçerli kılma çalışmasında, kesim derişimi, beklenen kesim değerinin birkaç seviye altında veya üstünde yanlış pozitif ve negatif oranlar oluşturarak belirlenebilir. Kesim değeri, bu

değerin üstündeki derişimler için, verilen bir olasılıkta, örneğin % 5 gibi, yanlış negatif oranının düşük olduğu seviyedir. Geçerli kılma sırasında dokümente edilen prosedürde önerilen kesim değeri değerlendirilir (bkz. Örnek 4 ve Hızlı Referans 4).

**Örnek 4** – Kesim derişimi  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak verilen nitel bir metodun kesim derişiminin belirlenmesi. Her bir seviyede on gözlem kaydedilmiştir. Testin güvenilirliğini yitirmeye başladığı eşik derişimin incelenip belirlendiği, pozitif sonuçların oranına (%) karşı derişim eğrisi oluşturulmuştur. % 5'ten düşük seviyede yanlış negatif sonuçlar kriteri ile kesim derişimi 100 ve  $130 \mu\text{g L}^{-1}$  arasındadır.

C ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	pozitif/negatif sonuç sayısı
150	10/0
130	10/0
100	9/1
75	5/5
50	1/9
20	0/10
10	0/10



#### Hızlı Referans 4 – Nitel analizler için algılama sınırı (LOD)

Ne yapılmalı	Kaç defa	Veriden ne hesaplanmalı/belirlenmeli
Belirli bir derişim aralığında analit eklenmiş boş numuneleri rastgele bir sırayla ölçünüz.	10	Testin güvenilir olmaya başladığı derişim eşığının incelenerek belirlenebileceği, % pozitif veya negatif sonuçlara karşı derişim eğrisi oluşturulmalıdır.



### 6.3 Çalışma aralığı

#### 6.3.1 Tanım

“Çalışma aralığı”\*, metodun kabul edilebilir bir belirsizlikle sonuç sağladığı aralıktır. Çalışma aralığının alt sınırı LOQ, tayin sınırındır. Çalışma aralığının en üst sınırı analitik duyarlılıkta belirgin bir bozulmanın gözlemlendiği derişimdir. UV/VIS spektroskopisinde yüksek absorbans seviyelerinde oluşan düzleşme etkisi bunun bir örneğidir.

#### 6.3.2 Geçerli kılma çalışmasında dikkat edilmesi gerekenler

Geçerli kılınacak metodun çalışma aralığı dokümanite edilmiş prosedürün kapsamında belirtilmelidir (bkz. Ek A.5). Geçerli kılma sırasında metodun bu aralıkta kullanılabilirdiği teyit edilmelidir. Çalışma aralığının değerlendirilmesi için laboratuvarın, hem metodun doğrusallığını hem de metotta verilen kalibrasyon prosedürünü dikkate alması gerekir.

#### 6.3.3 Metot ve cihaz çalışma aralığı

Birçok metot, laboratuvar tarafından teslim alınan ölçüm cihazına sunulup sinyalin kaydedilmesinden önce işlenmiş (çözündürülmüş, özütlenmiş, seyreltilmiş), test numunesinin (laboratuvar numunesi) ölçümüne dayanır. Bu gibi durumlarda iki çalışma aralığı vardır. Metodun kapsamında verilen metot çalışma aralığı (örneğin Ek A’da Bölüm A.5), laboratuvar numunesinin derişimine bağlıdır. Örneğin katı bir test numunesi için  $\text{mg kg}^{-1}$  olarak ifade edilir. Cihazın çalışma aralığı, ölçüm için cihaza verilen işlenmiş test numunesindeki analitin derişimi şeklinde tanımlanır (örneğin numunenin özütleme sonrası elde edilen çözeltisindeki  $\text{mg L}^{-1}$  cinsinden derişimi). Şekil 3A’da kalibrasyon standartlarının derişimine karşı cihaz sinyali grafiği, cihazın çalışma aralığına örnek olarak verilmiştir. Metot çalışma aralığına örnek olarak bilinen test numunesi derişimlerine karşı ölçülen derişim Şekil 3B’de verilmiştir. Ölçülen derişim, yazılı metoda göre kalibre edilmiş cihaz kullanılarak uygulanan

ölçüm prosedürü ile (tüm numune hazırlama işlemleri dahil) elde edilen sonuçtur.

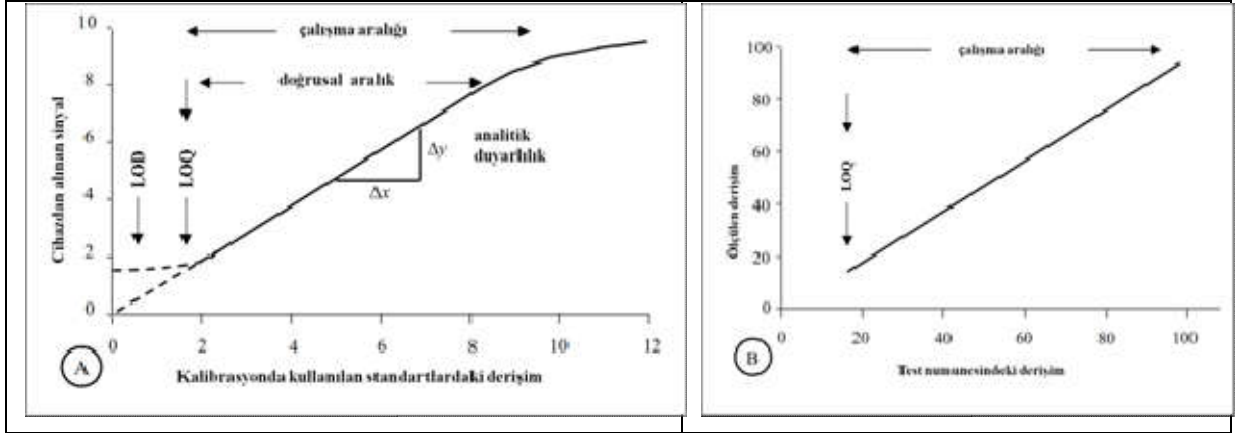
Geçerli kılma çalışmaları sırasında hem metodun çalışma aralığı hem de cihazın çalışma aralığı değerlendirilmelidir. Çalışma aralığına ait veriler genelde metodun geliştirilmesi sırasında üretilir. Bu gibi durumlarda, bu verilerin geçerli kılma raporuna dahil edilmesi yeterli olacaktır.

#### 6.3.4 Cihaz çalışma aralığının değerlendirilmesi

LOQ ile cihaz çalışma aralığının en yüksek noktası arasında, cihazdan elde edilen yanıt bilinen bir doğru veya eğri bağıntısına uyar. Metodun geçerli kılınması sırasında, *i*) bu ilişkinin teyit edilmesi, *ii*) metodun kapsamında belirtilen aralık ile cihazın çalışma aralığının uyumlu olduğunun gösterilmesi, *iii*) önerilen cihaz kalibrasyon prosedürünün (tek nokta, araya alma veya çok noktalı) yeterli olduğunun doğrulanması gerekir.

Cihaz çalışma aralığının değerlendirilmesi ve amaca uygunluğunun teyit edilmesi için beklenen derişim aralığını  $\pm \% 10$  ve hatta  $\pm \% 20$  aşacak derişimlerde kalibrasyon standartları ile çalışma yapılmalı ve sinyallere ait grafik çizilmelidir (bkz. 5. Hızlı Referans 1. adım).  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ’den  $100 \text{ mg L}^{-1}$ ’ye kadar bir aralık için  $\pm \% 20$ ,  $0,8 \text{ mg L}^{-1}$  ile  $120 \text{ mg L}^{-1}$  arasına işaret eder. Seçilen derişimler, aralık içinde eşit dağıtılmalıdır. Çalışma aralığının ilk değerlendirmesi yanıt eğrisinin görsel incelemesidir. Sonraki aşama, seçilen model için (örneğin doğrusal, quadratik gibi) regresyon istatistiği ve artık grafiği incelenerek derişim ve cihaz yanıtı arasındaki ilişkinin teyit edilmesidir (bkz. 5. Hızlı Referans 2. adım). Değerlendirme “uyum derecesi” gibi özel istatistiksel ölçüleri de içerebilir [56, 57]. Yanıt eğrisi ve cihazın çalışma aralığı için elde edilen destekleyici istatistiksel analizlerden yola çıkarak analist, metotta verilen kalibrasyon prosedürü önerisinin uygunluğunu değerlendirebilir. Metodun çalışma aralığı incelenerek bu durum daha detaylı değerlendirilir.

\* VIM terimi [7] “ölçüm aralığı” veya “çalışma aralığı”dır



Şekil 3 – A) Cihaza dayalı bir metottan elde edilen cevap eğrisine tipik bir örnek. Performans özellikleri ‘‘çalışma aralığı’’, ‘‘doğrusal aralık’’, ‘‘analitik duyarlılık’’, ‘‘LOD’’ ve ‘‘LOQ’’ tanımlanmıştır. B) Test numunesinin derişimine karşı ölçülen derişim grafiğın çizildiğı ölçüm prosedürü ile elde edilen eğriye tipik bir örnek.

### 6.3.5 Metot çalışma aralığının değerlendirilmesi

Metodun çalışma aralığını değerlendirmek için 1) derişimi bilinen numuneler ve numune boşları olmalıdır; 2) kullanılan numunelere tüm ölçüm prosedürü uygulanmalıdır; 3) farklı numunelerin derişimleri tercihen ilgilenilen çalışma aralığının tamamını kapsamalıdır ve 4) cihaz önerilen kalibrasyon prosedürüne göre kalibre edilmelidir. Her bir test numunesine ait ölçüm sonucu yazılı prosedüre uygun olarak hesaplanır (bkz. 5. Hızlı Referans , 3. adım). Bu değerler, Şekil 3B’deki gibi bilinen numune derişimlerine (x-axis) karşılık y-ekseninde çizilir. Metot çalışma aralığı ve doğrusallığı, grafiğın görsel olarak

incelenmesi ile değerlendirilir, istatistik ve lineer regresyondan gelen artık grafiğı ile desteklenir.

Çalışma aralığının değerlendirilmesi, kesinlik ve sapma çalışmalarının tüm metot çalışma aralığını kapsamı şartıyla, bu çalışmalardan elde edilen verilerle desteklenecektir (bkz. Bölüm 6.5.2 ve Bölüm 6.6.2.1).

Metot çalışma aralığının, metodun kapsamına dahil edilen her bir matriks için belirlenmesi gerekir. Bu girişimlerin doğrusal olmayan yanıtlara neden olabilmesi ve metodun analiti özütleme/geri kazanabilme yeteneğinin numune matriksine göre değişiklik gösterebilmesi nedeniyledir.

## Hızlı Referans 5 – Çalışma aralığı ve doğrusal aralık

Ne yapılmalı	Kaç defa	Veriden ne hesaplanmalı	Açıklamalar
1) İlgili aralık boyunca eşit aralıklarda 6-10 farklı derişimde kalibrasyon standartlarını ve boş çözeltiyi ölçünüz.	1	Yanıtı (y eksenini), derişime (x eksenini) karşı çiziniz.  Doğrusal aralığı ve çalışma aralığının alt ve üst sınırlarını yaklaşık olarak belirlemek için görsel olarak inceleyiniz.  sonra 2. adıma ilerleyiniz.	Bu, cihazın çalışma aralığının doğrusal olup olmadığını görsel olarak doğrulamasını verecektir.  Not: Sinyal derişim ile doğru orantılı değilse, örneğin, pH veya diğer iyon seçici elektrotlar veya immunometrik metotlarla çalışıldığında, önce ölçülen değerlerin doğrusallık değerlendirilmeden dönüştürülmesi gerekir.
2) Doğrusal aralık boyunca eşit aralıklarda 6-10 farklı derişimde kalibrasyon standartlarını ve boş çözeltiyi 2-3 defa ölçünüz	1	Yanıtı (y eksenini), derişime (x eksenini) karşı çiziniz. Regrasyon analizine dahil edilemeyecek aykırı değerler için görsel olarak inceleyiniz.  Uygun regresyon istatistiklerini hesaplayınız. Artıkları hesaplayınız ve grafiğini çiziniz (her bir x değeri için doğrusal grafikten tahmin edilen y değeri ile gözlemlenen y değeri arasındaki fark). Artıkların sıfır etrafındaki rastgele dağılımı doğrusallığı teyit eder. Sistemik eğilimler doğrusallığın olmadığını veya varyansın derişim seviyesi ile değiştiğini gösterir.	Bu aşama, doğrusal olduğu varsayılan çalışma aralığının test edilmesi için özellikle metot iki noktalı kalibrasyon kullandığında gereklidir.  Eğer standart sapma derişimle orantılı ise basit ağırlıksız lineer regresyon kullanmak yerine ağırlıklı regresyon hesaplamasını kullanınız.  Bir aykırı değeri, yakın derişimlerde ölçümler yapmadan atmak güvenilir değildir.  Bazı durumlarda' cihazın kalibrasyonu için, verilere doğrusal olmayan eğrinin uygulanması daha iyi olabilir. Bu durumda numune sayısının artırılması gerekir. Kuadratikten yüksek fonksiyonlar genellikle tavsiye edilmez.
3) Cihazı kalibrasyon prosedüründe önerildiği şekilde kalibre ediniz. Yazılı metoda göre, boş artı ilgili aralık boyunca eşit aralıklarda 6-10 farklı derişimde referans malzemeyi veya analit eklenmiş numune boşunu 2-3 defa ölçünüz.	1	Ölçülen derişimi (y-eksenini) test numunesi derişimine (x eksenini) karşı çiziniz. Doğrusal aralığı ve çalışma aralığının alt ve üst sınırlarını yaklaşık olarak belirlemek için görsel olarak inceleyiniz. Uygun regresyon istatistiklerini hesaplayınız. Artıkları hesaplayınız ve grafiğini çiziniz (her bir x değeri için, doğrusal grafikten tahmin edilen y değeri ile gözlemlenen y değeri arasındaki fark). Artıkların sıfır etrafındaki rastgele dağılımı doğrusallığı teyit eder. Sistemik eğilimler doğrusallığın olmadığını veya varyansın derişim seviyesi ile değiştiğini gösterir.	Bu aşama, önerilen cihaz çalışma aralığı ve kalibrasyon prosedürünün amaca uygun olup olmadığını değerlendirilmesi için gereklidir.  Eğer ilgilenilen çalışma aralığını kapsayan kesinlik ve sapma verileri varsa, metodun çalışma aralığı için ayrı bir çalışma yapmaya gerek olmayabilir.



Ölçüm “doğruluğu”, tek bir sonucun referans değere\* yakınlığını ifade eder [29, 48] (tam tanım için bkz. VIM 2.13). Metodun geçerli kılınması, bağımsız sonuçlar üzerinde sistematik ve rastgele etkileri göz önünde bulundurarak sonuçların doğruluğunu değerlendirmeye çalışır. Bu nedenle, doğruluk normalde iki bileşen olarak çalışılır: “gerçeklik” ve “kesinlik”. Buna ek olarak, tek başına “ölçüm belirsizliği” doğruluğun giderek yaygınlaşan bir ifadesidir. Kesinlik, Bölüm 6.6’da, belirsizlik ise Bölüm 6.7’de tartışılırken, gerçeklik değerlendirmesi aşağıda tanımlanmıştır.

Ölçüm “gerçekliği” (metot ile elde edilen) sonsuz sayıda sonucun ortalamasının referans değere yakınlığının ifadesidir. Sonsuz sayıda ölçüm almak mümkün olmadığından gerçeklik ölçülemez. Bununla birlikte, gerçeklik için pratik bir değerlendirme yapabiliriz. Bu değerlendirme normalde nicel olarak “sapma” terimi ile ifade edilir.

### 6.5.2 Sapmanın belirlenmesi

Pratik bir sapma tespiti, aday metod ile elde edilen sonuçların ortalamasının ( $\bar{x}$ ), uygun bir referans değeri ( $x_{ref}$ ) ile karşılaştırılmasına dayanır. Üç genel yaklaşım vardır: a) referans malzemelerin analizi, b) analit eklenmiş numuneler kullanarak geri kazanım deneyleri ve c) başka bir metod ile elde edilmiş sonuçlarla karşılaştırma – bkz. Hızlı Referans 6. Sapma çalışmaları metodun kapsamını içermelidir ve bu nedenle farklı numune tipleri ve/veya analit seviyelerinin analizini gerektirebilir. Bunun için, yukarıda verilen farklı yaklaşımların birleşimini kullanmak gerekebilir.

Sapma mutlak terimlerle;

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

veya yüzde cinsinden bağlı olarak;

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

veya analit eklemeye elde edilen bağlı geri kazanım olarak ifade edilebilir;

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

burada  $\bar{x}'$ , analit eklenmiş numunenin ortalama değeri ve  $x_{eklenen}$  ise numune üzerine eklenen derişimdir.

Bununla birlikte, analitik ölçümlerin yapıldığı bazı sektörlerde, yüzde cinsinden bağlı geri

kazanım da (“bilinen geri kazanım”) kullanılmaktadır [60].

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

RM kullanarak sapma belirlemek için bir dizi tekrarlı ölçümün ortalaması ve standart sapması belirlenir ve sonuçlar RM’nin atanmış özellik değeri ile karşılaştırılır. İdeal RM, özellik değerleri, ilgili test numunesine yakın sertifikalı matriks referans malzemedir. SRM’lerin genellikle izlenebilir değerler sağladığı kabul edilir [61, 62]. Bir RM’nin geçerli kılma çalışmasında sadece bir amaç için kullanılması gerektiği unutulmamalıdır. Örneğin, kalibrasyon için kullanılan bir RM, sapmayı değerlendirmek için kullanılamaz.

Laboratuvarlarda ele alınan, farklı numune çeşitleri ve analitlerle kıyaslandığında, RM’lerin mevcudiyeti sınırlıdır, ancak seçilen malzemenin *kullanıma uygun olması* önemlidir. RM’nin nasıl karakterize edildiğine dikkat etmek gerekebilir, örneğin, malzemenin karakterizasyonu sırasında numune hazırlama prosedürü olarak toplam analit derişimi yerine, belli şartlar altında özütlenebilir miktarı belirlemeye yönelik prosedür kullanılmış olabilir. Mevzuat gereği yapılan çalışmalarda, ideal olarak, eğer bulunabilirse matriks uyumlu sertifikalı malzeme kullanılmalıdır. Uzun bir süre laboratuvar içi çalışmalarda kullanılan metodlar için laboratuvar içi hazırlanmış kararlı malzemeler, sapmanın izlenmesinde kullanılabilir, ancak ilk değerlendirmede SRM kullanılmalıdır.

Uygun RM’lerin olmadığı durumlarda, geri kazanım çalışmaları (analit ekleme deneyleri), olası sapma seviyesi hakkında fikir vermek üzere kullanılabilir. Analitler numunelerde değişik biçimlerde bulunabilir ve bazen analist, analitin sadece belli bir formu ile ilgilenebilir. Bu nedenle, metod bilinçli olarak sadece ilgilenecek formdaki analitin belirlenmesine yönelik tasarlanmış olabilir. Mevcut analitin tamamı veya bir kısmının belirlenmesindeki başarısızlık, metoda has bir problemin olduğunu gösterebilir. Bu nedenle, metodun, analitin tamamını belirleme etkinliğinin değerlendirilmesi gerekir [60, 63].

Test numunesinde ilgili analitin miktarı genellikle bilinmediğinden, metodun analiti numune matriksinden ne kadar başarılı özütleyebildiğinden emin olmak zordur. Özütleme veriminin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri, test numunelerine çeşitli derişimlerde analit eklenmesi, ardından ekleme yapılan test numunelerine özütleme yapılması ve

\* Referans değeri bazen “gerçek değeri” veya “üzerinde uzlaşılmış değeri” anlamına gelir.

analit derişiminin ölçülmesidir. Bu uygulamanın doğasındaki problem, bu yolla eklenen analitin, muhtemelen, test numunesi matrisinde doğal olarak bulunan analit kadar numuneye sıkı bağlanamayacak olması ve bu nedenle, teknik, gerçekte olamayacak kadar yüksek bir özütleme verimine sahip olduğu izlenimini verecektir.

Aday metot ve alternatif bir metot ile elde edilen sonuçların karşılaştırılmasıyla da sapmayı değerlendirmek mümkün olabilir. Karşılaştırılabilecek iki genel alternatif metot türü vardır - bir referans metot veya hali hazırda laboratuvarında rutin olarak kullanılan metot. Referans metot, ölçülen özellik için “kabul edilir bir referans değer” sağlaması amacıyla kullanılan ve genellikle aday metoda göre sonuçları daha düşük belirsizlikle veren metottur. Referans metotların özel bir çeşidi birincil metottur<sup>†</sup>. İkinci durum geçerli kılma çalışmasının amacı, aday metodun verdiği sonuçların, varolan metoda eşdeğerliğinin gösterilmesi olduğunda ortaya çıkar. Burada amaç, mevcut metot ile elde edilen

sonuçlarla kıyaslandığında (her ne kadar metodun kendisinde sapma olsa da) önemli bir sapmanın olmadığını gösterilmesidir.

Her iki durumda da, aynı numune veya numuneler kullanılarak, aday ve alternatif metotlardan elde edilen sonuçlar karşılaştırılır. Numune(ler), kurum içi RM’ler veya basitçe tipik test numuneleri olabilir. Bu yaklaşımın avantajı, referans değer alternatif metot ile belirlendiğinden, kullanılan malzemelerin SRM olmasının gerekmemesidir. Metot, bu şekilde, laboratuvar tarafından rutin olarak karşılaşılan numuneleri temsil eden “gerçek” numuneler üzerinde test edilebilir.

---

<sup>†</sup> “Birincil metot”: en yüksek metrolojik kaliteye sahip, uygulanışı tam olarak tanımlanmış ve SI birimleri ile ifade edilebilir ve sonuçları aynı miktardaki standarda referans gösterilmesi gerekmeden kabul edilen metottur (CCQM). Buna karşılık gelen VIM terimi “birincil seviye referans ölçüm prosedürü”dür (bkz. Ref. 7’de 2.8).

## Hızlı Referans 6 – Gerçeklik

Ne yapılmalı	Kaç kere	Veriden ne hesaplanmalı/tespit edilmeli	Açıklamalar
a) Aday metot ile RM'yi ölçünüz.	10	RM'in referans değeri, $x_{ref}$ , ile ortalama değeri, $\bar{x}$ karşılaştırınız. Sapma, $b$ , yüzde bağıl sapma, $b$ (%) ve yüzde bağıl geri kazanımı (bilinen geri kazanımı) hesaplayınız. $b = \bar{x} - x_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$ $R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$	Hem metot hem de laboratuvar sapmasının etkisini dahil ederek ölçüm sapmasını verir.
b) Belirli bir aralık boyunca farklı derişimlerde matris boşu veya ilgili analit eklenmiş ve eklenmemiş test numunelerini ölçünüz.	10	Analit eklenmeden elde edilmiş değerlerin ortalaması $\bar{x}'$ ile analit eklenerek elde edilmiş değerlerin ortalaması $\bar{x}$ arasındaki farkı, eklenen analit derişimi $x_{spike}$ ile karşılaştırınız. Analit eklemeye bağıl bağıl geri kazanımını $R'(\%)$ hesaplayınız. $R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{eklenen}} \times 100$	Eklenen analitin net geri kazanımının tespiti için, analit eklenen numuneler, eklenmemiş numunelerle kıyaslanmalıdır. Analit eklenmiş numuneler veya matris boşu ile elde edilen geri kazanım genellikle analitin daha sıkı tutunduğu doğal numunelerden daha iyi olacaktır.
c) RM/test numunesini aday metot ve alternatif metot ile ölçünüz.	10	Ortalama değeri, $\bar{x}$ , alternatif metot ile yapılan ölçümlerin ortalama değeri, $\bar{x}_{ref}$ ile karşılaştırınız. Sapmayı $b$ veya yüzde bağıl sapmayı $b$ (%) veya yüzde bağıl geri kazanımı (bilinen geri kazanımı) hesaplayınız. $b = \bar{x} - x_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$ $R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$	Alternatif metoda karşı sapmanın bir ölçüsünü verir. Alternatif metot bir referans metot veya eğer bir metodun diğer metotla değiştirilmesi söz konusuysa ve bir performans denkleğinin gösterilmesi gerekiyorsa hali hazırda laboratuvarda kullanılan metottur. Alternatif metodun kendisinde bir sapma varsa bu kıyaslama gerçeklik hakkında kesin bir ölçü olmayacaktır.
NOT: Sapma, matris ve derişim seviyesine göre değışkenlik gösterebilir, bu nedenle incelenecek matris sayısı ve derişim seviyeleri geçerli kılma planında belirtilmelidir.			

### 6.5.3 Sapma ölçümlerinin yorumlanması

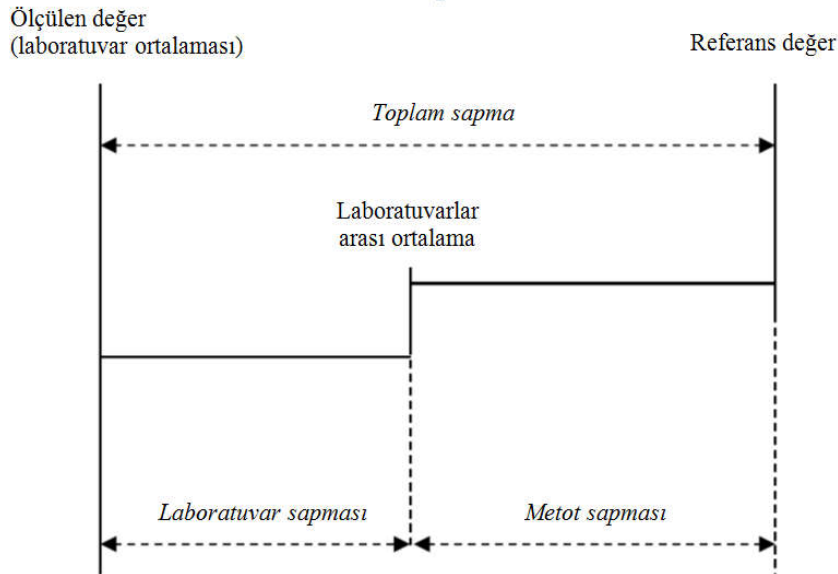
Şekil 5, “metot sapması” ve “laboratuvar sapması” olarak anılan, iki ayrı sapma bileşenini gösterir.

Metot sapması, hangi laboratuvarın kullandığına bakmaksızın, metoda özgü sistematik hatalardan kaynaklanır. Laboratuvar sapması, laboratuvara ve onun metodu yorumlamasına özgü, ek sistematik hatalardan kaynaklanır. Bir laboratuvar tek başına sadece bu iki kaynaktan gelen birleşik (toplam) sapmayı tahmin edebilir. Bununla birlikte, sapmayı kontrol ederken, amaca yönelik kabullenmelere dikkat edilmelidir. Örneğin, bazı gıda uygulamalarında, yasal sınırları belirtilen ampirik standart metot (“işlevsel olarak tanımlanmış”) ile elde edilen sonuçlara göre belirlenir. Ampirik ölçüm prosedürleri için metot sapması tanım gereği sıfırdır. Yalnızca bu metoda özel sapma (bakınız şekil 5) ihmal edilir ve aynı metodu uygulayan diğer laboratuvarlar ile metrolojik karşılaştırılabilirlik ön plana çıkar. Bu durumda, laboratuvar ideal olarak özel bir düzenleyici tarafından veya ele alınan ampirik metot ile sertifikalandırılmış referans malzeme kullanarak sapmayı belirler, sapma kontrolü ve yorumlaması genel kılavuzlar uyarınca yapılır. Böyle bir malzeme olmadığında veya ek bilgi elde etmek

için laboratuvar başka malzemeler kullanabilir, fakat sonuçları yorumlarken kullanılan metot ve referans değer atamasında kullanılan metot(lar) arasındaki bilinen farklara dikkat etmelidir.

Belirli bir analitik gerekliliği yerine getirebilmek için aynı analit, aynı organizasyonun farklı birimlerinde farklı ölçüm cihazları ile ölçülebilir. Böyle bir durumda, organizasyonun içindeki sayısız ve karmaşık sapma kaynakları ortaya çıkar. Bu yaygın ve karmaşık durumda, organizasyon uygulama bazında tüm birimleri/cihazları kapsayan temsili belirsizlik tahmini için prosedürler oluşturabilir. Bu prosedür, tercihen ölçümü hedeflenen numuneler ile matris yapısı da dahil olmak üzere aynı özellikleri taşıyan malzemeler kullanır. Varyans bileşen analizi, organizasyon içinde farklılıkların azaltılmasını sağlamak üzere takip çalışmalarının yapılmasına da olanak sağlayacak olan toplam belirsizliğe katkıda bulunan temel varyasyon nedenlerinin belirlenmesinde kullanılabilir.

Buna rağmen, birçok uygulamada sapmanın kabul edilebilirliği, metodun kesinliği, referans değer belirsizliği ve son kullanım için gereken doğruluk göz önünde bulundurularak, uygun referans malzemeler, analit eklenmiş malzemeler veya referans metotlara karşı hesaplanan toplam sapmalara dayandırılır. Bunun için istatistiksel anlamlılık testleri tavsiye edilmektedir [64, 65].



Şekil 5 – Ölçülen toplam sapma, metot sapması ve laboratuvar sapmasını içerir. Not: Burada laboratuvar ve metot sapması aynı yöndeymiş gibi gösterilmiştir. Gerçekte her zaman böyle olmaz.



## 6.6 Kesinlik

### 6.6.1 Tekrarlama

Tekrarlama, kesinlik ve sapma gibi metot performans özelliklerinin güvenilir bir biçimde tespiti için önemlidir. Metodun rutin kullanımı sırasında oluşabilecek tüm uygulama farklılıklarını yansıtmak için analiz tekrarı içeren deneyler tasarlanmalıdır. Hedef en düşük değişkenliğin değil, tipik değişkenliğin tespiti olmalıdır.

### 6.6.2 Kesinlik koşulları

Kesinlik, (ölçüm kesinliği) sonuçların birbirine ne kadar yakın olduğunun ölçüsüdür [7, 29]. Genellikle, sonuçların dağılımını tanımlayan istatistiksel parametreler, belirtilen koşullarda uygun bir malzeme ile gerçekleştirilen tekrar ölçümlerinden hesaplanan standart sapma (veya bağıl standart sapma) ile ifade edilir. “Özel koşulların” ne olduğuna karar vermek, ölçüm kesinliği tespitinde önemlidir - koşullar elde edilen ölçüm kesinliği tahmini türünü belirler.

“Ölçümün tekrarlanabilirliği” ve “ölçümün tekrar üretilebilirliği” elde edilebilecek iki farklı kesinlik ölçüsünü temsil eder. Standart haline getirilmiş metotların (örneğin ISO’dan) dokümantasyonu uygulanabildiği her durumda tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik verilerinin her ikisini de içerecektir.

Tekrarlanabilirlik, sonuçlar arasındaki en küçük varyasyonu vermesi beklenen, bir analistin, aynı cihazla kısa bir zaman aralığında gerçekleştirdiği ölçümlerin dağılımının ölçüsüdür.\*

Tekrar üretilebilirlik, sonuçlar arasındaki en yüksek varyasyonu vermesi beklenen laboratuvarlar arası sonuçların dağılımının ölçüsüdür.†

Bu iki uç nokta arasında “ara kesinlik”, tek bir laboratuvarda fakat tekrarlanabilirlik koşullarından daha değişken koşullarda yapılan ölçümlerin varyasyonudur.

\* Tekrarlanabilirlik bazen “çalışma içi”, “parti içi”, “değerlendirme içi” kesinlik olarak ifade edilir.

† Geçerli kılmada tekrar üretilebilirlik aynı metot kullanan laboratuvarlar arası varyasyonu ifade eder. Tekrar üretilebilirlik, ayrıca, laboratuvarlar arasında aynı niceliğin ölçüldüğü ancak değişik metotların kullanıldığı durumlardaki varyasyonu da ifade edebilir [7].

Her durumda koşullar tam olarak belirtilmelidir. Amaç, tek bir laboratuvarda rutin şartlarda oluşabilecek tüm varyasyon kaynaklarını (değişik analist, uzun zaman aralığı, değişik cihaz vb.) yansıtmak kesinlik tahminini elde etmektir.‡

### 6.6.2.1 Kesinlik tahminleri – genel görüşler

Kesinlik genel olarak analit derişimine bağlıdır ve ilgili aralık boyunca birden fazla derişim için belirlenmelidir. Bu aralık, (yasal sınır gibi) ilgili derişime ek olarak ölçüm aralığı sınırlarındaki derişimleri içerebilir. İlgili olduğunda, kesinlik ve analit derişimi arasındaki bağıntı tespit edilmelidir. Ölçülen derişimin algılama sınırının çok üstünde olduğu durumlarda, kesinliğin çoğunlukla analit derişimi ile orantılı olduğu görülür. Bu gibi durumlarda kesinliği, ilgili aralık boyunca yaklaşık olarak sabit olan bağıl standart sapma ile ifade etmek daha doğru olacaktır.

Nitel metotlarda kesinlik, standart sapma veya bağıl standart sapma olarak ifade edilemez, ancak doğru ve yanlış pozitif (ve negatif) oranları ile ifade edilebilir [55] (bkz. Bölüm 6.2.6).

Kesinliğin değerlendirilmesi, uygun bir malzeme ile yeterli sayıda tekrar ölçümün yapılmasını gerektirir. Malzemeler, matriks, analit derişimi, homojenlik ve kararlılık yönünden test numunesini temsil etmelidir, ancak SRM olması gerekmez. Aynı zamanda tekrarlar bağımsız olmalıdır. Örneğin, tüm ölçüm süreci, herhangi bir numune hazırlama basamağı da dahil, tekrar edilmelidir. Belirtilen en az tekrar sayısı değişik protokollerde farklılık gösterir, fakat yaygın olarak çalışmalarda kullanılan her bir malzeme için 6 ile 15 arası tekrar yapılır.

Az sayıda tekrar içeren veri setleri ile güvenilir bir standart sapma tahmininin zor olacağı unutulmamalıdır. Kabul edilebilirse, yeter sayıda serbestlik derecesi ile tahminler elde etmek için tekrar ölçümlü birkaç küçük ölçüm setinden hesaplanan değerler birleştirilebilir.

‡Ara kesinlik bazen “laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik”, “çalışmalar arası varyasyon”, “partiler arası değişkenlik” veya “deneyler arası değişkenlik” olarak ifade edilir.

Varyans analizi (ANOVA) kullanılarak incelenen belirli deneysel tasarımlar, uygun bir serbestlik derecesi ile tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik tahmini için etkin bir yoldur (bu yaklaşımın detaylı açıklaması için bkz. Bölüm 6.6.4 ve Ek C). Kesinliğin değerlendirilmesine yönelik deneyler hakkında bilgi için Hızlı Referans 7'ye bakınız.

### 6.6.3 Kesinlik sınırları

Standart sapmadan,  $s$ , “kesinlik sınırı” hesaplamak kullanışlıdır [29, 48]. Bu, analistin belirli koşullar altında bir numunenin tekrarlanan analizlerinden elde edilen sonuçları arasında belirli bir güvenilirlik seviyesinde önemli bir fark olup olmadığına dair karar vermesini sağlar. Tekrarlanabilirlik sınırı ( $r$ ) aşağıdaki şekilde hesaplanır:

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

Burada  $\sqrt{2}$  çarpanı iki ölçüm arasındaki farkı ifade eder,  $t$  belirli bir serbestlik derecesi için ( $s_r$  tahmini ile ilişkili olan) ve gereken güvenilirlik seviyesinde çift kuyruklu Student  $t$ -değeridir. Nispeten yüksek sayılabilecek serbestlik dereceleri için, % 95 güvenilirlik seviyesinde  $t \approx 2$ , böylece tekrarlanabilirlik sınırı yaklaşık olarak aşağıda verildiği gibidir:

$$r = 2,8 \times s_r \quad (\text{Eşitlik 6})$$

Ara kesinlik sınırı ve tekrar üretilebilirlik sınırı ( $R$ ), benzer şekilde,  $s_r$ 'nin sırasıyla  $s_I$  ve  $s_R$  ile değiştirilmesiyle hesaplanır.

Standartlaştırılmış metotların dokümantasyonu, (örneğin, ISO'dan) uygulanabilir olduğu durumlarda, normal olarak tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sınırı verilerinin her ikisini de içerir.

### 6.6.4 Tekrarlanabilirlik ve ara kesinliğin eş zamanlı belirlenmesi

Tekrarlanabilirlik ve ara kesinliğin eş zamanlı olarak belirlenmesine yönelik yaklaşımlar ISO 5725-3 standardında tanımlanmıştır [29]. Ek olarak, “*Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis*” kılavuzuna [12] dayanan bir tasarım, tek çalışma ile tekrarlanabilirlik ve ara kesinliğin belirlenmesi olanağını sunar. Seçilen test malzemesinin alt numuneleri, tekrarlanabilirlik koşullarında, çalışmalar arasında en yüksek değişkenliği sağlayacak koşullarda (farklı günler, farklı analistler, farklı cihazlar vb.) birden fazla çalışma ile tekrarlı olarak analiz edilir. Tek-yönlü ANOVA [5,6] ile tekrarlanabilirlik, grup-içi kesinlik olarak, ara kesinlik ise grup-içi kesinlik ve gruplar-arası kesinlik değerlerinin karelerinin toplamının karekökünden elde edilir. Böyle bir tasarım, tekrarlanabilirlik ve gruplar-arası kesinliğin tahmini için yeterli serbestlik derecesinin elde edilmesine yönelik etkin bir yol sunabilir. Örneğin, 2 tekrarlı 8 grup, tekrarlanabilirlik ve gruplar arası kesinlik için sırasıyla 8 ve 7 serbestlik dereceleri sağlar. Daha fazla bilgi için Ek-C'ye bakınız.

## Hızlı Referans 7 – Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar üretilebilirlik

Ne yapılmalı	Kaç kere	Veriden ne hesaplanmalı/tespit edilmeli	Açıklamalar
RM'leri, artan test numunelerini veya çalışma aralığı boyunca farklı derişimlerde analit eklenmiş numune boşlarını ölçünüz. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik, farklı çalışmalarla (bkz. a ve b) veya tek bir çalışma ile eş zamanlı olarak (bkz. c) belirlenebilir.			
a) Aynı analist ve cihaz, aynı laboratuvar, kısa zaman aralığı	Her malzeme için 6-15 tekrar	Her bir malzeme için sonuçların standart sapmasını ( $s$ ) belirleyiniz.	Her bir malzeme için tekrarlanabilirlik standart sapmasını $s_r$ tahmin eder <sup>a</sup> .
b) Farklı analist ve cihaz, aynı laboratuvar, geniş zaman aralığı.	Her malzeme için 6-15 tekrar	Her bir malzeme için sonuçların standart sapmasını ( $s$ ) belirleyiniz.	Her bir malzeme için ara kesinlik standart sapmasını $s_I$ tahmin eder.
c) Farklı analist ve cihaz, aynı laboratuvar, geniş zaman aralığı.	Tekrarlanabilirlik koşulları altında her bir malzeme için farklı günler/cihazlarla 6-15 grup çift ölçüm <sup>b</sup> .	Her bir malzeme için ANOVA sonuçlarından tekrarlanabilirlik standart sapmasını hesaplayınız  Her bir malzeme için ANOVA sonuçlarından gruplar-arası standart sapmayı hesaplayınız ve tekrarlanabilirlik standart sapması ile birleştiriniz.	Her bir malzeme için tekrarlanabilirlik standart sapmasını $s_r$ tahmin eder.  Her bir malzeme için ara kesinlik standart sapmasını $s_I$ tahmin eder.
d) Farklı analist ve cihaz, farklı laboratuvar, geniş zaman aralığı.	Tekrarlanabilirlik koşulları altında her bir malzeme için farklı laboratuvarlarda 6-15 grup çift ölçüm <sup>b</sup> .	Her bir malzeme için ANOVA sonuçlarından tekrarlanabilirlik standart sapmasını hesaplayınız.  Her bir malzeme için ANOVA sonuçlarından laboratuvarlar-arası standart sapmayı hesaplayınız ve tekrarlanabilirlik standart sapması ile birleştiriniz.	Her bir malzeme için tekrarlanabilirlik standart sapmasını $s_r$ tahmin eder.  Her bir malzeme için tekrar üretilebilirlik standart sapmasını $s_R$ tahmin eder. Bu, özel bir laboratuvarlar arası karşılaştırma gerektirir ("ortaklaşa deneme").
<sup>a</sup> Tekrarlanabilirlik standart sapması birden fazla küçük veri setinin birleştirilmesi ile de tahmin edilebilir, örneğin; farklı günlerde, $n = 2$ <sup>b</sup> Her bir grup içinde iki paralel ölçüm, grup-ici ve gruplar-arası standart sapmanın tahmini için dengeli serbestlik derecesi sayısı sağlayacaktır. Her bir grup için tekrar sayısının artırılması tekrarlanabilirliğin tahmini ile ilişkili serbestlik derecesi sayısını artıracaktır.			

## 6.7 Ölçüm belirsizliği

Ölçüm belirsizliğinin tam olarak tartışılması bu Kılavuz'un kapsamı dışındadır, detaylı bilgi başka kaynaklarda bulunabilir [21, 22]. Belirsizlik, ölçülen büyüklük ile anlamlı olarak ilişkilendirilebilen değerlerin dağılımını ifade eden ölçüm sonucu ile ilişkili bir aralıktır. Belirsizlik tahmini, sonuca *etkisi olduğu kabul edilen tüm etkenleri* hesaba katmalıdır. Her bir etki ile ilişkili belirsizlikler, iyi kurgulanmış prosedürlere göre birleştirilir.

Kimyasal ölçüm sonuçlarının belirsizliğinin tahmini için birkaç yaklaşım tanımlanmıştır [22, 66, 67, 68]. Bu yaklaşımlar aşağıdakileri dikkate alır:

- bir bütün olarak, metodun uzun dönem kesinliği (yani, ara kesinlik veya tekrar üretilebilirlik);
- Sapma ve sapma ölçümlerindeki istatistiksel belirsizliğin de dahil edildiği sapmanın belirsizliği ve referans değerdeki belirsizlik [69, 70, 71, 72, 73];
- ekipman kalibrasyonu. Teraziler, termometreler, pipetler ve cam malzemeler gibi ekipmanların kalibrasyonlarından gelen belirsizlikler, tüm sürece ait kesinlik ve sapmanın belirsizliği ile kıyaslandığında çoğunlukla ihmal edilebilecek kadar küçüktür. Bu doğrulanabilirse kalibrasyon belirsizliklerinin belirsizlik tahminine dahil edilmesine gerek yoktur;
- yukarıdakilere ek olarak katkı sağlayan diğer anlamlı etkiler. Örneğin, metodun izin verdiği sıcaklık veya zaman aralıkları, geçerli kılma çalışmalarında tam olarak incelenmemiş olabilir ve bunların etkilerinin eklenmesi gerekebilir. Bu tür etkiler, sağlık çalışmaları (bkz. Bölüm 6.8) veya adı geçen etkinin sonuca katkısını ortaya çıkarabilecek çalışmalar ile tespit edilebilir.

Bireysel etkilerin katkısı önemli olduğunda, örneğin kalibrasyon laboratuvarlarında, bireysel etkilerden kaynaklanan her bir katkının ayrı ayrı dikkate alınması gerekli olacaktır.

Ortak çalışma kapsamı dışında kalan etkilerin de dikkate alınması koşulu ile ilgili malzemeler kullanılarak ölçülen laboratuvar sapmasının tekrar üretilebilirlik standart sapmasından küçük olması, laboratuvar içi tekrarlanabilirliğin standart metod tekrarlanabilirliği ile kıyaslanabilir olması ve laboratuvar ara kesinliğinin yayınlanmış tekrar üretilebilirlik değerinden büyük olmaması durumunda tekrar üretilebilirlik standart sapması, birleşik standart belirsizliğin anlamlı bir tahminini oluşturur [67].

## 6.8 Sağlık

### 6.8.1 Tanım

Bir analitik prosedürün "sağlamlığı" ("dayanıklılık") "metot parametrelerinde yapılan küçük fakat planlı değişikliklerden etkilenmeden kalma kapasitesinin ölçüsüdür. Sağlık metodunun normal kullanım sırasındaki güvenilirliğinin bir göstergesini sağlar" [13].

### 6.8.2 Sağlık testi

Her metotta, yeterince dikkatle yapılmadığında, metod performansı üzerine önemli etki yapacak ve hatta metodun çalışmamasına neden olabilecek belirli aşamalar vardır. Bu aşamalar, genellikle metod geliştirilmesinin bir parçası olarak belirlenmeli ve mümkünse metod performansı üzerindeki etkileri "sağlık testi" ("dayanıklılık testi") yapılarak incelenmelidir. AOAC bu terimi tanımlamış ve böyle bir testin Plackett-Burman deneysel tasarımı kullanılarak nasıl gerçekleştirileceği ile ilgili bir tekniği açıklamıştır [74].

"Sağlık testi" metod üzerinde planlı değişiklikler yapmayı ve bu değişikliklerin performans üzerindeki etkilerini araştırmayı içerir.\* Böylece metotta en önemli etkiye sahip değişkenleri tanımlamak ve metodu kullanırken bunların dikkatlice kontrol altına alındığından emin olmak mümkün olur. Metodun biraz daha detaylandırılması gerektiğinde, metodun kritik olduğu bilinen bu kısımlarına odaklanarak geliştirmeler yapılabilir.

Bir prosedürün sağlamlığı, laboratuvarında geliştirilen metotlar, bilimsel bir yayından uyarlanan metotlar ve standardizasyon kuruluşlarının yayınladığı kapsamın dışında kullanılan metotlar için çalışmalıdır. Standardizasyon kurumları tarafından yayınlanan metotlar, metod kapsamı içinde kullanıldığında, sağlık, sıklıkla standardizasyon sürecinin bir parçası olarak çalışılmış olacaktır. Bu nedenle, sağlık çalışması tekli-laboratuvar seviyesinde çoğu zaman gerekmez. Sağlık hakkındaki bilgi, kritik deneysel parametrelerin verilen tolerans sınırları şeklinde laboratuvar prosedüründe belirtilmelidir (bkz. Örnek 5 ve Hızlı Referans 8).

\* Genellikle, ölçülen büyüklük üzerindeki etki incelenir ancak, bir alternatif de deney parametresi üzerindeki etkinin incelenmesidir, örneğin, bir kromatogramdaki pik ayrımı.

**Örnek 5-** ISO 11732'den alıntılar [58]. Talimatlar, bazı deneysel parametrelerin kritikliğini gösterir.

- $\text{NH}_4\text{Cl}$  sabit kütleye kadar  $105 \pm 2$  °C'de kurutuldu.
- Verilen miktarlar düşürülebilir (ör: onda bir oranda).
- Plastik (polietilen) şişede, oda sıcaklığında saklandığında çözelti yaklaşık 1 ay kararlıdır.
- Çözeltinin absorbanı 0,3 – 0,5 arasında olmalıdır.
- Çözeltideki gazı uzaklaştırınız ve saflaştırınız . . . , reaktif kabına doldurunuz ve en az 2 saat bekletiniz.
- Bu çözelti buzdolabında en fazla bir hafta saklanabilir.
- Numuneleri almak için cam, polialkenler veya politetrafloroetilen (PTFE) kaplar uygundur.
- İstisnai durumlarda, numuneler asitlendirmeden sonra membrane filtre ile süzülürse iki haftaya kadar saklanabilir.

### Hızlı referans 8 – Sağlamlık

Ne yapılmalı	Kaç kere	Veriden ne hesaplanmalı/tespit edilmeli	Açıklamalar
Metot performansı üzerine önemli bir etkisi olan değişkenleri belirleyiniz.  Değişkenlerin sistematik olarak değişiminin ölçüm sonuçları üzerindeki etkilerini izlemek için deneyler tasarlayınız (test numuneleri veya RM analizi).	Deneysel tasarımlar kullanarak en etkin biçimde değerlendirilir. Örneğin; Plackett-Burman deney tasarımı kullanarak, 8 deney 7 parametre çalışılabilir [74].	Her bir koşul değişikliğinin ölçüm sonuçlarına etkisini belirleyiniz.  Değişkenleri, metot performansı üzerindeki en yüksek etkiye göre sıralayınız.  Gözlenen etkilerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına karar vermek için anlamlılık testi yapınız.	Kritik değişkenleri kontrol etmek için kalite kontrol tasarlayınız veya metodu değiştiriniz, örneğin, standart operasyon prosedüründe uygun tolerans sınırları vererek.



## 7 Geçerli kılınmış metotların kullanımı

İster başka bir laboratuvarda geliştirilmiş bir metot, ister yayınlanmış bir metot, isterse standart veya mevzuatla ilgili bir metot olsun, başkasının metodu kullanılırken, değerlendirilmesi gereken iki konu vardır.

Birincisi, mevcut geçerli kılma verisi talep edilen amaca uygun mu yoksa ilave geçerli kılma gerekli midir? Metot performansı ile ilgili sağlanacak bilgilerin miktarına ek olarak, geçerli kılma veri kaynaklarının güvenilirliği de dikkate alınması gereken bir konudur. Ortak çalışmalardan veya tanınmış standardizasyon organizasyonlarından elde edilen veriler, genel olarak güvenilir kabul edilirken, bilimsel literatürde yayınlanan veya ekipman/reaktif üreticileri tarafından sağlanan veriler daha az güvenilir kabul edilir. İkincisi, eğer mevcut geçerli kılma verileri yeterli ise, laboratuvar metotta belirtilen performans özelliklerini doğrulayabiliyor mu? (Bkz. Bölüm 2.2) Mevcut ekipman ve imkanlar yeterli mi? Eğer metot, tüm aşırı uygulama koşullarını kapsayacak şekilde kapsamlı testler ile geçerli kılınmışsa, yeni bir uzman analist mevcut performans verileri dahilinde başarılı bir şekilde çalışabilecektir. Fakat bu, her zaman en azından kontrol edilmelidir. Standart metot kapsamı dahilinde kullanıldığı müddetçe, analistin verilen tekrarlanabilirliği sağlama yeteneğinin test edilmesi ve sapmanın kontrolü genellikle yeterlidir. Bu aşağıda daha detaylı verilmiştir.

Standartlaştırılmış metotlar genellikle bir çeşit ortak çalışma ile üretilir ve bunları üreten standardizasyon kurumları, geçerli kılma çalışmasının doğru şekilde tasarlanması, uygulanması ve değerlendirilmesini garanti edecek istatistik uzmanlarına sahiptir. ISO 5725 [29] standardı, metot performansına ait güvenilir bilginin sağlanması için, laboratuvarlar arası karşılaştırmaların dayanak oluşturacağı bir model tanımlar. Bu model gittikçe artarak uygulanmaktadır, ancak tüm standart metotlara uygulanmamaktadır. Tüm standart metotların uygun şekilde geçerli kılındığını varsaymak tehlikeli olabilir ve metot performansı hakkında verilen bilgilerin yeterli olup olmadığını kontrol etmek analistin sorumluluğundadır.

Benzer şekilde, genellikle kim kullanırsa kullansın standart metotların doğrudan kullanılabilmesi ve yayınlanan performans

verisinin doğrudan elde edilebileceği varsayılır. Bu güvenli bir varsayım değildir. Metodun ilgili olduğu kimya alanına yakın veya bu alanda uzman kişilerin bile tam olarak yetkin olmak adına deneyi uygulamaları gerekir.

Geçerli kılınmış metotlar (veya herhangi bir metodu) kullanırken, kabul edilebilir performansla ulaşıldığından emin olmak için aşağıdaki kurallar önerilir.

1. Birincisi, analist ilk kullanımdan önce, yeni metoda tam olarak aşina olmalıdır. İdeal olarak, önce, uygulamada uzman olan biri tarafından, metot analiste gösterilecektir. Sonra analist, metodu, başlangıçta yakın gözetim altında kullanır. Gözetim seviyesi, analist tek başına çalışmakta ustalaştıkça kademeli olarak azaltılır. Örneğin, analist metotta belirtilen tekrarlanabilirlik ve algılama sınırı gibi parametrelerin performans seviyelerine ulaştığında, metot için uzmanlık kazanmış olur. Bu, birinin yeni bir metot kullanmak üzere eğitilmesinin tipik bir yoludur ve laboratuvar eğitim prosedürleri genellikle eğitim sürecinde belirli aralıklarla yetkinliği objektif ölçütler ile değerlendirecek şekilde tasarlanır. Her durumda, analist ara verilebilecek veya aralıksız çalışma gerektirecek noktaları tespit edecek şekilde farklı aşamaları hafızasında canlandırmalı ve ölçümün dayandığı teoriye aşina olmalıdır. Hangi basamaklarda reaktifler hazırlanmalı, bir kere hazırlandıktan sonra ne kadar kararlılar? Önceden mi hazırlanmalılar? Birden çok numune hazırlamak için saatler harcadıktan sonra, numuneler belki de bozunurken reaktiflerden birinin karmaşık bir sentez gerektirdiğini fark etmek çok rastlanan bir tuzaktır.
2. İkincisi, bir kerede kaç numunenin güvenilir bir şekilde çalışabileceğinin değerlendirilmesi gerekir. Birkaç numunenin doğru analizi, çok sayıda numunenin analizi ve birçoğunun tekrarından daha iyidir.
3. Son olarak, işe başlamadan önce metot için gereken her şeyin var olduğuna emin olunmalıdır. Bu, doğru cihaz, reaktif ve

standartların (hazırlıkları tamamlanarak) bir araya getirilmesi ve belki de çeker ocakta yer ayrılmasını içerir.

Eğer başkasının geçerli kıldığı bir metodu uygulamak veya değiştirmek gerekiyorsa,

uygun bir tekrar geçerli kılma gerekecektir. Doğalarına bağlı olarak yapılan değişiklikler, orijinal geçerli kılma verisini alakasız kılabilir.



## 8 Geçerli kılma verilerinin kalite kontrol tasarımında kullanımı

### 8.1 Giriş

“Kalite güvence” (QA) ve “kalite kontrol” (QC), anlamları, içeriğe bağlı olarak değişen terimlerdir. ISO'ya göre, kalite kontrol, gerekliliklerin tam olarak sağlanmasında kullanılan bağımsız ölçüleri ifade ederken, kalite güvence, kalite gerekliliklerinin yerine getirilmesinde güven sağlamak için laboratuvar tarafından yapılan faaliyetlere işaret etmektedir [9].

Metodun geçerli kılınması, metot kontrol altındayken metotların rutin kullanımlarında karşılaşılan kabiliyetleri ve sınırları hakkında fikir verir. Metodun kontrol altında olduğunun yani beklenen şekilde çalıştığına doğrulanması için belirli kontrollerin yapılması gerekir. Geçerli kılma aşamasında metot, büyük oranda, içeriği bilinen numunelere uygulanır. Metot rutin kullanımdayken içeriği bilinmeyen numuneler için kullanılır. Kararlı bir test numunesinin ölçümüne devam edilerek uygun bir iç kalite kontrol çalışması gerçekleştirilebilir; böylece, analistin, analiz edilen numunenin farklılığından kaynaklanan değişik cevapların çeşitliliğini doğru bir şekilde yansıtmayı yansıtmadığına veya metodun performansında beklenmeyen ve istenmeyen değişikliklerin olup olmadığına karar vermesine olanak sağlar. Pratikte bu bilinen numuneler, her parti numuneyle birlikte kalite kontrol sürecinin parçası olarak ölçülmelidir. Yapılan kontroller analizin doğasına, önemine, sıklığına, parti büyüklüğüne, otomasyon derecesine, testin zorluğuna, geliştirme ve geçerli kılma süreci sırasında çıkarılan derslere bağlı olarak uygulanacaktır. Kalite kontrol hem laboratuvar içinde (iç) hem de laboratuvar ve diğer laboratuvarlar arasında (dış) uygulanarak çeşitli formlar alabilir.

### 8.2 İç kalite kontrol

İç kalite kontrol, sonuçların yayınlanacak kadar güvenilir olup olmadığına karar vermek amacıyla uygulamaların ve ölçüm sonuçlarının sürekli izlenmesi için laboratuvar personelinin gerçekleştirdiği prosedürler anlamına gelir [18, 75]. Bu, kararlı test numunelerinin, boş numunelerin, standart çözeltiler veya bunlara benzer kalibrasyon için kullanılan malzemeler, standart eklenmiş numuneler, gizli numuneler ve kalite kontrol numunelerinin tekrarlı analizlerini içerir [76]. QC sonuçlarının izlenmesi için kontrol grafiklerinin kullanımı önerilir [76, 77]. Uygulanan QC, ispatı mümkün olacak şekilde

sonuçların geçerliliğinden emin olmak için yeterli olmalıdır. Süreç içindeki farklı varyasyon türlerinin izlenmesi için farklı kalite kontrol çeşitleri kullanılabilir. Analitik parti içerisinde aralıklı olarak analiz edilen kalite kontrol numuneleri, sistemdeki kaymayı ortaya çıkaracaktır; farklı türde boş numune kullanımı, analitten gelenlerin yanısıra cihaz sinyallerine nelerin katkıda bulunduğunu ortaya çıkaracaktır; tekrarlı analizler tekrarlanabilirlik kontrolü sağlar.

Kalite kontrol numuneleri, belirli zaman süresince (metodun performansındaki rastgele değişkenliğe tabi olsa da) aynı sonucu verecek şekilde kararlı ve homojen ve zaman içinde analizi tekrar yapmak için yeterli miktarda bulunabilen, kendine özgü numunelerdir. Bu süre boyunca metodun ara kesinliği, genellikle kalite kontrol numunesinden elde edilen sonuçların kontrol grafiği üzerine işlenerek izlenmesi ile kontrol edilebilir. Grafik üzerindeki değerler için sınırlar belirlenir (geleneksel olarak “uyarı sınırı” ortalama değer etrafında  $\pm 2s$  ve “eylem sınırı” ortalama değer etrafında  $\pm 3s$  olarak belirlenir). İşlenen kalite kontrol değerleri önceden belirlenen sınırlara ve belirli kurallara uyduğu müddetçe kalite kontrol yeterli varsayılır. Kalite kontrol numunesinin değeri kabul edilir olduğu sürece, aynı partideki numune sonuçları da güvenilir kabul edilir. Bir problemle karşılaşıldığında numunelerin güvenilir olmayan analizlerine olabildiğince az çaba harcanması için kalite kontrol numunesi ile elde edilen sonucun kabul edilebilirliği, analitik süreç içinde olabildiğince erken doğrulanmalıdır.

Metodun geçerli kılınması çalışmalarını sırasında farklı kesinlik ölçülerinin ilk tahminleri elde edilir. Kontrol grafiği üzerinde gerçekçi sınırların oluşturulması için ölçümler metodun gerçek günlük kullanım amacına uygun olmalıdır. Böylece, geçerli kılma süresince yapılan ölçümler, farklı analistler, laboratuvar sıcaklığındaki değişimler gibi çalışma koşullarındaki olası tüm değişimleri yansıtmalıdır. Eğer bu şekilde yapılmaz ise standart sapma gerçekçi olmayacak kadar küçük olur, dolayısıyla, grafiklerdeki sınırlar normal kullanıma uygun olmayacaktır. Bu nedenle, genel olarak bir yıldan sonra veya yeterli sayıda sonuç toplandığında, belirlenen sınırların yeniden değerlendirilmesi tavsiye edilir [76].

Farklı boş tipleri kullanımı, analite ait olmayan yanıt katkılarını gidermek üzere, analistin analit için yapılan hesaplamaları uygun şekilde düzelttiğinden emin olmasını sağlar. Rutin test numunelerinin tekrarlı analizleri, analitik süreçteki sonuçları olumsuz etkileyebilecek kesinlik değişimini kontrol etme olanağı sağlar [78]. Tekrarlar, tekrarlanabilirliği kontrol etmek için bir partinin içinde peşpeşe olabilir.

Gizli numune analizleri, tekrarlı analizlerin etkin bir şekli olup, kesinliğin kontrolünü sağlar. Bu, analiz serisine muhtemelen laboratuvar yöneticisi tarafından dahil edilen, test numuneleri paralelleri içerir ve analist normalde test numunelerinin ne olduğundan veya tekrar numunesi olup olmadığından habersiz olduğundan bu isimle anılır. Bu şekilde analist, bazı sonuçların birbirleriyle ilişkili olduğuna dair bir önyargıya sahip olmaz.

Analitik parti içine belirli aralıklarla yerleştirilen kalibrasyon için kullanılan standartlar veya bunlara benzeyen malzemeler, analitik sürecin analite verdiği yanıtın kararlılığının kontrol edilmesini sağlar.

Metodun güvenilirliği, işin ne kadar kritik olduğu ve ilk seferde çalışmadığında analizlerin tekrarının uygulanabilirliğini dikkate alıp yapılan risk değerlendirmesini temel alarak uygun kalite kontrol seviyesini belirlemek ve gerekçelendirmek laboratuvar yönetiminin sorumluluğundadır. Rutin analizlerde iç kalite kontrol seviyesinin % 5 olması çoğunlukla kabul edilir, yani analiz edilen her 20 numunede 1 tanesi QC numunesi olmalıdır. Bununla birlikte, sağlamlığı onaylanmış ve çok numune girişi olan rutin metotlarda daha düşük kalite kontrol sınırları da makul sayılabilir. Daha karmaşık prosedürlerde % 20 seviyesi sık karşılaşılr, hatta özel durumlarda % 50 bile gerekli olabilir. Sıkca yapılmayan analizlerde, her kulanımda tüm sistemin geçerli kılınması gerçekleştirilmelidir. Bu genellikle sertifikalandırılmış veya bilinen miktarda analit içeren referans malzeme kullanımını takiben numunenin ve standart

eklenmiş (bilinen miktarda analitin istemli olarak eklendiği) numunenin tekrarlı analizini içerir. Sıklıkla yapılan analizler, kontrol grafikleri ve kontrol numuneleri içeren sistematik kalite kontrol prosedürlerine tabi tutulmalıdırlar.

### 8.3 Dış kalite kontrol

Dış kalite değerlendirme (DKD) olarak da bilinen yeterlilik testlerine (YT) düzenli katılım, bir laboratuvarın kendi performansını, hem kendi gereksinimlerine hem de diğer laboratuvarlara göre izlemesini sağlayan bir yoldur. YT laboratuvarlar arası varyasyon (tekrar üretilebilirlik) ve sistematik hataların (sapma) belirlenmesine yardımcı olur.

YT çevrimleri ve diğer laboratuvarlar arası karşılaştırma çeşitleri, analitik sonuçların ulusal ve uluslararası seviyedeki denkliğinin izlenmesi için önemli bir araç olarak kabul edilir. Akreditasyon kurumları bu çevrimlerin faydalarını önemser ve laboratuvarları, kendi kalite yönetimlerinin önemli bir parçası olarak YT/DKD'ye katılımları konusunda teşvik eder [79]. YT sonuçlarını kalite kontrol prosedürlerinin bir parçası olarak izlemek ve gerektiğinde önlem almak önemlidir.

Belirli durumlarda, akreditasyon kurumları özel bir YT programına katılımı akreditasyon şartı olarak belirleyebilir. YT'nin değeri, elbette ki çevrimler kadar iyi olacaktır. YT sağlayıcılarının yeterliliği için şartlar ISO/IEC 17043 standardında tanımlanmıştır [80]. YT programlarının nasıl seçileceği, kullanılacağı ve yorumlanacağı hususundaki pratik bilgiler Eurachem Kılavuz'unda açıklanmıştır [81]. Birçok çevrim hakkında bilgiye EPTIS veritabanından ([www.eptis.bam.de](http://www.eptis.bam.de)) ulaşılabilir. Ancak, ani ihtiyaç duyulan analiz alanları veya özellikle nadir uygulamalar için tam anlamıyla uygun programlar bulunamayabilir. Bu ve diğer kısıtlamalar, akredite laboratuvarların YT'lere katılım konusunda bir strateji oluşturmasının gerekli kılındığı yeni bir kılavuzda ele alınmıştır [82].

## 9 Geçerli kılınan metotların dokümantasyonu

### 9.1 Taslaktan son sürüme

Geçerli kılmaya konu olan metot, geçerli kılma raporu onaylanıncaya kadar taslak olarak kabul edilmesi gereken yazılı bir prosedür kullanılarak gerçekleştirilir. Geçerli kılma süreci tamamlandığında, metodun açık ve anlaşılır bir şekilde uygulanabilmesi için analitik prosedürün dokümantasyonu önemlidir. Bunun için birçok neden vardır.

- Metodun geçerli kılınması sürecinde yapılan birçok değerlendirme, kullanım sırasında her seferinde metodun aynı şekilde uygulanacağını varsayar. Aksi halde, metodun gerçek performansı, geçerli kılma sırasında tahmin edilen performansına uymayacaktır. Bu nedenle, dokümantasyon, metodun kapsamını tesadüfi değişikliklere karşı sınırlamalıdır.
- Uygun dokümantasyon, denetim ve değerlendirme amaçları ve hatta belki de sözleşmeler veya yasalar nedeniyle de gereklidir.
- Metodun uygun dokümantasyonu, her defasında tutarlı olarak uygulanmasını güvence altına almaya yardımcı olacaktır. Dokümantasyon kalitesinin, metodun ne kadar tutarlı uygulandığına doğrudan etkisi olduğu için, kesinlik ve ölçüm belirsizliğini etkileme olasılığı vardır. Aslında, yetersiz biçimde dokümente edilen metodun belirsizliği, metodu kullanışsız kılacak kadar büyük olabilir. Dokümantasyondaki her hangi bir sıradışı durum, makul bir belirsizlik tahmini elde edilmeden önce çözümlenmelidir.

### 9.2 Tavsiyeler

#### 9.2.1 Talimatların kontrolü

Bir metodun uygun bir şekilde dokümantasyonu kolay bir iş değildir. Bilgiler kabaca kullanıcıların ihtiyaç duyacağı sıra ile görünmelidir. Metodun uygulanışını, herkesin, metodu geliştiren ve dokümente eden kişi ile aynı ölçüde anlayabileceğini varsaymak genel bir tuzaktır. Varsayılan bu bilgi tehlikeli olabilir. Dokümantasyonu test etmenin kolay bir yolu, metodun, tamamen dokümanda tarif edildiği gibi uzman bir analist tarafından uygulanmasıdır. Eğer bu hedeflenen karşılaşırsa, dokümente edilen metot, çeşitli analistler tarafından iyi bir şekilde kullanılabilir ve tutarlı sonuçlar sağlayacaktır. Aksi halde, prosedürü daha detaylı tanımlamak

ve karışıklıkları giderecek şekilde tekrar yazmak gerekir.

#### 9.2.2 Standartlardaki tavsiyeler

Birçok standart, dokümente edilirken bir metodun ne tür bilgiler içermesi gerektiğine dair kılavuzluk etmektedir. Kimyacıların bakış açısından, muhtemelen en faydalı olan farklı türde kimyasal analiz metotlarının dokümantasyonunun açıklandığı ISO 78 serisidir (standardizasyon kurumları her yıl çok sayıda metot üretir, geçerli kılar, dokümente eder, bunun için mümkün olduğunca tutarlı bir yaklaşıma ihtiyaç duyar ve prensipte bu standartları kendi teknik komitelerinin yararına olacak şekilde üretir). ISO 78-2 [83] genel kimyasal metotların dokümantasyonu üzerine tavsiyelerde bulunur. Bu standart temel alınarak hazırlanmış bir plan Ek A'da verilmiştir. Standartlar, sunulacak bilgi hakkında mantıksal sıra ile başlıklar önerir ve her bir başlık altında verilmesi gereken bilgiler hakkında tavsiyelerde bulunur. Bu standartları kullanırken, okuyucu yaklaşımın esnekliği ve tutarlılık arasındaki denge ihtiyacına dikkat etmelidir. Bütün metotların aynı doküman formatına sahip olması arzu edilirken, tüm metotlar aynı seviyede detay garanti etmez ve sıklıkla dokümantasyonda tavsiye edilen bazı bölümlerin çıkarılması uygun olacaktır.

#### 9.2.3 Doküman kontrolü

Laboratuvar kendi metotlarını dokümente ederken, "kurum içi formatın" geliştirilmesi daha faydalı olacaktır. Bu şekilde, ilgili bilginin mantıken kolay kullanılacak şekilde sunulmasının yanı sıra, dokümantasyon yükünün birden fazla yazara dağıtılması sağlanmış olur. Birden fazla yazar tarafından oluşturulan taslaklar, tek bir uzman kullanılarak tutarlılık bakımından kontrol edilebilir.

Dokümente edilmiş metotlar laboratuvarın kalite yönetim sisteminin önemli bir parçasını oluşturur ve uygun seviyede doküman kontrolüne tabi tutulmalıdır. Bunun amacı, sadece kullanıma uygun olduğu onaylanan metot ve prosedürlerin gerçekte kullanılmasını sağlamaktır. Bundan dolayı, dokümantasyon sürecinin bir parçası olarak, metotlar kullanıcıya metodun yetkin olup olmadığı ve tam olup olmadığı konusunda karar vermesini sağlayacak bilgiyi taşınmalıdır. Metodun revizyon numarası ve tarihi; yazar; metodun kaç kopyası olduğu; kopyalama kısıtları gibi diğer bilgiler bulunmalıdır.

Zaman zaman metotlar güncelleme gerektirebilir. Örneğin, prosedürü destekleyen teknoloji iyileştirilebilir. Doküman kontrolü, yürürlükten kaldırılmış metodun düzgün bir şekilde geri çekilmesini ve gözden geçirilmiş metotların uygulamaya konmasını sağlar.

Günümüzde doküman kontrolü, özel yazılımlar kullanılarak oldukça basitleştirilmiştir. Değişiklikler sadece yetkilendirilmiş kişiler tarafından yapılmalıdır. Bu, ilgili dosyaların yaygın olarak “okuma izni” ve sınırlı olarak da “yazma” izninin verilebildiği yazılımla kontrol edilebilir.

## 10 Sonuçların hesaplanması ve raporlanması için geçerli kılma verilerinin ifade ettikleri

Analistin, geçerli kılınmış metodu kullanarak numunelerin analizi sırasında elde ettiği verileri, müşteri probleminin çözümüne doğrudan katkı sağlayacak sonuçlara dönüştürebilmesi önemlidir. Geçerli kılma çalışmaları sırasında elde edilen performans özelliklerinin bunu gerçekleştirmeye katkısı olacaktır. Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar üretilebilirlik verileri analiz edilen numuneler arasında anlamlı bir farkın olup olmadığını saptamak için kullanılabilir. Geçerli kılma verilerine dayanan kalite kontrol çalışmaları, metodun kontrol altında olduğu ve anlamlı sonuçlar üretebildiğini onaylamak için kullanılabilir. Ölçüm belirsizliğinin tahmini, kabul edilebilir bir güvenilirlik seviyesinde sonucun bir değerler aralığı olarak ifade edilebilmesini sağlar.

Analistin, sonuçların geçerliliğini destekleyen geçerli kılma verilerine erişimi olması önemlidir. Bu bilgilerin müşterilere iletilip ileilmeyeceği ayrı bir konudur. Çoğunlukla müşteri verilerin önemini takdir edecek teknik yeterliliğe sahip olmayacaktır. Bu gibi durumlarda verilerin sadece talep edildiğinde sunulması daha güvenlidir.

Metotun geçerli kılınması, değişkenlik ve ölçüm belirsizliği gibi konular, yasal veya adli durumlarda dikkatle incelenmelidir. Ölçümlerdeki belirsizliğin varlığının farkında olmak ve bu belirsizlik bilgisi ışığında verilen kararları savunmaya hazır olmak iyi olabilir.

Numunenin alındığı orijinal partinin, bir spesifikasyona veya sınırlamaya uygun olup olmadığına karar vermek için, analitik sonucun belirsizliği ile birlikte kullanımına dikkat etmek gerekir [84]. Karar verme sürecine destek olmak için analistin teknik öneriler sağlaması gerekse bile, böyle bir karar analistin sorumluluğu olmayabilir.

Sonuçlar raporlanırken, analist, tespit edilen sapmanın düzeltilmesi veya varlığı belirtilerek sonuçların düzeltilmeden raporlanması hakkında karar vermelidir.

Sonuçlar “tespit edilmedi” şeklinde raporlanırken dikkatli olunmalıdır. Böyle bir ifade tek başına yetersizdir ve algılama sınırının bu durum için ne olduğu konusunda bir açıklama ile birlikte sunulmalıdır. Bazen, algılama sınırının belirgin bir biçimde altında olsa bile sayısal bir değer raporlanması uygundur. Otoriteler bazen tayin sınırının belirtilmesini isteyebilir.

Sonuçla birlikte belirsizlik ifadesi gerektiğinde, uygun bir kapsam faktörü ile genişletilmiş belirsizlik verilmesi uygun olabilir. Örneğin, kapsam faktörü 2, yaklaşık olarak % 95 güvenilirlik seviyesi aralığına karşılık gelir. Ölçüm belirsizliğinin nasıl raporlanacağı ile ilgili daha fazla bilgiye Eurachem/CITAC Kılavuzu Bölüm 9’da ulaşılabilir [22].



## Ek A – Metot dokümantasyon protokolü

Metotların uygun dokümantasyonu Kılavuz'un 9. bölümünde açıklanmıştır. Aşağıdaki format referans olabilecek uygun bir plan içerir. ISO 78-2 standardına [83] dayanır, ancak kalibrasyon, kalite kontrol ve doküman kontrolü ile ilgili bazı ek tavsiyeler içerir. Ek A sadece kılavuzluk içindir ve özel gerekliliklere uyacak şekilde uyarlanmalıdır.

### A.1 Önsöz

#### A.1.1 Güncelleme ve gözden geçirme özeti

Bu bölümün iki amacı vardır. Birincisi, metodun tam gözden geçirmesi ve yeniden basımına ihtiyaç duymadan metot metninde küçük değişiklikler yapılmasına olanak sağlanmasını amaçlar. İkincisi, tüm metotlar periyodik olarak amaca uygunluk yönünden gözden geçirilmelidir ve özet bunun yapıldığına dair kayıt sağlar. Özet, metot metninin önünde, kapağın hemen içinde verilebilir.

#### A.1.2 Güncellemeler

Metot metni üzerinde, aşağıdaki tabloya (el yazısı girdiler kabul edilir) kaydedilmek ve uygun biçimde yetkilendirmek koşulu ile el yazısı ile yapılan herhangi bir değişiklik kabul edilebilir. Verilen bu yetki, değişikliklerin, metodun geçerli kılınması üzerine etkilerinin incelendiği, hiçbir soruna neden olmadığı ve değişikliğin metodun tüm kopyalarında yapıldığı anlamına gelir.

#	Bölüm	Değişikliğin niteliği	Tarih	Yetki
1 (ör.)	3.4	Akış hızı değişikliği 1,2 mL min <sup>-1</sup>	8/2/96	DGH

#### A.1.3 Gözden geçirme

Herhangi bir zamanda yapılan *gözden geçirme* ile *bir sonraki gözden geçirme* arasındaki zaman aralığı, yani metodun kullanımda olduğu tarihler tabloda belirtilmiş olacaktır.

Gözden geçirme tarihi	Gözden geçirmenin çıktısı	Gelecek gözden geçirme tarihi	Yetki

### A.2 Giriş

Giriş gerektiğinde, prosedürdeki teknik konulara dair yorumların veya hazırlanma nedeninin belirtilmesi gibi bilgileri sunmak için kullanılır. Metodun arka planına dair bilgiler verilmesi gerektiğinde, tercihen bu başlığın altında sunulmalıdır.

### A.3 Başlık

Başlık metodun uygulanacağı numune tipi, tespit edilecek analit veya özellik ve tespit prensibini tanımlamalıdır. Mümkün olduğunca aşağıdaki bilgiler ile sınırlandırılmalıdır. Tercih edilen format:

D {*prensibi*} kullanarak, C {*matriksinde*}, (B {*girişimi*} varlığında), A'nın {*analit veya ölçülen büyüklük*} tayini

### A.4 Uyarılar

Her türlü tehlikeye dikkat çeker ve bunlardan kaçınmak için alınması gereken önlemleri tanımlar. Detaylı önlemler ilgili bölümlerde verilebilir, fakat tehlikelerin varlığına ve önlem ihtiyacına burada dikkat çekilmelidir. Aşağıdakiler ile ilgili tüm tehlikeler için uygun uyarılar sağlanmalıdır:

- numune işlemleri;
- çözücüler, reaktifler, standartlar veya diğer malzemelerin hazırlanması ve ilgili işlemleri;
- cihazların kullanımı
- özel ortam gereklilikleri, örneğin, çeker ocaklar;
- ölçek büyütme deneylerinin sonuçları (patlama sınırları).

### A.5 Kapsam

Bu bölüm potansiyel kullanıcının, metodun istenen amaca uygun olup olmadığı veya varsa kısıtlamalar olup olmadığını hızlı bir şekilde görmesini sağlar. Aşağıdaki detayları içermelidir:

- problemin tanımlanması (metoda neden ihtiyaç vardır);
- metot ile belirlenebilen analit(ler) veya ölçülen büyüklük(ler);
- analit(lerin) tayin edileceği form - türleştirme, toplam/kullanılabilir ve diğerleri;
- içinde bu analit(lerin) belirlenebileceği numune matris(leri);
- metodun kullanılabilmesi için çalışma aralığı (ölçüm aralığı). Bu, laboratuvar numunesinin derişimine uygun olmalıdır;
- metodun kullanımını engelleyen veya sınırlayan, bilinen girişimler;
- metotta kullanılan cihaz tekniği;
- en düşük numune miktarı.

Gıda sektörü [35] “uygulanabilirlik” başlığını kapsamın eş anlamlısı olarak kullanır ve “analiz metodunun başarı ile kullanılabilmesi için analitler, matrisler ve derişimler” burada tanımlanır.

### A.6 (Normatif) referanslar

Bu başlık metodun uygulanması için gerekli olan dokümanların listesini vermelidir. Metodun hazırlanmasında sadece referans olarak kullanılan dokümanlar, belgenin sonunda kaynakça kısmında gösterilmelidir.

### A.7 Tanımlar

Metin içinde kullanılan ve tam olarak anlaşılması için gereken terimlerin tanımlarını veriniz. Mümkün olduğunca ISO tanımlarını kullanınız. Kaynakları veriniz. İlgili ise analitik yapılar burada yer alabilir.

### A.8 Prensip

Metodun önemli adımlarını ve analitik tekniğin çalışma prensibini özetleyiniz. Bir akış şeması veya neden etki şeması yardımcı olabilir. Bu bölümü, metodun nasıl çalıştığını bir bakışta özetleyebilecek şekilde yazınız. Hesaplama prensibine ait bir açıklamaya yer veriniz. Uygunsa metodun çalışma şeklini veya hesaplamaları netleştirmek için ilgili kimyasal reaksiyonların detaylarını veriniz (örneğin, türleştirme yapılan yerler veya titrimetri ile ilgili olabilir).

Ör: “Derişim, 6 noktalı kalibrasyon eğrisinden okunan numune absorbansına karşılık gelen, boş değer için düzeltilmiş ve derişim faktörü ile çarpılarak türetilmiştir.”

### A.9 Tepkimeler

Bu başlık, metnin veya hesaplamaların anlaşılması için gerekli görülürse temel tepkimeleri belirtmelidir. Bu tepkimeler, tayinlerde elde edilen verilerden yapılan hesaplamaları gerektirir ve özellikle tayin edilen elementin yükseltgenme basamağında ardı ardına birkaç değişim oluyorsa metodun daha iyi anlaşılmasını sağlar. Titrasyon içeren durumlarda, reaktiflerin her bir molündeki eşdeğerlik sayısının belirtilmesi özellikle faydalıdır.

### A.10 Reaktifler ve malzemeler

Analitik süreç için gerekli tüm reaktif ve malzemeler gerekli özellikleri (derişim, yoğunluk vb.) ile listelenir ve sonraki kullanımı için numaralandırılır. Aşağıdakileri listelleyiniz:

- CAS (Chemical Abstract Service) Kayıt numarası (varsa);
- bertaraf etme yönergelerini de içeren, beraberinde oluşabilecek tehlikelerin detayları
- analitik derecesi veya saflık;
- bağımsız partilerden gelen kalibrasyon ve QC malzemeleri ihtiyacı;
- önceden hazırlık ihtiyacını da ifade eden hazırlama detayları;
- muhafaza ve depolama gereklilikleri;
- ham maddenin ve hazırlanan reaktifin raf ömrü;
- derişim veya diğer miktar türlerine dair notlarla birlikte gereken bileşim;
- etiketleme gereklilikleri.



**A.11 Aletler**

Eksiksiz kurulum yapılabilmesi için, her bir cihaz ve bunların nasıl bağlandıklarını gerektiği kadar detay vererek tanımlayınız. Daha sonraki kullanımlar için her bir parçayı numaralandırınız. Diyagram ve akış şeması anlaşılmasına yardım edebilir. Kurulan aletlerin işlevselliğinin her türlü kontrolü, “Prosedür” başlığı altında “Ön Test” veya “Kontrol testi” alt başlığında tanımlanmalıdır (bkz. A.13).

En düşük performans ve doğrulama gerekliliklerini, kalibrasyon bölümüne (A.13) ve cihazın ilgili el kitabına referans vererek listeleyiniz. Uygunsa, laboratuvar cam malzemeleri ve aletler ile ilgili uluslararası standartlar ve diğer uluslararası kabul görmüş dokümanlara atıf yapınız. Ortam gerekliliklerini (çeker ocak gibi) veriniz.

**A.12 Numune alma**

Bu protokoldeki numune alma, hem laboratuvar numunesi elde etmek için numune almayı, hem de laboratuvarda test numunesinden test porsiyonları almak için alt örnekleme içerir.

Eğer laboratuvar numunesinin hazırlanması için numune alma, kimyasal analizden bağımsız ise, genellikle bu soru için ilgili prosedüre bilgi amaçlı atıf yapmak yeterlidir. Eğer ilgili prosedür yoksa, numune alma maddesi, ürünün değiştirilmesinin nasıl engellenebileceğine dair önerileri ve ilgili istatistiksel metotların uygulanması ile ilgili gereklilikleri dikkate alan numune alma planını ve numune alma prosedürünü içerebilir.

Numune alma maddesi, laboratuvar numunesinden test numunesinin hazırlanması için gerekli tüm bilgileri içermelidir. Depolama, şartlandırma/ön işlem ve bertaraf detaylarını içermelidir. Eğer bu aşama özellikle karmaşık ise, her bir adımın tanımlı olduğu ayrı bir doküman hazırlanabilir.

**A.13 Prosedür**

Her bir işlem dizisini açıklayınız. Tanımlanan metot başka bir standartta hali hazırda verilmişse, “ISO 12345 standardında belirtilen metodu kullanın” veya “ISO 12345’te tanımlı metotlardan birini kullanın” cümlesi, herhangi bir değişiklik yapıldıysa belirtilerek kullanılmalıdır. Özel güvenlik tedbirleri gerektiren işlemleri belirtiniz. “Prosedür” maddesi normal olarak aşağıdaki alt maddeleri içermelidir.

- test porsiyonu (test numunesi veya laboratuvar numunesinden hazırlanışı ve gerekli kütle veya hacim);
- boş testleri (şartlar ve sınırlamalar);
- ön test veya kontrol testi (örneğin ölçüm cihazının performansını doğrulamak için);
- tayin(ler) veya test(ler). Bu, ölçüm veya test sayısı (örneğin, ikili) ve bütün adımların detaylı tanımını içerir;
- kalibrasyon. Analitik sürecin kritik bölümlerini tespit ediniz. Bu, özenli uygulama ve kalibrasyonla kontrol edilecektir. Yukarıdaki ilgili bölümlere atıf yapınız. Cihazın kalibrasyonunu dahil ediniz - kalibre edilmesi gerekenler nelerdir, nasıl, ne ile ve ne sıklıkta? Kalibrantlar için uygun metrolojik izlenebilirliği seç.

**A.14 Hesaplama**

Sonuçların nasıl hesaplandığını açıklayınız. Sonuç ve diğer büyüklüklerin ifade edileceği birimler; hesaplama için kullanılan eşitlik; eşitliklerde kullanılan sembollerin anlamları; sonuçların verileceği ondalık basamak sayısı veya anlamlı sayılar hakkındaki bilgiyi dahil ediniz. Büyüklük sembolleri ISO 80000’e uygun olmalıdır [14].

**A.15 Kesinlik**

Laboratuvarlar arası karşılaştırmaya tabi olan metotlar için kesinlik verileri (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) belirtilmelidir. Kesinlik verileri hesaplanmalı ve tercihen, ISO 5725 standart serisinin ilgili kısımlarına veya başka bir uygun uluslararası standarda (hangi standart olduğu bahsedilmelidir) göre yayınlanmalıdır. Kesinlik değerlerinin mutlak veya bağıl terimler mi veya kesinlik sınırları olarak mı ifade edildiğini açıkça belirtiniz.

**A.16 Kalite güvence ve kalite kontrol**

Geçerli kalma çalışmasının çıktılarında biri, takip edilecek iç ve dış (yeterlilik testi) kalite kontrol prosedürlerinin bir tanımı olmalıdır. Kalite kontrolün hangi biçimi alacağını, çoklu analizlerde uygulanacak kalite kontrol sıklığı, geçme/kalma kriterleri, kalma durumlarında yapılması gerekenleri açıklayınız. Yukarıda verilen ilgili bölümlere atıf yapınız.

**A.17 Özel durumlar**

Analiz edilecek ürün içerisinde özel bileşenlerin varlığı veya yokluğu nedeni ile gerek duyulmuş, prosedürde yapılan herhangi bir değişikliği dahil ediniz. Değişiklikler “Kapsam” maddesinde hali hazırda bahsedilmiş olmalıdır. Her bir özel durum ayrı başlık altında anlatılmalıdır.

**A.18 Test raporu**

Bu madde test raporunda verilecek bilgiyi belirtir. Test ile ilgili aşağıdaki bilgiler normalde yer almalıdır.

- kullanılan metoda referans;
- “Hesaplama” maddesine atıfta bulunarak sonuç(lar) ve eğer uygulanabilirse ilişkili bir kalite göstergesi (kesinlik, belirtilen belirsizlik; güven aralığı);
- prosedürden herhangi bir sapma;
- olağan dışı herhangi bir gözlem;
- test tarihi.

**A.19 Ekler**

Okunurluğu kolaylaştırmak için, bazı bilgilerin ekte sunulması daha uygundur. Ek’in normatif mi, bilgi amaçlı mı olduğu açıkça ifade edilmelidir. Ek olarak verilebilecek bilgilere örnekler, metodun geçerli kılınması çalışması, risk analizi ve belirsizlik hesaplamalarından elde edilen verilerdir. Sonuncu için, metotla ilgili ana belirsizlik kaynakları tanımlanmalı ve atanmış değerler listelenmelidir. Son hesaplamada kullanılmayan anlamlı olmayan katkılar belirtilmelidir. Bileşik standart belirsizlik ve/veya genişletilmiş belirsizlik, nasıl türetildiklerine ilişkin açıklama ile birlikte listelenmelidir. Daha detaylı işlemler için ayrı bir dosyaya çapraz-atıf yapılabilir.

**A.20 Kaynakça**

Bilgilendirme amaçlı kaynakların gerektiği düşünülüyorsa, bunlar metin içerisinde bahsedildikleri yerde veya birden fazla ise doküman sonunda kaynakça bölümünde verilebilir.

## Ek B – Algılama sınırı hesaplarının istatistiksel temeli\*

Bölüm 6.2.3’ de yer alan Hızlı Referans 2’de, uygun bir standart sapmanın 3 ile çarpılarak algılama sınırının (LOD) hesaplandığına işaret edilmektedir. Bu Ek bu çarpanın istatistiksel temelini tanımlar.

LOD hesaplanırken amaç, genellikle numunede bulunan analitin verilen ölçüm prosedürü ile belirlenen güven aralığındaki en düşük derişiminin ölçülebildiğinin kanıtlanmasıdır. LOD’yi tanımlanmak iki aşamalı bir süreçtir. İlk olarak “kritik değer” hesaplanır. Bu değer, numune gerçekten analiti içermiyorsa, kritik değer üzerinde ölçüm sonucu elde etme olasılığının  $\alpha$ ’dan büyük olmaması için tanımlanır. Kritik değer numunenin “pozitif” olduğunu ifade eden kriteri belirler. Genelde, yanlış pozitif olarak  $\alpha = 0,05$  olasılığı kullanılır; bu kritik değer yaklaşık  $1,65s$  olmasını sağlar ( $s$  değeri, çok sayıda boş numune veya düşük derişimde analit içeren numunelerin analiz sonuçlarının standart sapmasından ve  $1,65$  değerinde, sonsuz serbestlik derecesinde  $\alpha = 0,05$  güven aralığında tek yönlü Student  $t$ -test değeridir). Kritik değer en uygun şekilde derişim terimi ile ifade edilir, ancak presip olarak her hangi bir gözlem olabilir, pik alanı gibi. Kritik değer üzerindeki herhangi bir sonuç pozitif olarak ifade edilmelidir.

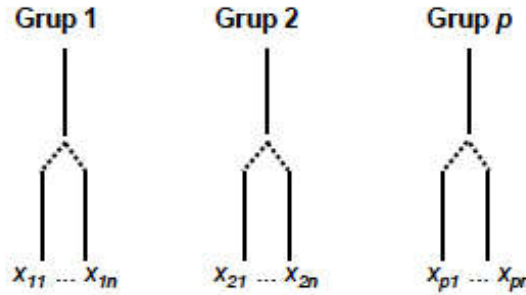
Eğer numunenin gerçek derişimi kritik değere (derişim olarak ifade edilir) eşitse, yaklaşık olarak ölçüm sonuçlarının yarısının kritik değer altında olması beklenir, bu da yanlış negatif oranını % 50 olarak verir. Pratik kullanımda, % 50 yanlış negatif oranının çok yüksek olduğu açıktır; derişimin kritik değere eşit olduğu durumlarda kritik değer üzerinde metot güvenilir sonuç vermez. LOD, verilen kritik değer için kabul edilebilir yanlış negatif oranında gerçek derişimi temsil içindir. Yanlış negatif hata  $\beta$ , genellikle yanlış pozitif hataya eşitlenir, bu genellikle geçmişe bağlı nedenlerdendir. (IUPAC değerlerin  $\alpha = \beta = 0,05$  olarak varsayılmasını tavsiye eder [49]).  $\alpha = \beta = 0,05$  olarak kullanılması, LOD’nin belirlenen kritik değer  $1,65s$  üzerinde olmasını gerektirir. LOD nin  $\alpha = \beta = 0,05$  ile hesaplandığı durumda faktör  $1,65 + 1,65 = 3,30$  olacaktır. Bu çoğunlukla Hızlı Referans 2’de hesaplamada gösterildiği gibi yuvarlanır ve “ $3s$ ” elde edilir. Bu yaklaşım literatürde belirtilen birçok yaklaşımın temelidir [49].

3 çarpanı bir önceki paragrafta anlatıldığı gibi sonsuz serbestlik derecesindeki tek yönlü Student  $t$ -değerinin tek anlamlı rakama yuvarlanması ile hesaplanır. LOD’nin istatistiksel kesin tahmini için çarpım faktörü kullanırken  $s$  değerinin hesaplanmasında kullanılan serbestlik derecesi değeri dikkate alınmalıdır. Örneğin  $s$  değeri 10 tekrar ölçümden elde ediliyorsa Student  $t$ -değeri (9 serbestlik derecesinde)  $\alpha = 0,05$  için 1,83 olacaktır. Bu, LOD’nin  $3,7s$  olarak hesaplanmasına neden olur.

\* Metin, Eurachem Guide on Terminology in Analytical Measurement kaynağına dayanmaktadır [8].

## Ek C – Varyans analizi (ANOVA)

Varyans analizinin (ANOVA) arkasındaki temel fikir, tekrar analizlerinin örneğin, analist, cihaz, gün, laboratuvar, metot vb. gibi gruplanabilir, setteki toplam varyans, gruplar arası ve grup içi birleştirilmiş varyanslar ( $s^2$ ) ile ifade edilebilir. ANOVA Şekil C.1’de gösterildiği gibi bir deneysel çalışma türü ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde kullanılabilir. Bu “iç içe tasarım” da, tekrar ölçümleri (tipik olarak tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilmiş)  $p$  grup veriyi sağlamak için değişik gözlemlerdeki ölçümlerle tekrarlanır. Ara kesinlik hesabı için bu tür bir çalışmada gözlemler arası koşullarda en yüksek varyasyon sağlanmalıdır (değişik günler, değişik analist vb.).



Şekil C 1 – ANOVA kullanarak farklı kesinlik ölçülerinin elde edilebileceği bir deney için “iç içe tasarım” örneği

Tek-yönlü ANOVA için genel tablo formatı,  $n$  sayıda gözlemin,  $p$  sayıda grupta yapılmasıyla  $N$  sayıda toplam sonuç ve  $v$  serbestlik derecesi Şekil C2’de belirtilmiştir. Tablonun her bir satırı varyasyonun farklı bir kaynağı ile ilgilidir. İlk satır grup ortalamaları arasındaki varyasyon ile ilgilidir; ikinci satır gruplar içi varyasyonu belirtir ve üçüncü tüm veri setinin varyasyonunu gösterir. Hesap tabloları içeren programlar ve istatistiksel yazılımlarda  $F$  ve  $F_{kritik}$  değeri ve karşılık gelen  $P$  (olasılık) değeri mevcuttur.

Varyasyon kaynakları	Kareler toplamı (SS)	$v$	Kareler ortalaması (MS)	$F$	$P$	$F_{kritik}$
Gruplar arası	$SS_b$	$p-1$	$MS_b = SS_b/(p-1)$	$MS_b/MS_w$		
Gruplar içi (artıklar)	$SS_w$	$N-p$	$MS_w = SS_w/(N-p)$			
Toplam	$SS_{tot} = SS_b + SS_w$	$N-1$				

Şekil C2 – Tek yönlü ANOVA tablosunun anatomisi

Gruplar-arası varyasyon ile ilgili veriler, daima hem “gruplar-arası” terim ile tarif edilir hem de gruplama faktörleri ile (örneğin analist, gün veya laboratuvar) ayırt edilir. Kaynaklar ve yazılımlarda farklı terimler kullanılmaktadır. Örneğin, grup içi varyasyon için, “grup-içi”, “artık”, “hata” veya “ölçüm” en sık kullanılan terimlerdir.

Şekil C1’de verilen iç içe tasarımın tek bir laboratuvar tarafından uygulandığı varsayılıyor, her grubun içindeki tekrarlar tekrarlanabilirlik koşulları altında elde ediliyor ve analitik koşullar gruplar arasında çeşitlilik gösteriyorsa, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik aşağıdaki gibi hesaplanabilir.

1. Tekrarlanabilirlik standart sapması  $s_r$ , yani grup-içi varyansı temsilen grup-içi ortalamaların karelerinin karekökünün alınması ile hesaplanır:

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

2. Gruplama faktörünün ( $s_{\text{gruplararası}}$ ) toplam varyasyona katkısı da ANOVA tablosundan elde edilir:

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

3. Böylece, ara kesinlik  $s_I$  yukarıdaki grup-içi ve gruplar-arası varyans bileşenleri birleştirilerek hesaplanabilir:

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

Bölüm 6.6.4'de belirtilen deney aşağıdaki gibi gösterilebilir. Laboratuvar içi metodun geçerli kılma çalışmalarının bir kısmında, sekiz farklı günde çift ölçümler alınır (Tablo C1). Her bir gün yapılan ölçümler tekrarlanabilirlik koşullarında gerçekleştirilir, ancak metodun rutin kullanımında olduğu gibi, değişik günlerde farklı koşullar yaratılarak, yani farklı analistler, farklı cihazlar vb. ile analizler gerçekleştirilir.

**Tablo C1 – Tek yönlü ANOVA ile kabul edilebilir bir serbestlik derecesinde tekrarlanabilirlik ile ara kesinlik elde etmeyi sağlayacak deney kurgusu örneği**

Gün	1		2		3		4		5		6		7		8	
Sonuç	$x_{1,1}$	$x_{1,2}$	$x_{2,1}$	$x_{2,2}$	$x_{3,1}$	$x_{3,2}$	$x_{4,1}$	$x_{4,2}$	$x_{5,1}$	$x_{5,2}$	$x_{6,1}$	$x_{6,2}$	$x_{7,1}$	$x_{7,2}$	$x_{8,1}$	$x_{8,2}$

Tek yönlü ANOVA, metoda has varyasyon (tekrarlanabilirlik) ile ölçüm koşullarındaki değişikliklere (ör; değişik analistler, cihazlar, uzun zaman aralığı) bağlı varyasyonu (ara kesinlik) ayırmak için kullanılabilir. Bu yaklaşımla ara kesinliğe hangi parametrenin – analist, cihaz, zaman – en fazla neden olduğu sonucu çıkarılamaz ki bu bilgi, geçerli kılma aşamasında normalde gerekli değildir.

Tablo C1'deki sonuçlara tek yönlü ANOVA uygulandığında Şekil C2 benzeri bir sonuç tablosu elde edilecektir.  $F$ , kritik  $F$  ve  $P$  değeri değişik günlerde elde edilen sonuçların varyasyonunun aynı günde elde edilen sonuçların varyasyonundan önemli derecede büyük olup olmadığını doğrudan değerlendirilmesini sağlar. Bundan sonra yukarıdaki C1, C2 ve C3 eşitlikleri kullanılarak, iki kesinlik ölçüsü ( $s_r$  ve  $s_I$ ) için değerler hesaplamaya hazır hale gelir. Serbestlik derecesi ( $\nu$ )  $s_r$  için  $N - p = 16 - 8 = 8$ 'dir. Ara kesinlik için serbestlik derecesi değeri ( $\nu$ ) daha karışıktır, ancak,  $p - 1$  den az olmayacaktır, yani bu örnek için 7 olarak hesaplanır (Bkz. Şekil C2). Bu, iş yükü ve kesinlikten gelen belirsizliğin hesaplanması arasında uyum sağlar.

## Ek D – Nitel analizler ile ilgili notlar

Nitel analizler de nicel analizlerin temel prensiplerine tabidir, ancak metodun özelliklerinin tanımlanması için bazı özgün kavramların uygulanması gerekir. Bu ek, nitel analizleri kısaca tanıtır ve ilgili kılavuza yönlendirir.

Nitel analizler, IUPAC tarafından şu şekilde tanımlanmaktadır: *bileşenlerin kimyasal reaktivitesi, çözünürlüğü, moleküler ağırlığı, erime noktası, ışımaya (emiyon, absorpsiyon) özellikleri, kütle spektrumu, nükleer yarılanma ömrü gibi kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre tanımlandığı ve sınıflandırıldığı analizlerdir* [17]. Bu, şu anlama gelir, sonuçlar nominal bir skalada ifade edilir, bu sonuçların oran skalasında ifade edilmesinin doğal bir sonucudur. Nitel analizler, nicel analizler yerine, daha ucuz oldukları için tarama amacıyla veya analit derişimi metod algılama sınırına (LOD) yakın olduğunda öncelikli olarak tavsiye edilirler.

Bir “nitel metod”, analitin kesim derişimi için “Evet/Hayır” yanıtını etkin bir şekilde verir [55]. Geçerli kılma çalışması **sınıflandırma/teşhis durumunu** sağlamak için sınır derişiminin tanımlanmasını içerir. Örneğin, yasa, yönetmelik ve benzeri gibi mevzuatta belirtilen kirlilik etkeninin sudaki varlığı veya yokluğu uygulanan kesim derişimi ile belirlenir.

Nitel metotların özellikleri, nicel metotların üst metrolojik özelliklerine (düşük LOD gibi) göre tanımlanırsa, bu metotlar şartlara bağlı olmaksızın doğru durumu belirlemek için en uygundur. Nitel metodun özellikleri, kesim derişiminin altında ve üstünde çeşitli derişim seviyelerinde belirlenmelidir. Analit eklenmiş ve eklenmemiş boş numunelerde nicel metodun teyidi için kullanılması tercih edilir.

Nitel metotlarda, kesinlik, standart sapma veya bağıl standart sapma ile ifade edilemez, ancak doğru ve yanlış pozitif ve doğru ve yanlış negatif oranları ile ifade edilebilir [55, 85, 86, 87]. Bu durum Şekil D1’de gösterilmektedir.

	<b>Kesim derişimi üzerindeki numuneler</b>	<b>Kesim derişimi altındaki numuneler</b>	
<b>Pozitif test</b>	<b>Doğru pozitif testler</b>	<b>Yanlış pozitif testler (Tip I hata)</b>	<b>Toplam pozitif test sayısı</b>
<b>Negatif test</b>	<b>Yanlış negatif testler (Tip II hata)</b>	<b>Doğru negatif testler</b>	<b>Toplam negatif test sayısı</b>
	<b>Kesim üzerindeki toplam numune sayısı</b>	<b>Kesim altındaki toplam numune sayısı</b>	

Şekil D1 –Yanlış pozitif ve yanlış negatif oranlarının hesaplanması için temel oluşturacak A2 × 2 tablo

“Tanısal hassasiyet”, kesim derişimi üzerindeki derişim gibi, bir koşula karşı pozitif nicel test sonucuna sahip numunelerin oranıdır. Tanısal hassasiyet, önceden belirlenmiş olasılık seviyesinde numunedeki düşük analiti miktarlarını Evet/Hayır ikili yanıtı oluşturmak üzere belirleyebilme yeteneğini ifade eden, nitel metotların temel bir özelliğidir.

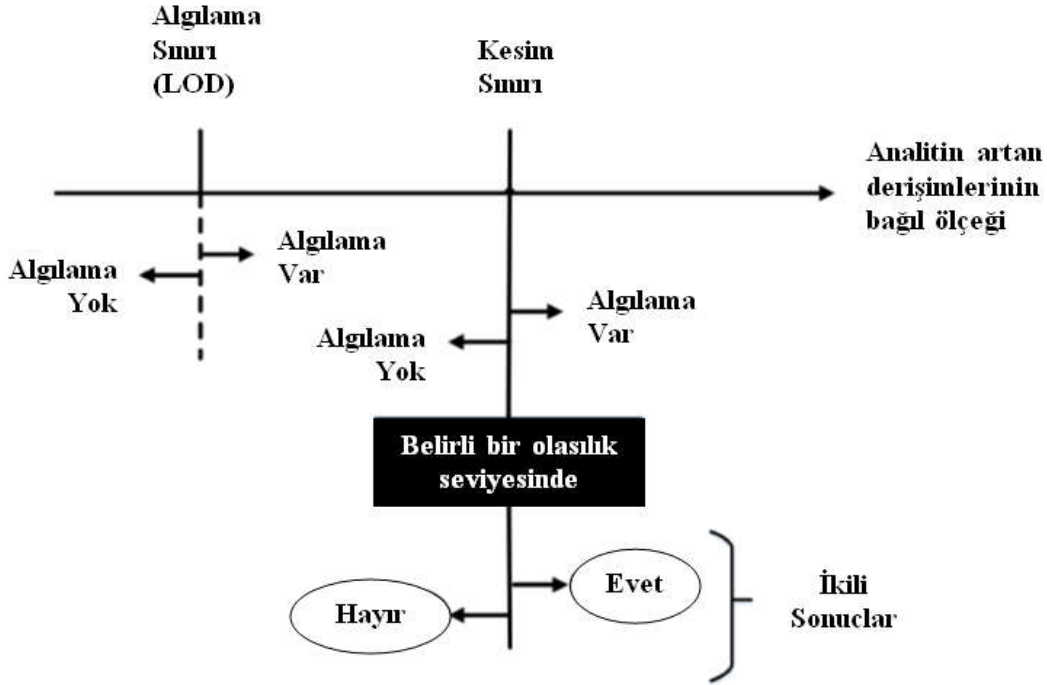
$$\text{Tanısal hassasiyet} = \frac{\text{doğru pozitif numunelerin sayısı}}{\text{toplam numune sayısı (koşulu sağlayan)}} \quad (\text{Eşitlik D1})$$

“Tanı özgülüğü” kesim derişiminin altında derişim gibi bir koşula bağı olmaksızın negatif nitel test sonucuna sahip olan numunelerin oranıdır.

$$\text{Tanısal özgülük} = \frac{\text{doğru negatif numunelerin sayısı}}{\text{toplam numune sayısı (koşulu sağlamayan)}} \quad (\text{Eşitlik D2})$$

Mümkünse, doğrulama amaçlı metot karşılaştırmasından elde edilen veri kullanılmalıdır. Aksi halde analit eklenmiş ve eklenmemiş boş numuneler ölçülebilir.

Nicel analizlerin ölçüm kalitesi için önemli parametreler LOD ve kesim sınırıdır (Şekil D2). LOD nicel analizlerde tanımlandığı gibi, ilgili boş numunelerin verdiği ortalama sinyalden, istatistiksel olarak ayırt edilebilecek sinyal sağlayan bir analit derişimidir. Kesim sınırı eğer doğru belirlenirse, belirtilen olasılık ile adı geçen sınırın üzerinde yanlış negatif oranlarının düşük olduğu yerdir. Geçerli kılmada yazılı prosedürde verilen tahmini kesim sınırı değerlendirilir.



Şekil D2 - İkili yanıt üreten, numune nitelendirme/sınıflandırma türü nitel analizlerde iki nicel referans vardır: 1. Metodun doğasından gelen algılama sınırı (LOD), 2. yazılı prosedürde verilen kesim noktası sınırı. Bunlar, hayali artan bir derişim ölçeğine yerleştirilir. Algılama sınırı (LOD) üzerindeki bölgede, kesim derişimi, kişinin, bileşene ait ikili yanıtın üretildiği derişim bölgelerini; yani, sınırın altında Yok ve üstünde Var, olarak ayırt etmesine olanak tanır.

Nicel analizlerde çeşitli ilave kavramlar kullanılır (Tablo D1). Sonuçlarının **tahmini değerleri**, nitel kimyasal metotlar dışında bilgi kaynaklarına dayandırılarak incelenen numune derişimlerinin kesim noktası üzerinde olma sıklığının artırılması yoluyla artırılabilir. Bu, nitel ölçüm metodunun pratik değerini belirgin bir şekilde iyileştirecektir.

Nitel bir metodun **seçiciliği** dereceli bir kavramdır; özelliklerde belirtilen dışında hangi analitin ne ölçüde analize girişim yapacağıın derecesi. Metodun bu temel özelliği, aynı zamanda, onun matriks etkisinden etkilenmeden sonuç üretebilme yeteneği olarak da tanımlanabilir. Seçicilik ne kadar iyi ise kimliğin kesinliği ve numune sınıflandırması o kadar iyi olur.

Tablo D1- Nitel metotları içeren ölçüm metotlarının tanısallık özelliklerini ifade eden kavramların hesaplanması ve tanımlanması

Kavram (sembol)	Tanımlama	Formül
Pozitif olasılık oranı ( $LR+$ )	Doğru pozitif değerinin, yanlış pozitif değere oranıdır.	$LR+ = \frac{\text{tanısal hassasiyet}}{1 - \text{tanısal özgüllük}}$
Negatif olasılık oranı ( $LR-$ )	Yanlış negatif değerinin, doğru negatif değere oranıdır.	$LR- = \frac{1 - \text{tanısal hassasiyet}}{\text{tanısal özgüllük}}$
Tanısal tek oran ( $DOR$ )	Bu, tanısal duyarlılık ve tanısal özgüllüğü birleştiren kavramdır ve olasılık oranlarını tek bir sayı haline getirir.	$DOR = \frac{LR+}{LR-}$
Pozitif varsayılan değer ( $PPV$ )	Nitel test sonuçları, koşullara bağlı pozitif olan numunelerin oranıdır. Bu, hedef numune popülasyonda koşulların yaygınlığını hesaba katar.	$PPV = \frac{\text{Doğru pozitiflerin sayısı}}{\text{Toplam pozitiflerin sayısı}}$
Negatif varsayılan değer ( $NPV$ )	Nitel test sonuçları, koşullara bağlı olmaksızın negatif olan numunelerin oranıdır. Bu, hedef numune popülasyonda koşulların yaygınlığını hesaba katar.	$NPV = \frac{\text{Doğru negatiflerin sayısı}}{\text{Toplam negatiflerin sayısı}}$



## 2 Kaynakça

(Konu ile ilgili mevcut önemli güncel referanslar için Eurachem web sitesinde “Publications” kısmında yer alan Eurachem “Reading List”e bakınız. websitesi, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).)

1. ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO Geneva.
2. ISO 15189:2012 Medical laboratories – Requirements for quality and competence, ISO Geneva.
3. ISO 15195:2003 Laboratory medicine – Requirements for reference measurement laboratories, ISO Geneva.
4. J. N. Miller, Basic statistical methods for analytical chemistry. Part 2. Calibration and regression methods. A review, *Analyst*, 1991, 116, 3.
5. J. C. Miller, J. N. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, 6th ed., Pearson, Harlow, 2010, ISBN 978-0-273730422.
6. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, T. J. Duguid Farrant, *Practical statistics for the analytical scientist. A bench guide*, 2nd ed., RSC Publishing, Cambridge, 2009, ISBN 978-0-85404-131-2.
7. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2012, [www.bipm.org](http://www.bipm.org). A previous version is published as ISO/IEC Guide 99:2007, ISO Geneva.
8. V. J. Barwick, E. Prichard (eds.), *Eurachem Guide: Terminology in analytical measurement – Introduction to VIM 3*, Eurachem, 2011, ISBN 978-0-948926-29-7, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
9. ISO 9000:2005 Quality management systems – Fundamentals and vocabulary, ISO Geneva.
10. ISO 9001:2008 Quality management systems – Requirements, ISO Geneva.
11. ISO online browsing platform (OBP), <https://www.iso.org/obp/ui/>
12. M. Thompson, S. L. R. Ellison, R. Wood, *Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report)*, *Pure Appl. Chem.*, 2002, 74(5), 835.
13. *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*, ICH harmonised tripartite guideline, 2005, [www.ich.org](http://www.ich.org)
14. ISO 80000-1:2009 Quantities and units – Part 1: General, ISO Geneva.
15. M. H. Ramsey and S. L. R. Ellison (eds.), *Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches*, Eurachem, 2007, ISBN 978-0-948926-26-6, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
16. AMC technical brief No. 19, March 2005, M. Thompson (ed.), *Terminology – the key to understanding analytical science. Part 2: Sampling and sample preparation*, [www.rsc.org](http://www.rsc.org)
17. *Compendium of chemical terminology (IUPAC Gold Book)*, [www.iupac.org](http://www.iupac.org)
18. *Compendium of analytical nomenclature (IUPAC orange book)*, [www.iupac.org](http://www.iupac.org)
19. *Method validation of U.S. Environmental Protection Agency microbiological methods of analysis. Prepared for The EPA forum on environmental measurements (FEM). The FEM Microbiology Action Team, FEM Document Number 2009-01, 7 Oct., 2009.*
20. ISO 10012:2003 Measurement management systems - Requirements for measurement processes and measuring equipment, ISO Geneva.
21. *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, JCGM 100:2008 (corrected version 2010), [www.bipm.org](http://www.bipm.org). Printed as ISO/IEC Guide 98-3:2008, ISO Geneva.
22. S. L. R. Ellison, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide CG4: Eurachem/CITAC, Quantifying uncertainty in analytical measurement*, 3<sup>rd</sup> ed., Eurachem, 2012, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
23. *Guide to method validation for quantitative analysis in chemical testing laboratories*, INAB Guide PS15, 3 April 2012, [www.inab.ie](http://www.inab.ie)

24. CLSI, User verification of performance for precision and trueness; Approved guideline – 2<sup>nd</sup> ed. CLSI document EP15-A2. Wayne PA, Clinical and Laboratory Standards Institute 2005, [www.clsi.org](http://www.clsi.org)
25. AOAC Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis, 2002, [www.aoac.org](http://www.aoac.org)
26. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, (IUPAC technical report), Pure Appl. Chem., 1995, **67**(2), 331.
27. ASTM E1601-12 Standard practice for conducting an interlaboratory study to evaluate the performance of an analytical method, 2012, [www.astm.org](http://www.astm.org)
28. CEN/TR 10345:2013 Guideline for statistical data treatment of inter laboratory tests for validation of analytical methods, CEN Brussels.
29. ISO 5725 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Parts 1-6, ISO Geneva.
30. ISO Guide 30:1992/Amd 1:2008 Terms and definitions used in conjunction with reference materials, ISO Geneva.
31. M. Thompson, P. J. Lowthian, Notes on statistics and data quality for analytical chemists, Imperial College Press, 2011, ISBN 978-1848166172.
32. E. Mullins, Statistics for the quality control chemistry laboratory, RSC, Cambridge, 2003, ISBN 978-0-854074-671-3.
33. W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, Quality assurance in analytical chemistry: Applications in environmental, food, and materials analysis, biotechnology, and medical engineering, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2006, ISBN 978-3-527-31114-9.
34. A. Kallner, Laboratory statistics. Handbook of formulas and terms (1<sup>st</sup> ed.), Elsevier, 2013, ISBN 978-0-12-416971-5.
35. Codex Alimentarius Commission, Procedural manual 21<sup>st</sup> ed., 2013.
36. Council Directive 98/83/EC (3 November 1998) on the quality of water intended for human consumption.
37. Commission Directive 2009/90/EC (31 July 2009) laying down, pursuant to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council, technical specifications for chemical analysis and monitoring of water status.
38. Commission Decision 2002/657/EC (12 August 2002) implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
39. SANCO/12571/2013 (19 Nov. 2013) Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.
40. AMC technical brief No. 17, July 2004, M. Thompson (ed.), The amazing Horwitz function, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
41. Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), Pure Appl. Chem., 2001, **73**(8), 1381.
42. NATA – Technical report #17 – Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative methods, 2012.
43. E. Theodorsson, Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry, Bioanalysis, 2012, **4**(3), 305.
44. AMC technical brief No. 37, March 2009, M. Thompson (ed.), Standard additions: myth and reality, [www.rsc.org](http://www.rsc.org)
45. ISO 11843-1:1997/Cor 1:2003 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions, ISO Geneva.
46. ISO 11843-2:2007 Capability of detection – Part 2: Methodology in the linear calibration case, ISO Geneva.

47. ISO 11843-3:2002 Capability of detection – Part 3: Methodology for determination of the critical value for the response variable when no calibration data are used, ISO Geneva.
48. ISO 3534 Statistics – Vocabulary and symbols – Parts 1-3, ISO Geneva.
49. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995), *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**, 1699.
50. L. A. Currie, *Detection in analytical chemistry – Importance, theory, and practice*, ACS Symposium Series 361, American Chemical Society, Washington, DC 1988.
51. Analytical Methods Committee, Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit, *Analyst*, 1987, **112**, 199.
52. A. Shrivastava, V. B. Gupta, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles of Young Scientists*, 2011, **2**(1), 21.
53. United States Pharmacopeia, *Validation of compendial methods*, 26<sup>th</sup> revision, National Formulary, 21<sup>st</sup> ed. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention Inc., 2003.
54. Commission Regulation (EC) No 333/2007 (28 March 2007) laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs, *Off. J. EU*, L 88/29, 29 March 2007.
55. M. Valcárcel, S. Cárdenas, D. Barceló et al., *Metrology of qualitative chemical analysis*, report EUR 20605 EN, European Commission, 2002, ISBN 92-894-5194-7.
56. H. Sahai, R. P. Singh, The use of R2 as a measure of goodness of fit: An overview, *Virginia Journal of Science*, 1989, **40**(1), 5.
57. Analytical Methods Committee, Uses (proper and improper) of correlation coefficients, *Analyst*, 1988, **113**, 1469.
58. ISO 11732:2005 Water quality – Determination of ammonium nitrogen – Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection, ISO Geneva.
59. A. Menditto, M. Patriarca, B. Magnusson, Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision, *Accred. Qual. Assur.*, 2007, **12**, 45.
60. D. T. Burns, K. Danzer, A. Townshend, Use of the terms “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002), *Pure Appl. Chem.*, 2002, **74**(11), 2201.
61. S. L. R. Ellison, B. King, M. Rösslein, M. Salit, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide Traceability in chemical measurement. A guide to achieving comparable results in chemical measurement*, 1<sup>st</sup> ed, Eurachem, 2003, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
62. P. De Bièvre, R. Dybkaer, A. Fajgelj, D. Brynn Hibbert, *Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation (IUPAC Technical Report)*, *Pure Appl. Chem.*, 2011, **83**(10), 1873.
63. AMC technical brief No. 21, Sept. 2008, M. Thompson (ed.), *The estimation and use of recovery factors*, [www.rsc.org](http://www.rsc.org)
64. ISO Guide 33:2000 Uses of certified reference materials, ISO Geneva.
65. T. Linsinger, Application note 1, Rev. 3 2010. Comparison of a measurement result with the certified value, [www.erm-crm.org](http://www.erm-crm.org)
66. B. Magnusson, T. Näykki, H. Hovind, M. Krysell, *Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories*, Nordtest Report TR 537 (ed. 3.1) 2012, [www.nordtest.info](http://www.nordtest.info)
67. ISO 21748:2010 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation, ISO Geneva.
68. Eurolab, *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation*, Technical report No. 1/2007, [www.eurolab.org](http://www.eurolab.org)
69. S. L. R. Ellison, A. Williams, *Measurement uncertainty: the key to the use of recovery factors? From “The use of recovery factors in trace analysis”*, M. Parkany (ed.), RSC, Cambridge, 1996, ISBN 0-85404-736-0.

70. V. J. Barwick, S. L. R. Ellison, Measurement uncertainty: approaches to the evaluation of uncertainties associated with recovery, *Analyst*, 1999, **124**, 981.
71. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, Estimating measurement uncertainty: Reconciliation using a cause and effect approach, *Accred. Qual. Assur.*, 1998, **3**, 101-105.
72. G. E. O'Donnell, D. B. Hibbert, Treatment of bias in estimating measurement uncertainty, *Analyst*, 2005, **130**, 721.
73. B. Magnusson, S. L. R. Ellison, Treatment of uncorrected measurement bias in uncertainty estimation for chemical measurements, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, **390**, 201.
74. W. J. Youden, E. H. Steiner, *Statistical Manual of the AOAC*, AOAC International, 1975, ISBN 0-935584-15-3.
75. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**(4), 649.
76. H. Hovind, B. Magnusson, M. Krysell, U. Lund, and I. Mäkinen, *Internal quality control – Handbook for chemical laboratories*, Nordtest technical report 569, 4<sup>th</sup> ed., 2011, [www.nordtest.info](http://www.nordtest.info).
77. ISO 7870 Control charts – Parts 1-5, ISO Geneva.
78. AMC technical brief No. 9, Feb. 2002, M. Thompson (ed.), A simple fitness-for-purpose control chart based on duplicate results obtained from routine test materials, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
79. ISO/IEC 17011:2004 Conformity assessment – General requirements for accreditation bodies accrediting conformity assessment bodies, ISO Geneva.
80. ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment – General requirements for proficiency testing, ISO Geneva.
81. I. Mann, B. Brookman (eds.), *Eurachem Guide: Selection, use and interpretation of proficiency testing (PT) schemes by laboratories*, 2<sup>nd</sup> ed., Eurachem, 2011, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
82. EA-4/18 TA, *Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation*, European co-operation for Accreditation, 2010, [www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org)
83. ISO 78-2:1999 Chemistry – Layouts for standards - Part 2: Methods of chemical analysis, ISO Geneva.
84. S.L.R. Ellison, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide: Use of uncertainty information in compliance assessment*, Eurachem, 2007, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
85. R. R. Galen, S. R. Gambino, *Beyond normality: The predictive value and efficiency of medical diagnoses*, John Wiley and Sons, 1975, ISBN 978-0471290476.
86. M. S. Pepe, *The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction*, Oxford University Press, Oxford, 2003, ISBN 978-0-19-850984-4.
87. X-H. Zhou, N.A. Obuchowski, D.K. Mcclish, *Statistical methods in diagnostic medicine*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-Interscience, New York, 2011, ISBN 978-0-470-18314-4.



Telif Hakkı @2014

ISBN: 978-91-87461-59-0