|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|

|  |
| --- |
| **ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ(ЕАСС)****EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION(EASC)** |
| ЕАСС_ч-б_5х5 | **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ** **СТАНДАРТ** | **ГОСТ ISO 11843-5***(проект, BY, окончательная редакция)* |

**Статистические методы****СПОСОБНОСТЬ ОБНАРУЖЕНИЯ****Часть 5****Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки****(ISO 11843-5:2008,** **Capability of detection – Part 1: Methodoligy in the linear and non-linear calibration cases, IDT)***Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия***Минск****Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации****20\_\_** |

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Порядок разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1. ПОДГОТОВЛЕН республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный
институт метрологии» (БелГИМ) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной
версии стандарта, указанного в пункте 4
2. ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протоколом
от \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г. № \_\_\_)

За принятие стандарта проголосовали:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Сокращенное наименование национального органа по стандартизации |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 11843-5:2008 Capability of detection – Part 2: Methodology in the linear and non-linear calibration cases (Способность обнаружения. Часть 2. Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки), включая изменение Amd. 1:2017

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 6 «Методы и результаты измерений» технического комитета ISO/TC 69 «Применение статистических методов» Международной организации по стандартизации (ISO).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным органам по стандартизации этих государств

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.*

*В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»*

Содержание

[1 Область применения 1](#_Toc103699079)

[2 Нормативные ссылки 1](#_Toc103699080)

[3 Термины и определения 2](#_Toc103699081)

[4 Профиль прецизионности приведенной переменной состояния 3](#_Toc103699082)

[5 Критическое значение и минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния 4](#_Toc103699083)

[5.1 Общие положения 4](#_Toc103699084)

[5.2 Вычисления, связанные с вероятностью *α* 5](#_Toc103699085)

[5.3 Вычисления, связанные с вероятностью ***β*** 5](#_Toc103699086)

[5.4 Дифференциальный метод 5](#_Toc103699087)

[6 Примеры…… 6](#_Toc103699088)

[6.1 Общие положения 6](#_Toc103699089)

[6.2 Закон трансформирования неопределенностей 6](#_Toc103699090)

[6.3 Подбор модели 8](#_Toc103699091)

[6.4 Применение к конкурентному ELISA 8](#_Toc103699092)

[Приложение А (обязательное) Условные обозначения и сокращения, используемые в настоящем стандарте 10](#_Toc103699093)

[Приложение B (справочное) Вывод формулы (9) 11](#_Toc103699095)

[Приложение C (справочное) Вывод формулы (13) 12](#_Toc103699097)

[Библиография……………………. 13](#_Toc103699099)

[Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов](#_Toc103699100)

 [межгосударственным стандартам 14](#_Toc103699100)

**Введение**

На практике можно встретить использование как линейных, так и нелинейных калибровочных функций. В настоящем стандарте предлагается метод определения способности обнаружения, который можно применять одинаковым образом в обоих случаях, и который основан на анализе распределений вероятностей приведенной переменной состояния (измеряемой величины), а не самих калибровочных функций.

Основные положения ISO 11843-2, включая требования к вероятностям, *α* и *β*, а также случаи линейной калибровки, заимствуются настоящим стандартом без изменений. В диапазоне значений между базовым состоянием и минимальным обнаруживаемым значением может быть применена линейная калибровочная функция. Таким образом, обеспечивается совместимость настоящего стандарта с ISO 11843-2.

Настоящий стандарт рекомендуется использовать в случаях, когда необходимо выполнить сравнение двух различных аналитических методов, которые характеризуются линейной и нелинейной калибровочными функциями соответственно. В случае линейной калибровки можно применять как ISO 11843-2, так и настоящий стандарт. Применение ISO 11843-2 с построением профиля прецизионности только для переменной отклика, позволяет получить такой же результат, что и применение настоящего стандарта с построением профилей прецизионности как для переменной отклика, так и для приведенной переменной состояния, поскольку в линейном случае профиль прецизионности для переменной отклика совпадает с профилем прецизионности для приведенной переменной состояния.

**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ**

**Статистические методы**

**СПОСОБНОСТЬ ОБНАРУЖЕНИЯ**

**Часть 5**

**Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки**

Statistical methods

Capability of detection

Part 5

Methodology in the linear and non-linear calibration cases

**Дата введения \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

# 1 Область применения

В настоящем стандарте рассматриваются калибровочные функции, которые могут быть как линейными, так и нелинейными.

В нем установлены основные методы:

- построения профиля прецизионности для переменной отклика, представляющего собой описание стандартного отклонения (SD) и коэффициента вариации (CV) переменной отклика в виде функции приведенной переменной состояния;

- преобразования этого профиля прецизионности в профиль прецизионности для приведенной переменной состояния с использованием калибровочной функции;

- использования полученного профиля прецизионности для оценивания критического значения и минимального обнаруживаемого значения приведенной переменной состояния.

Методы, описанные в настоящем стандарте, могут оказаться полезными для проверки способности обнаружения конкретного вещества различными типами измерительного оборудования, к которым ISO 11843-2 не может быть применен. Положения настоящего стандарта могут применяться при проведении анализа стойких загрязняющих органических веществ (РОР) в окружающей среде, таких, например, как диоксиды, пестициды и гормоноподобные химические вещества, с помощью конкурентного ELISA (иммуноферментного анализа), а также при выполнении тестов на бактериальные эндотоксины, вызывающие у людей гипертермию.

Определение и способы применения критического значения и минимального обнаруживаемого значения приведенной переменной состояния описаны в ISO 11843-1 и ISO 11843-2. В настоящем стандарте понятия из ISO 11843-2 распространяются также на случаи нелинейной калибровки.

Критическое значение $x\_{C}$ и минимальное обнаруживаемое значение $x\_{d}$ задаются в единицах приведенной переменной состояния. Если $x\_{C}$ и $x\_{d}$ определяют на основании распределения переменной отклика, то это определение должно включать калибровочную функцию, позволяющую преобразовать переменную отклика в приведенную переменную состояния. В настоящем стандарте $x\_{C}$ и $x\_{d}$ определяют на основании распределения приведенной переменной состояния независимо от вида калибровочной функции. Следовательно, возможность определения этих значений не зависит от того, является ли функция линейной или нелинейной.

Калибровочная функция должна быть непрерывной, дифференцируемой и монотонно возрастающей или убывающей.

Кроме того в стандарте описан метод для случая, когда SD или CV известны только в окрестности минимального обнаруживаемого значения.

В настоящем стандарте приведены соответствующие примеры.

# 2 Нормативные ссылки

Следующие документы содержат положения, которые посредством ссылок в тексте представляют собой положения настоящего стандарта. Для датированных ссылок не применяют изданные к ним впоследствии поправки, или их пересмотренные публикации. Однако сторонам, заключающим соглашения на основании настоящего стандарта, рекомендуется изучить возможность применения последних изданий приведенных ниже документов. Для недатированной ссылки применяют последнее издание ссылочного документа. Организации-члены ISO и IEC ведут реестры действующих актуальных международных стандартов.

ISO 3534-1, Statistics – Vocabulary and symbols – Part 1: General statistical terms and terms used in probability (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 1. Общие термины математической статистики и термины, относящиеся к теории вероятностей)

ISO 3534-2, Statistics – Vocabulary and symbols – Part 2: Applied statistics (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 2. Прикладная статистика)

ISO 3534-3, Statistics – Vocabulary and symbols – Part 3: Design of experiments (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 3. Планирование экспериментов)

ISO 5725-1, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения)

ISO 11843-1:1997, Capability of detection — Part 1: Terms and definitions (Способность обнаружения. Часть 1. Термины и определения)

ISO 11843-2:2000, Capability of detection — Part 2: Methodology in the linear calibration case (Способность обнаружения. Часть 2. Методология в случае линейной калибровки)

# 3 Термины и определения

Для целей настоящего стандарта применяют термины и определения из ISO 3534 (все части), ISO 5725-1, ISO 11843-1, ISO 11843-2, а также следующие термины с соответствующими определениями.

**3.1 критическое значение приведенной переменной состояния** (critical value of the net state variable) $x\_{C}$: Значение приведенной переменной состояния *X*, превышение которого для заданной вероятности ошибки α приводит к решению о том, что наблюдаемая система не находится в своем базовом состоянии (см. рисунок 1).

[ISO 11843-1:1997, определение 10]

**3.2 минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния** (minimum detectable value of the net state variable) $x\_{d}$: Значение приведенной переменной состояния в фактическом состоянии, которое с вероятностью 1 – β позволяет прийти к заключению о том, что система не находится в базовом состоянии (см. рисунок 1).

Примечание − Адаптировано из ISO 11843-1:1997 (определение 11) и из ISO 11843-1:1997/Cor.1:2003.

**3.3 прецизионность** (precision 〈detection capability〉): (в задачах анализа способности обнаружения) Стандартное отклонение (SD) наблюдаемой переменной отклика или SD приведенной переменной состояния, когда их оценивание осуществляется с помощью калибровочной функции.

Примечание 1 − При необходимости в качестве прецизионности вместо SD может использоваться коэффициент вариации (CV).

Примечание 2 − В настоящем стандарте прецизионность определяется в условиях повторяемости (ISO 3534-2).

Примечание 3 − В настоящем стандарте используются термины "прецизионность" и "профиль прецизионности", а не термины "непрецизионность" и "профиль непрецизионности", обоснованием чему может служить установившаяся практика по использованию первых упомянутых терминов в большом количестве ситуаций.

**3.4 профиль прецизионности** (precision profile 〈detection capability〉): (в задачах анализа способности обнаружения) Математическое описание стандартного отклонения или коэффициента вариации переменной отклика или приведенной переменной состояния в виде функции приведенной переменной состояния.

**3.5 отклик, переменная отклика** (response variable) *Y*: Переменная, представляющая собой результат эксперимента.

[ISO 3534-3:1999 [5], определение 1.2]

Примечание 1 − Для целей серии стандартов ISO 11843 это общее определение следует понимать следующим специальным образом: непосредственно наблюдаемая замена для переменной состояния *Z*.

Примечание 2 − Переменная отклика *Y* – это случайная величина, полученная на любой стадии анализа, и если она преобразуется с помощью функции калибровки, то ее профиль прецизионности выражают в виде стандартного отклонения *σX*(*X*) приведенной переменной состояния и коэффициента вариации *ρX*(*X*) приведенной переменной состояния.

**3.6 профиль прецизионности переменной отклика** (precision profile of response variable): В настоящем стандарте непрерывный график, построенный на основании неопределенности переменной отклика, обусловленной случайными свойствами аналитических этапов, таких как, например, как пипетирование и инструментальный флуктуационный шум, а не систематическими погрешностями, представляющими собой информацию, характеризующую несовершенство оборудования.

**3.7 приведенная переменная состояния** (net state variable) *X*: Разность между переменной состояния *Z* и ее значением в базовом состоянии *z*0.

[ISO 11843-1:1997, определение 4]

Примечание − Приведенная переменная состояния *X* является детерминированной величиной на этапе, когда выполняется построение калибровочной линии, а профиль прецизионности, выраженный в виде *σX*(*X*) и *ρX*(*X*), является следствием случайности переменной отклика.



$x\_{C}$ – критическое значение приведенной переменной состояния;

$x\_{d}$ – минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния;

*X* – приведенная переменная состояния;

α – вероятность ошибки первого рода при *X* = 0;

β – вероятность ошибки второго рода при *X* = $x\_{d}$.

*a* – плотность вероятности.

Примечание − На рисунке 1 в ISO 11843-1:1997 показаны распределения переменных отклика и нелинейная калибровочная функция. На рисунке 1 в настоящем стандарте изображены распределения приведенных переменных состояния, которые с помощью углового коэффициента калибровочной функции были преобразованы из распределений переменной отклика, показанных в ISO 11843-1.

**Рисунок 1 – Распределения оценки приведенной переменной состояния в базовом состоянии
при *X* = 0 (слева) и в состоянии при** $x\_{d}$ **(справа)**

# 4 Профиль прецизионности приведенной переменной состояния

По причинам теоретического или экспериментального характера прецизионность (SD или СV) связывают с переменной отклика *Y* (а не с приведенной переменной состояния *X*). Поэтому любое рассматриваемое значение *Y* требуется преобразовать в соответствующее значение *X*, а прецизионность преобразовывается соответствующим образом, как показано на рисунке 2 ([1], [2]).



для

для

для

для

**Рисунок 2 – Преобразование неопределенности, связанной с переменной отклика,
в неопределенность, связанную с приведенной переменной состояния**

На рисунке 3 SD переменной отклика *σY*(*X*) может быть преобразовано в SD приведенной переменной отклика *σX*(*X*) с помощью абсолютного значения производной |d*Y*/d*X*| калибровочной функции: *σX*(*X*) = *σY*(*X*)/|d*Y*/d*X*|. Преобразование в CV для *X* *ρX*(*X*) может быть описано формулой

. (1)

Задавая *ρY*(*X*) в виде функции от *X*, требуемую величину *ρX*(*X*) можно записать в виде функции *X* с помощью выражения (1). Использование абсолютного значения |d*Y*/d*X*| расширяет область применения настоящего стандарта на монотонно убывающие калибровочные функции.

Примечание 1 − Если калибровочная функция является прямой линией, проходящей через начало координат (*Y* = *aX*) профиль прецизионности приведенной переменной состояния *ρX*(*X*) оказывается равным профилю прецизионности переменной отклика *ρY*(*X*). Следует обратить внимание, что *Y*/*X* = |d*Y*/d*X*| = *a*, так как *Y* = *aX*.

Примечание 2 − Выражение (1) не применимо для *X* = 0, но при этом охватывает большинство ситуаций на практике, когда с уменьшением *X* коэффициент вариации *ρX*(*X*) стремится к бесконечности до тех пор, пока SD приведенной переменной состояния *σX*(*X*) (= *ρY*(*X*)*Y*/|d*Y*/d*X*|) конечно.



**Рисунок 3 – Преобразование SD переменной отклика *σY* в SD приведенной переменной состояния *σX*
с помощью абсолютного значения производной |d*Y*/d*X*| калибровочной кривой**

# 5 Критическое значение и минимальное обнаруживаемое значение приведенной  переменной состояния

# 5.1 Общие положения

Все приведенные ниже определения основаны на распределении вероятностей приведенной переменной состояния.

Критическое значение *x*c определяют по формуле

*x*c = *k*c*σX*(0), (2)

где *k*c – коэффициент, определяемый в зависимости от α;

 *X*(0) – SD при *X* = 0.

Если используется зависимость такая, что *σX*(0) = *σY*(0)/|d*Y*/d*X*|, выражение (2) может быть записано в виде *x*c = *k*c*σY*(0)/|d*Y*/d*X*|.

Минимальное обнаруживаемое значение *x*d определяют по формуле

*x*d = *x*c + *k*d*σX*(*x*d) (3)

где *k*d – коэффициент, определяемый в зависимости от β;

 *σX*(*x*d) – SD при *X* = *x*d (см. рисунок 1)

Профиль прецизионности *σX*(*X*) (см. 3.4) необходим для определения как критического значения *x*c, так и минимального обнаруживаемого значения *x*d.

Примечание 1 − Если приведенная переменная состояния распределена по нормальному закону, то вероятностям *α* = *β* = 0,05 соответствуют коэффициенты *k*c = *k*d = 1,65.

Примечание 2 − В случае предположения о том, что *σX*(*X*) является постоянной величиной (*σX*(*X*) = *σX*) и *k*c = *k*d = 1,65, формулы (2) and (3) могут быть упрощены до вида *x*c = 1,65*σX* и *x*d = 3,30*σX*.

## 5.2 Вычисления, связанные с вероятностью *α*

Если имеется SD для *X* = 0, то вместо *X*(*x*d) используют *X*(0), а формулы для определения *x*c и *x*d принимают вид

*x*c = *k*c*σX*(0), (4)

*x*d = (*k*c + *k*d)*σX*(0). (5)

В этом случае формула (4) является такой же, как и формула (2), а вероятность *α* равна вероятности, принятой в соответствии с общим определением. Однако вероятность *β* может отличаться от исходной вероятности *β*. Для выполнения этих вычислений не требуется построение полного профиля прецизионности *σX*(*X*).

Примечание − В случае предположения о том, что *σX*(*X*) является постоянной величиной (*σX*(*X*) = *σX*) и *k*c = *k*d = 1,65, формулы (4) и (5) могут быть упрощены до вида *x*c = 1,65*σX* и *x*d = 3,30*σX*.

## 5.3 Вычисления, связанные с вероятностью *β*

Если в 5.2 вместо *σX*(0) используют *σX*(*x*d), то формулы для определения *x*c и *x*d принимают вид

*x*c = *k*c*σX*(*x*d), (6)

*x*d = (*k*c + *k*d)*σX*(*x*d). (7)

В этом случае вероятность *β* равна вероятности, принятой в соответствии с общим определением, но вероятность *α* может отличаться от исходной вероятности *α*.

Примечание − В случае частного предположения о том, что *σX*(*X*) является постоянной величиной (*σX*(*X*) = *σX*) и *k*c = *k*d = 1,65, формулы (6) и (7) могут быть упрощены до вида *x*c = 1,65*σX* и *x*d = 3,30*σX*.

## 5.4 Дифференциальный метод

|  |
| --- |
| Формулы в 5.3 имеют преимущество на практике, если их выразить в виде формулы (1). Формула (7) может быть записана в виде***(Измененная редакция, Amd.1:2017)*** |

*ρX*(*x*d) = *σX*(*x*d)/*x*d = 1/(*k*c + *k*d). (8)

Это уравнение позволяет получить CV приведенной переменной состояния при *X* = *x*d. Преимущество формулы (8) состоит в том, что минимальное обнаруживаемое значение *x*d может быть определено как значение приведенной переменной состояния, для которого CV ожидаемого значения приведенной переменной состояния будет равен 1/(*k*c + *k*d) × 100 %. Для нахождения *x*c и *x*d требуется построение непрерывного профиля прецизионности *σX*(*X*).

Так как угловой коэффициент d*Y*/dlg *X* полулогарифмического графика (*Y* в зависимости от lg *X*) калибровочной функции изменяется в зависимости от приведенной переменной состояния *X*, угловой коэффициент принимает конкретное значение при минимальном обнаруживаемом значении

, (9)

где член в левой части обозначает абсолютное значение производной |d*Y*/dlg *X*| при *X* = *x*d (ln 10 = 2,303).

Эта выражение представляет собой общее правило для калибровочных кривых и является справедливым вне зависимости от формы калибровочной кривой (линейной или нелинейной). Вывод формулы (9) приводится в приложении В.

|  |
| --- |
| Примечание 1 − Если *k*c = *k*d = 1,65, формула (8) может быть записана в виде *ρ*X(*X*) = 1/3,30 = 30 %. Значение *x*d находится в точке *X*, CV которой составляет 30 %.***(Измененная редакция, Amd.1:2017)*** |

Примечание 2 − Если *k*c = *k*d = 1,65, формула (8) может быть записана в виде

, (10)

где постоянное значение, равное 0,132, определяется как 1/(3,3∙2,303).

# 6 Примеры

## 6.1 Общие положения

В подпунктах 6.2 и 6.3 сделан акцент на то, каким образом оценивают профиль прецизионности (см. 3.4), который представляют с помощью SD или CV переменной отклика. Окончательная величина *ρX*(*X*) может быть получена путем преобразования из непрерывного графика SD или CV переменной отклика, как это показано в разделе 4.

В примере в 6.4 показано применение дифференциального метода в случае использования конкурентного иммуноферментного анализа (ELISA). В 6.4 показано, что калибровочная функция для конкурентного ELISA как правило является нелинейной, но предположение о линейности оказывается справедливым на уровнях, близких к минимальному обнаруживаемому значению.

## 6.2 Закон трансформирования неопределенностей

В качестве примера взят конкурентный ELISA для 17-α-гидроксипрогестерона. Экспериментальные этапы этой процедуры показаны на рисунке 4. Это исследование выполняется на микропланшете, который содержит 96 ячеек. Калибровочная линия строится для некоторой площади на микропланшете, а фактический анализ проб выполняется на других ячейках этого же микропланшета. Здесь рассматривается внутрипланшетная неопределенность.

Неопределенность конкурентного ELISA в основном обусловлена конкурентной реакцией между пробой и меченым антигеном. Переменная отклика *Y* (здесь измеренная абсорбция) является пропорциональной меченому антигену в комбинации с антителом (антисывороткой) на поверхности ячейки микропланшета [1]

,

где

*X* – количество пробы (приведенная переменная отклика);

*G –* количество меченного антигена;

*B* – количество антител.

На основании применения закона трансформирования неопределенностей [3] к этапам исследования, CV в квадрате *ρY*(*X*)2 для переменной отклика *Y* получают как [1]

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  (11)где

|  |  |
| --- | --- |
| *X* | - количество пробы (приведенная переменная состояния); |
| *Y* | - измеренная абсорбция (переменная отклика), которая может быть заменена калибровочной функцией; |
| *G* | - количество меченого антигена (0,1 мкг/л); |
| *ρX* | - CV пипетированных объемов пробы (0,9 %); |
| *ρG* | - CV пипетированных объемов меченного антигена (0,9 %); |
| *ρB* | - CV пипетированных объемов антисыворотки (1,9 %); |
| *ρS* | - 2/3∙(CV пипетированных объемов раствора субстрата хромогена), где коэффициент 2/3 используется для преобразования погрешности объема пипетки в погрешность образования хромогена, который возникает на поверхности лунки микропланшета (0,6 %); |
| *σW* | - SD измеренной абсорбции среди ячеек микропланшета, которое является постоянной величиной до тех пор, пока оно рассматривается в качестве внутрипланшетной неопределенности (0,002 от абсорбции); |
| *σN* | - SD интенсивностей шума, возникающих на исходном уровне (Был сделан вывод о том, что этот краевой эффект является настолько малым, что его невозможно учесть, поэтому принято предположение, что *σN* = 0). |

***(Измененная редакция, Amd.1:2017)*** |

Окончательная величина прецизионности *ρX*(*X*) может быть вычислена по формуле (11), как это показано на рисунке 2.

Пипетирование пробы объемом 50 мкл

Пипетирование меченого антигена объемом 50 мкл

Пипетирование антисыворотки объемом 50 мкл

Инкубация

Промывка и слив

Пипетирование субстрата объемом 100 мкл

Выдерживание в течение 30 мин

Пипетирование стоп-реагента объемом 100 мкл

**Рисунок 4 – Экспериментальные этапы конкурентного ELISA**

Профиль прецизионности *ρX*(*X*) для этого примера приведен на рисунке 5. CV *ρX*(*X*) вычисляется по формуле (11) с использованием фактических параметров, описанных выше, и выражается в процентах. Если применяются формулы из 5.3, минимальное обнаруживаемое значение *x*d может определяться на основании профиля прецизионности (см. стрелку на рисунке 5). Способ получения
30 %-ного CV приводится в примечании 1 к 5.4.

Профили прецизионности с использованием обычной и полулогарифмической шкал приводят к получению одного и того же минимального обнаруживаемого значения. На рисунке 5 b) не показана точка для *X* = 0,а также СV для нее. Однако это обстоятельство не представляет собой проблему ни в теоретическом, ни в практическом плане, так как требование настоящего стандарта к минимальному обнаруживаемому значению состоит в том, чтобы значение CV выражалось в виде профиля прецизионности, построенного в окрестности минимального обнаруживаемого значения.



мг/л

а) обычная шкала



мг/л

b) полулогарифмический график

**Рисунок 5 – СV приведенной переменной состояния *ρX*(*X*) (профиль прецизионности) и минимальное
обнаруживаемое значение *x*d, изображенные в графическом виде с использованием обычной шкалы и
полулогарифмического графика, для конкурентного ELISA, применяемого для определения
17-α-гидроксипрогестерона**

## 6.3 Подбор модели

При проведении иммунологических анализов дисперсии переменной отклика могут быть аппроксимированы степенной моделью вида [2]

*σY*(*X*)2 ∝ *Yj*, (12)

где *σY*(*X*) – SD переменной отклика *Y*. Если *j* = 0, то дисперсия является постоянной величиной. Если *j* = 1, то дисперсия пропорциональна переменной отклика. Если *j* = 2, то CV *ρY*(*X*) переменной отклика является постоянной величиной. Коэффициент пропорциональности может быть определен посредством подбора методом наименьших квадратов.

## 6.4 Применение к конкурентному ELISA

В конкурентном ELISA часто используется стандартизованная калибровочная кривая, обозначаемая как *B*/*B*0, а формула (10) может быть записана в виде [4]

, (13)

где *ρY*(*x*d) – CV отклика при *x*d. Вывод формулы (13) приведен в приложении С.

Минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния может быть найдено на основании углового коэффициента, определяемого по формуле (13). На рисунке 6 показана полулогарифмическая кривая *B*/*B*0 для конкурентного ELISA, применяемого для определения 17-α-гидроксипрогестерона (такого же, как и в примере 6.2). Если наблюдаемый CV отклика составляет 1,9 %, то для аппроксимации используется CV при низкой концентрации в пробе [≈ *ρY*(*x*d)], а формула (13) приводит к получению значения 0,15 (= 0,019 / 0,132).

Оценивание *x*d на основании графика выполняют следующим образом (см. рисунок 6):

- Этап 1: в нижнем левом углу строят прямую линию, имеющую угловой коэффициент, вычисленный по формуле (13) с использованием соответствующих шкал;

- Этап 2: строят касательную к кривой *B*/*B*0 с таким же угловым коэффициентом, который был использован на этапе 1;

- Этап 3: опускают перпендикуляр из точки касания на ось Х.

Точка пересечения перпендикуляра и оси Х соответствует *x*d. Этот метод приводит почти к такому же результату, что и в примере 6.2 (сравните рисунки 5 и 6).



мг/л

1, 2, 3 – этапы 1, 2, 3, описанные в 6.4

**Рисунок 6 – Полулогарифмический график кривой *B*/*B*0 для конкурентного ELISA, применяемого для определения 17-α-гидроксипрогестерона**

# Приложение А(обязательное)

# Условные обозначения и сокращения, используемые в настоящем стандарте

|  |  |
| --- | --- |
| SD | стандартное отклонение |
| CV | коэффициент вариации (SD, деленное на среднее) |
| POP | стойкое загрязняющее органическое вещество |
| ELISA | иммуноферментный анализ |
| *X* | приведенная переменная состояния |
| $$Y$$ | переменная отклика |
| $$x\_{C}$$ | критическое значение приведенной переменной состояния |
| $$x\_{d}$$ | минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния |
| *k*c | коэффициент, определяемый в зависимости от *α* |
| *k*d | коэффициент, определяемый в зависимости от *β* |
| *α* | вероятность ошибки первого рода при *X* = 0 |
| *β* | вероятность ошибки второго рода при *X* = *x*d |
| *σY*(*X*) | SD переменной отклика в виде функции от *X* |
| *ρY*(*X*) | СV переменной отклика в виде функции от *X* |
| *σX*(*X*) | SD приведенной переменной состояния в виде функции от *X* |
| *ρX*(*X*) | СV приведенной переменной состояния в виде функции от *X* |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|

|  |  |
| --- | --- |
| |d*Y*/d*X*| | абсолютное значение производной калибровочной функции  |

***(Измененная редакция, Amd.1:2017)*** |

|  |  |
| --- | --- |
| *B*/*B*0 | отношение результатов измерений для некоторой дозы к результатам измерений для нулевой дозы |

# Приложение B(справочное)

# Вывод формулы (9)

Для изменения формулы (7), по которой определяют *x*d, можно преобразовать уравнение (1), как показано ниже

,

,

где в случае, когда угловой коэффициент принимает отрицательное значение, используется абсолютное значение производной. Неизвестные переменные *x*d могут быть исключены из приведенной выше формулы следующим образом

.

Преобразование натурального логарифма в десятичный логарифм для практической цели (In *X* = 2,303 lg *X*) позволяет получить искомую формулу (9). См. также [4].

# Приложение C(справочное)

# Вывод формулы (13)

В конкурентном ELISA калибровочную кривую как правило задают логистической функцией с четырьмя параметрами



и ее стандартный вид задается как *B*/*B*0

,

где *C*0, *C*1, *C*2 и *C*3 – коэффициенты, определяемые методом наименьших квадратов по фактическим данным калибровки. Подставляя зависимость d*Y* = (*C*0 − *C*3)d*B*/*B*0 в формулу (10) получают

.

Так как коэффициент *C*0 обозначает наибольший отклик для холостой пробы (*X* = 0), а *C*3 – наименьший отклик при бесконечной концентрации (*X* = ∞), *σY*(*X*)/(*C*0 − *C*3) приближенно равно *σY*(*X*)/*C*0. Предположим, что *ρY*(*X*) определяют как

,

где *σY*(*X*)/*C*0 - CV для отклика, полученного для холостой пробы, *ρY*(0). Последние две формулы приводят к формуле (13). См. также [4].

# Библиография

|  |  |
| --- | --- |
| [1]  | HAYASHI, Y., MATSUDA, R., MAITANI, T., IMAI, K., NISHIMURA, W., ITO, K. and MAEDA, M. Precision, limit of detection and range of quantitation in competitive ELISA. Anal. Chem., 76(5), 2004, pp. 1 295-1 301 |
| [2]  | Dudley, R.A., Edwards, P., Ekins, R.P., Finney, D.J., McKenzie, I.G.M., Raab, G.M., Rodbard, D. and Rodgers, R.P.C. Guidelines for immunoassay data processing. *Clin. Chem.*,**31**(8), 1985, pp. 1 264-1 271 |
| [3]  | *Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1993[[1]](#footnote-1) |
| [4] | Hayashi, Y., Matsuda, R., Ito, K., Nishimura, W., Imai, K. and Maeda, M. Detection limit estimated from slope of calibration curve: An application to competitive Elisa. *Anal. Sci.*, **21**, 2005, pp. 167-169 |
| [5] | ISO 3534-3:1999[[2]](#footnote-2), *Statistics — Vocabulary and symbols — Part 3: Design of experiments* |

# Приложение ДА(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов
межгосударственным стандартам

Таблица ДA.1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Обозначение ссылочного международного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование соответствующегомежгосударственного стандарта |
| ISO 3534-1 | - | \* |
| ISO 3534-2 | - | \* |
| ISO 3534-3 | - | \* |
| ISO 5725-1 | IDT | ГОСТ ИСО 5725-1-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения |
| ISO 11843-1:1997 | - | \* |
| ISO 11843-2:2000 | - | \* |
| \* Соответствующий государственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык международного (европейского) стандарта или его официальный экземпляр на английском языке. Официальный перевод данного международного (европейского) стандарта и/или его официальный экземпляр на английском языке имеются в Национальном фонде ТНПА. |

УДК  МКС 17.020, 01.040.03, 03.120.30 IDT

**Ключевые слова:** переменная состояния, переменная отклика, калибровочная функция, стандартное отклонение, коэффициент вариации, профиль прецизионности, критическое значение, минимальное обнаруживаемое значение

Республиканское унитарное предприятие «Белорусский государственный институт метрологии»

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Директор БелГИМ |  | А. В. Казачок |
| Заместитель директора по оценке соответствия БелГИМ |  | А.Д. Шевцова-Ронина |
| Начальник НИО законодательной и теоретической метрологии, НТП |  | Т. К. Толочко |
| Начальник сектора НИО законодательной и теоретической метрологии, НТП |  | А. Г. Сельванович |
| Ведущий инженер НИО законодательной и теоретической метрологии, НТП |  | Н. Ю. Ефремова |

1. Откорректировано и переиздано в 1995 году [↑](#footnote-ref-1)
2. В настоящее время действует ISO 3534-3:2013 [↑](#footnote-ref-2)