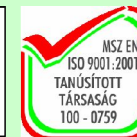




WIL-ZONE TANÁCSADÓ IRODA



Berényi Vilmos

vegyész, analitikai kémiai szakmérnök
akkreditált minőségügyi rendszermenedzser
regisztrált vezető felülvizsgáló

Telefon és fax: 06-33-319-117

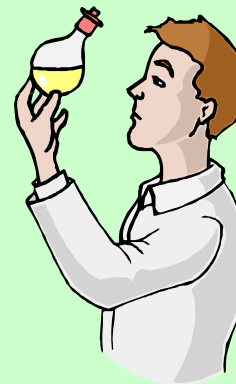
E-mail: info@wil-zone.hu

Mobil: 06-70-380-67-68

www.wil-zone.hu



Validálás: áldás vagy átok?



Statisztikai értékelés

- Táblázatos
- Grafikus
- Leíró
- Magyarázó
- Teljes körű
- Következtetések
- Figyelembe véve a mérési és mintavételi bizonytalanságot
- Extrapolációk
- Nulladrendű kinetikát tételezzünk fel a bomlásban
- Regressziós analízis
- Tömegmérleg?
- Worst case feltételezéssel?
- Paraméterbecslések (pont és intervallum)
- Szakmai (DL, QL)

A **leíró statisztika** célja a minta adatainak áttekinthető formába történő rendezése, tömörítése, az adatok grafikus megjelenítése, ábrázolása és egyes jellemző értékeinek meghatározása.

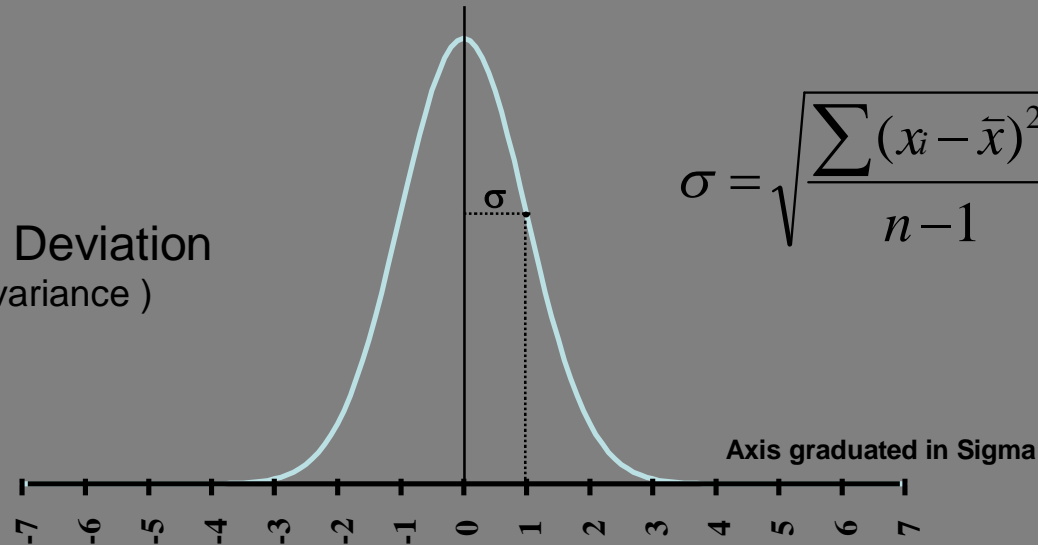
Értékelés: leíró statisztikák

- a minta elemszáma (mintanagyság)
- maximum
- minimum
- mintaterjedelem
- számtani átlag
- szórás (tapasztalati szórás)
- variancia (tapasztalati szórásnégyzet)
- variációs koefficiens
- rendezett minta
- kvantilisek
 - medián
 - kvartilisek
 - percentilisek
- módusz
- kronológikus átlag
- mozgó átlag
- ferdeség, torzultság
- konfidencia-intervallumok

A Six Sigma-filozófia

Sigma = σ = Deviation
(Square root of variance)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$



between +/- 1 σ	68.27 %	result: 317300 ppm outside (deviation)
between +/- 2 σ	95.45 %	45500 ppm
between +/- 3 σ	99.73 %	2700 ppm
between +/- 4 σ	99.9937 %	63 ppm
between +/- 5 σ	99.999943 %	0.57 ppm
between +/- 6 σ	99.9999998 %	0.002 ppm

További módszerek

- **Egymintás t-próba**
 - Szennyezettség mértéke adott határ alatt
- **Kétmintás t-próba**
 - Változtatás előtti és utáni eredmények összehasonlítása
- **Páros t-próba**
 - Végeredmény és IPC-eredmény összehasonlítása páronként
- **F-próba**
 - bizonyos paraméter szórása egy adott határérték alatt
- **Variancia-analízis**
 - minták, műszerek, laboránsok, napok közötti egyezőség

- **Egymintás próbák: csak egy mintánk van, az ebből számított statisztikát hasonlítjuk valamely elméleti megfontolásokból származtatott értékhez.**
 - Egymintás t-próba
- **Páros tesztek: két mintánk van, de a minták elemei valamilyen szempont szerint párokba rendezhetők,**
 - Páros t-próba
- **Két- vagy többmintás próbák: két vagy több egymástól független mintánk van, ezeket akarjuk valamilyen szempont szerint összehasonlítani.**
 - Kétmintás t-próba, varianciaanalízis (ANOVA, MANOVA)

Egymintás t-próba

- Egymintás t-próbával vizsgáljuk, vajon mintánk származhat-e egy adott átlagú populációból.

- Hipotézispár:

- $H_0: \mu = \mu_0$

- $H_1: \mu \neq \mu_0$

$$t = \frac{\bar{x}_n - \mu_0}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = \frac{\bar{x}_n - \mu_0}{\sigma_{\bar{X}}}$$

- A tesztstatisztika t eloszlást követ $df=n-1$ szabadsági fokkal. Feltételek: a változó normális eloszlása.

Kétmintás t-próba

- Két egymástól függetlenül vett minta származhat-e azonos átlagú populációból.

Hipotézis pár:

- $H_0: \mu_1 = \mu_2$
- $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

- ahol μ_1 es μ_2 a két mintázott populáció átlaga.

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 \pm t_{\min(n_1-1, n_2-1)}^* \left(\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}} \right)$$

Kétmintás t-próba

- Feltételek:
 - a két minta normális eloszlású populációkból származik,
 - a két mintában a varianciák megegyeznek,
 - kétoldali teszt esetén, ha a szignifikancia szint nem nagyon kicsi (pl. csak 5%), és ha a mintanagyságok megegyeznek akkor a t-próba nem nagyon érzékeny a feltételek sérülésére.

Páros t-próba

- Párokba rendezhető két mintán végezzük annak eldöntésére, vajon a két minta származhat-e azonos átlagú populációból.
- Hipotézispár:
 - $H_0 : \mu_d = \mu_0$
 - $H_1 : \mu_d \neq \mu_0$
- ahol μ_d a párokból képzett különbség átlaga.
- Feltételek: a különbségek eloszlása normális legyen.

F-próba

- Két egymástól függetlenül vett minta származhat-e azonos varianciájú populációból.
- Hipotézispár:
- $H_0: \sigma^2_1 = \sigma^2_2$
- $H_1: \sigma^2_1 \neq \sigma^2_2$
- Feltételek:
 - A mintázott populációk normális eloszlása.
 - A próba nagyon érzékeny a normálistól való eltérésre, használata korlátozott.

Szórásnégyzet próbája

$$H_0: \sigma^2 = \sigma_0^2$$

$$H_1: \sigma^2 \neq \sigma_0^2 \quad \chi^2_{sz} < \chi^2_{\alpha/2} \vee \chi^2_{sz} > \chi^2_{1-\alpha/2}$$

$$H_1: \sigma^2 > \sigma_0^2 \quad \chi^2_{sz} > \chi^2_{1-\alpha}$$

$$H_1: \sigma^2 < \sigma_0^2 \quad \chi^2_{sz} < \chi^2_{\alpha}$$

$$\chi^2_{sz} = \frac{(n-1)s^{*2}}{\sigma_0^2}$$

Variancia analízis (ANOVA)

- A sokféle kísérleti elrendezésből származó minták középértékeinek összehasonlítására való kiértékelési módszer.
- Egyszempontos variancia-analízis : több független, normális eloszlású populáció középértékének összehasonlítása
- Az egyszempontos variancia-analízis a kétmintás t-próba általánosítása több független csoport esetére,
- a várható értékeket hasonlítja össze, mégpedig a teljes variancia felbontásával.

Variancia analízis (ANOVA)

- a varianciát kétféleképpen is kiszámoljuk, az egyik a *mintákon belüli*, a másik a *minták közötti* variancia becslése.
- Ha igaz H_0 , akkor mindkét módon ugyanazt a varianciát becsültük, tehát a varianciáknak egyenlőknek kell lenniük, így az előző nullhipotézis helyett a következőt teszteljük:
 - H_0' : $s^2_{\text{között}} = s^2_{\text{belül}}$
 - H_a' : $s^2_{\text{között}} > s^2_{\text{belül}}$

Variancia analízis (ANOVA)

- egyszempontos variancia analízis, ezért van a teljes eltérés-négyzetösszeg csak két részre felbontva, egy faktor (minták közötti) és egy hibatagra (mintákon belüli)
- Általában igaz, hogy ha a kísérletünk több változót eredményez, akkor a két minta összehasonlítására vonatkozó módszerek páronkénti alkalmazása nem megfelelő
- A két szórásbecslés hányadosa, mint statisztika az F eloszlást követi (a számlálóban és a nevezőben lévő szórásbecslések szabadságfokaival jellemzett F eloszlást).

ANOVA

- Ha a variancia-analízis eredménye nem szignifikáns, akkor az analízisnek vége, és azt modjuk, hogy a várható értékek között nincs különbség.
- Ha a variancia-analízis eredménye szignifikáns (a populációk átlagai között van legalább egy, a többitől eltérő)
 - páronként össze kell hasonlítanunk az átlagokat

$$t = \frac{|\bar{x}_i - \bar{x}_j|}{s_b \sqrt{\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j}}}$$

A négyzetes összeg összetevői egy szempont esetén

Az **A** szempont szóródása

A **véletlen** okozta szóródás

A szóródás oka	Négyzetösszeg	Szabadságfok	Variancia	F
Minták között	$Q_k = \sum_{i=1}^h n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	h-1	$s_k^2 = \frac{Q_k}{h-1}$	$F = \frac{s_k^2}{s_b^2}$
Mintákon belül	$Q_b = \sum_{i=1}^h \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	N-h	$s_b^2 = \frac{Q_b}{N-h}$	
Teljes	$Q = \sum_{i=1}^h \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x})^2$	N-1		

MANOVA

- Ha a változónk értékét egy másik tényező is befolyásolja,
- a teljes eltérésnégyzetösszeg több részre bontható fel,
- külön vizsgálható a két szempont hatása és a két hatás kölcsönhatása is
- Az ilyen analízist *kétszemponthos variancia analízisnek* nevezzük

A négyzetes összeg összetevői Két szempont esetén

Az **A szempont** szóródása

A **B szempont** szóródása

Az **A x B** szempontok
kölcsönhatásának szóródása

A **véletlen** okozta szóródás

ANOVA-feltételek

- Normális eloszlás
- véletlen mintavétel
- a hiba varianciák függetlensége
- a varianciák homogenitása, egyformasága (homoscedaszticitás)
- **Az ANOVA robusztus eljárás, azaz a feltételek kisebb-nagyobb mértékű nem teljesülése nem rontja el a következtetések érvényességét, nem növeli meg jelentősen a hibás döntések számát**

Microsoft Excel - Munkafüzet1

Fájl Szerkesztés Nézet Beszúrás Formátum Eszközök Adatok Ablak Súgó

Times New Roman CE 10

A1 =

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														

Adatelemzés

Elemző módszerek

- Egytényezős varianciaanalízis
- Kéttényezős varianciaanalízis ismétlésekkel
- Kéttényezős varianciaanalízis ismétlések nélkül
- Korrelációanalízis
- Kovarianciaanalízis
- Leíró statisztika**
- Exponenciális simítás
- Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre
- Fourier-analízis
- Hisztogram

OK
Mégse
Súgó

Munka1 Munka2 Munka3

Kész NUM

Start Beérkezett üzenetek - Outl... Microsoft Excel - Mun... Microsoft Word - Dokumen... 8:48

Microsoft Excel - Munkafüzet1

Fájl Szerkesztés Nézet Beszúrás Formátum Eszközök Adatok Ablak Súgó

Times New Roman CE 10

A1 =

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														

Adatelemzés

Elemző módszerek

- Hisztogram
- Mozgóátlag
- Véletlenszám-generálás
- Rangsor és százalékos rangsor
- Regresszió
- Mintavétel
- Kétmintás párosított t-próba a várható értékre
- Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél
- Kétmintás t-próba nem-egyenlő szórásnégyzeteknél
- Kétmintás z-próba a várható értékre

OK

Mégse

Súgó

Munka1 Munka2 Munka3

Kész

NUM

Start Beérkezett üzenetek - Outl... Microsoft Excel - Mun... 8:47

EXCEL-megoldások

z-Test: Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,2	2,332857143
Known Variance	0,1	0,1
Observations	7	7
Hypothesized Mean Differer	0	
z	-0,785993457	
P(Z<=z) one-tail	0,215935593	
z Critical one-tail	1,644853	
P(Z<=z) two-tail	0,431871185	
z Critical two-tail	1,959961082	

Kétmintás z-próba a várható értékre

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,2	2,332857143
Ismert variancia	0,1	0,1
Megfigyelések	7	7
Feltételezett átlagos elt	0	
z	-0,78599346	
P(Z<=z) egyszélű	0,215935593	
z kritikus egyszélű	1,644853	
P(Z<=z) kétszélű	0,431871185	
z kritikus kétszélű	1,959961082	

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,2	2,332857143
Variance	0,01	0,013557143
Observations	7	7
Pooled Variance	0,011778571	
Hypothesized Mean Differer	0	
df	12	
t Stat	-2,290195836	
P(T<=t) one-tail	0,020458518	
t Critical one-tail	1,782286745	
P(T<=t) two-tail	0,040917037	
t Critical two-tail	2,178812792	

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,2	2,332857143
Variancia	0,01	0,013557143
Megfigyelések	7	7
Súlyozott variancia	0,011778571	
Feltételezett átlagos elt	0	
df	12	
t érték	-2,29019584	
P(T<=t) egyszélű	0,020458518	
t kritikus egyszélű	1,782286745	
P(T<=t) kétszélű	0,040917037	25

EXCEL-megoldások

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,2	2,332857143
Variance	0,01	0,013557143
Observations	7	7
Hypothesized Mean Differer	0	
df	12	
t Stat	-2,290195836	
P(T<=t) one-tail	0,020458518	
t Critical one-tail	1,782286745	
P(T<=t) two-tail	0,040917037	
t Critical two-tail	2,178812792	

Kétmintás t-próba nem-egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,2	2,332857143
Variancia	0,01	0,013557143
Megfigyelések	7	7
Feltételezett átlagos elt	0	
df	12	
t érték	-2,29019584	
P(T<=t) egyszélű	0,020458518	
t kritikus egyszélű	1,782286745	
P(T<=t) kétszélű	0,040917037	
t kritikus kétszélű	2,178812792	

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,2	2,332857143
Variance	0,01	0,013557143
Observations	7	7
Pearson Correlation	-0,42942361	
Hypothesized Mean Differer	0	
df	6	
t Stat	-1,918851828	
P(T<=t) one-tail	0,051715328	
t Critical one-tail	1,943180905	
P(T<=t) two-tail	0,103430656	

Kétmintás párosított t-próba a várható értékre

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,2	2,332857143
Variancia	0,01	0,013557143
Megfigyelések	7	7
Pearson-féle korreláci	-0,42942361	
Feltételezett átlagos elt	0	
df	6	
t érték	-1,91885183	
P(T<=t) egyszélű	0,051715328	
t kritikus egyszélű	1,943180905	
P(T<=t) kétszélű	0,103430656	

EXCEL-megoldások

F-Test Two-Sample for Variances

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,2	2,332857143
Variance	0,01	0,013557143
Observations	7	7
df	6	6
F	0,737618546	
P(F<=f) one-tail	0,360574082	
F Critical one-tail	0,233434605	

Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,2	2,332857143
Variancia	0,01	0,013557143
Megfigyelések	7	7
df	6	6
F	0,737618546	
P(F<=f) egyszélű	0,360574082	
F kritikus egyszélű	0,233434605	

EXCEL-megoldások

Anova: Single Factor

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
Column 1	7	15,4	2,2	0,01
Column 2	7	16,33	2,332857	0,013557143

ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,061778571	1	0,061779	5,244996968	0,040917037	4,747221283
Within Groups	0,141342857	12	0,011779			

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Oszlop 1	7	15,4	2,2	0,01
Oszlop 2	7	16,33	2,332857	0,013557143

VARIANCIANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	0,061778571	1	0,061779	5,244996968	0,040917037	4,747221283
Csoporton belül	0,141342857	12	0,011779			

• VALIDÁLÁS

- “A VALIDÁLÁS ANNAK MEGERŐSÍTÉSE (MEGVIZSGÁLÁS ÉS OBJEKTÍV IGAZOLÁS ÚTJÁN), HOGY A KONKRÉT SZÁNDÉK SZERINTI FELHASZNÁLÁS SAJÁTOS KÖVETELMÉNYI TELJESÜLTEK” (MSZ EN ISO/IEC 17025)
- “BIZONYÍTÁSI ELJÁRÁS, AMELYNEK SEGÍTSÉGÉVEL IGAZOLHATÓ, HOGY AZ ADOTT FOLYAMAT, MŰVELET, BERENDEZÉS, ANYAG, TEVÉKENYSÉG VAGY RENDSZER VALÓBAN ELEGET TESZ AZ ELŐÍRT KÍVÁNALMAKNAK” (GMP-TÖRVÉNY)
- “ANNAK DOKUMENTÁLT BIZONYÍTÉKOK ALAPJÁN NYÚJTOTT NAGYFOKÚ BIZTOSÍTÉKA, HOGY A MÓDSZER OLYAN EREDMÉNYEKET PRODUKÁL, AMELYEK A VIZSGÁLT TERMÉK MINŐSÉGI JELLEMZŐIT PONTOSAN TÜKRÖZIK” (FDA, 1996)

“A VALIDÁLÁS A VIZSGÁLATI (ANALITIKAI) MÓDSZEREK ÉRVÉNYESÍTÉSE. OLYAN TEVÉKENYSÉGEK ÖSSZESEN, AMELYEK A MÓDSZER TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐINEK A MEGHATÁROZÁSÁT CÉLOZZÁK ÉS EZÁLTAL LEHETŐVÉ TESZIK ANNAK ELDÖNTÉSÉT, HOGY AZ ANALITIKAI MÓDSZER (KIDOLGOZOTT, ÁTVETT, MÓDOSÍTOTT, FELÚJÍTOTT) ÉS ESZKÖZRENDSZERE ALKALMAS-E AZ ADOTT FELADAT ELVÉGZÉSÉRE” (NAT)

- Magyarul: a validálás során azt bizonyítjuk, hogy **a módszer alkalmas arra a célra, amelyre fel kívánjuk használni.**
- A validálás alapja: a módszer teljesítményjellemzőinek egy előre definiált követelményrendszer szerinti meghatározása és/vagy igazolása
- Az alkalmasság-vizsgálat kiterjed:
 - az analitikai rendszerre,
 - az analitikai módszerre, valamint
 - a vizsgáló laboratóriumra és személyzetére

- **A VALIDÁLÁS FELTÉTELRENDSZERE**
 - **MINŐSÍTETT KÖRNYEZET: IQ, OQ, ELLENŐRZÖTT ÉS/VAGY KALIBRÁLT-HITELES KÉSZÜLÉKEK, MEGELŐZŐ KARBANTARTÁS**
 - **ANALITIKAI ELŐIRAT ÉS A KÉSZÜLÉKRE VONATKOZÓ UTASÍTÁSOK**
 - **(KEZELÉS, KARBANTARTÁS, TISZTÍTÁS, ELLENŐRZÉS, KALIBRÁCIÓ)**
 - **KÉPZÉS, FELHATALMAZOTT ÉS TAPASZTALT SZEMÉLYZET**
 - **VALIDÁLT SZÁMÍTÓGÉPES KÖRNYEZET**
 - **FEJLESZTÉSI JELENTÉS, OPTIMÁLT MÓDSZER**

MÓDSZERTAN (1/A)

- VALIDÁLÁSI TERV (PROTOKOLL)

KÉSZÍTÉSE

Az analitikai módszer alkalmazásával, használhatóságával szemben követelményeket támasztunk, melyeket a módszer elvi lehetőségeiből, a rendelkezésre álló eszközök adottságaiból fakadnak, másrészüket pedig minőségi követelmények, törvényi előírások, vagy éppen a megbízók szabnak meg

MÓDSZERTAN (1/B)

- A *validálási tervnek mindenképpen tartalmaznia kell:*

az analízis célját,

a meghatározandó alkotók minőségi és mennyiségi követelményeit,

a mennyiségek (koncentrációk) nagyságrendjét,

a rendszer alkalmasságának kritériumait (SST),

a rendszerrel szemben támasztott követelményeket,

a szelektivitás mértékét,

a meghatározási határokat (pl. a mennyiségi mérés alsó határa, vagy felső határa, stb.)

a szükséges munkatartományt (legtöbbször linearitási tartomány),

a mérés pontosságára utaló kritériumokat

a mérés ismételhetőségére jellemző adatokat,

az eredmény számítására és megadására vonatkozó követelményeket.

MÓDSZERTAN (2)

A VALIDÁLÁSI MÉRÉSEK ELVÉGZÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

- A TELJES MÓDSZER ISMÉTLÉSE ÉS KÜLÖNFÉLE, EGYEDI MÉRÉSEK KIVITELEZÉSE A TERV SZERINT
- **A TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK MEGBÍZHATÓSÁGÁNAK, STABILITÁSÁNAK ÉS ROBOSZTUSSÁGÁNAK ELLENŐRZÉSE**
- A MÉRT ÉRTÉKEK STATISZTIKAI FELDOLGOZÁSA

MÓDSZERTAN (3)

- A VALIDÁLÁSI JELENTÉS

A VALIDÁLÁSI TERVBEN LEÍRT MINDEN KÉRDÉSRE VÁLASZT ADUNK, AZ ÖSSZES TELJESÍTMÉNY-JELLEMZŐ ÉRVÉNYESÍTÉSÉT LEÍRJUK, MAJD AZOKAT STATISZTIKAI ELEMZÉSEKKEL, ILLETVE ADATELEMZÉSI, ADATMEGJELENÍTÉSI TECHNIKÁKKAL IGAZOLJUK, MEGJEGYZÉSEKET FÜZÜNK HOZZÁ, VÉGÜL A VALIDÁLTSÁGRA VONATKOZÓ MEGÁLLAPÍTÁST TESSZÜK MEG

- **MÓDSZERTAN (4)**
- **- VALIDÁLT ÁLLAPOT FENNTARTÁSA
NAPI RUTINMÉRÉSEK SORÁN**
- **RENDSZERALKALMASSÁGI TESZTEK
BEVEZETÉSÉVEL, EZEK TRENDANALÍZISÉVEL**
- **CHANGE CONTROL (VÁLTOZÁSKÖVETÉS)
ALKALMAZÁSÁVAL**
- **ELLENŐRZŐKÁRTYÁK KÖZBEIKTATÁSÁVAL**

MÓDSZERTAN (5)

- REVALIDÁLÁS

**MINDEN OLYAN ESETBEN, AMIKOR ELTÉRÉS,
VÁLTOZÁS ÁLL BE A LABORATÓRIUM ÉS AZ
ALKALMAZOTT RENDSZER, VAGY MÓDSZER
MŰKÖDTETÉSÉBEN, (RÉSZLEGES, VAGY TELJES)
ÚJRAVALIDÁLÁSSAL KELL BIZONYÍTANI, ILLETVE
ELLENŐRIZNI AZT, HOGY VALÓBAN KÉPES A
LABORATÓRIUM AZ ADOTT ANALITIKAI FELADAT
MEGBÍZHATÓ ELVÉGZÉSÉRE**

- **Rendszeralkalmassági teszt (RAT)**

- A módszer szerves részét képezi

- A **TELJES** analitikai rendszer aktuális minőségének jellemzésére szolgál

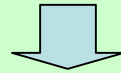
- retenció idő vagy retenció tényező, relatív retenció
- csúcsszimmetria (0.8-1.5, vagy < 2.0)
- elméleti tányérszám ($N > 2000$)
- felbontás ($R_s > 2.0$)
- rendszerpontosság ($RSD < 2\%$)
- egyéb (csúcs alatti terület, kimutathatóság, zaj)

Mozgatórugók

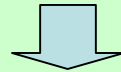
- Jó analitikai gyakorlat
- Hatósági követelmény
- A “vis major” kiküszöbölése
- A legkisebb erőfeszítések árán a legnagyobb biztonságot adja
- RAT: eszköz vagy cél?
- Túl szigorú, túl engedékeny vagy kompromisszumos a RAT?

Kronológia

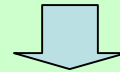
Módszerfejlesztés



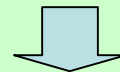
Rendszeralkalmassági adatok
meghatározása



Módszervalidálás (RAT is)



Napi rutin (RAT is)



Változáskövetés

A rendszeralkalmassági paraméterek megadása

- A megadás ideje szerint lehet:
 - **Prospektív (előremutató)**
 - **Retrospektív (visszatekintő)**
- A megadás módja alapján lehet:
 - **hatósági (gyógyszerkönyvi) követelmény**
 - **saját elfogadási paraméterek**
 - fejlesztői
 - felhasználói
 - **módosított hatósági követelményrendszer**

A rendszeralkalmassági paraméterek megadása

- A megadás alapja szerint lehet:
 - Standard kromatogramjából
 - Vizsgálati minta kromatogramjából
 - Külső komponensekkel
 - Modelloldatok összemérésével (pl. szennyezésprofil-vizsgálatok)
 - Vak oldat, alapvonal-karakterisztika
 - Az előzőekre nézve egyes követelményrendszerek
 - Statisztikai elemzések (pl. ellenőrzőkártyás)

Nyitott kérdések

- **Mikor végezzünk RAT-ot?**
 - A módszerfejlesztés és validálás során mindig
 - A napi rutinmérések elején (mikor van az eleje?)
 - A napi rutinban kell -e és ha igen, mikor kell teljes vagy részleges követő RAT?
 - A mérés legvégén szükséges?
 - A validálásban vagy a minőségügyi rendszer dokumentumaiban tisztázandó
 - Régi, bevált módszerek: RAT ritkítható?
 - változás az alapanyagokban, a technológiában, a végtermékben vagy a módszerben: a RAT érvényes még?

Nyitott kérdések

- **Mennyire megbízható a RAT?**
 - “priming” -mi legyen az első injekálás sorsa?
 - “role of two” -van -e probléma valójában?
 - egyensúlybeállási nehézségek (pl. NP-HPLC-ben, vagy RP-IP-HPLC-ben)
 - a t_0 meghatározásának nehézségei
 - gradienselúció: különböző készülékek között nem összehasonlítható paraméterek

Nyitott kérdések

- **Az “adjusztált” módszer is validáltnak tekintendő?**
- **A napi rutinban is módosítható a módszerünk következmények nélkül, ha RAT nem jár sikerrel?**
- **Az álló fázis típusa módosítható?**
- **Az eredmények normális eloszlásúak? A mért értékek egymástól függetlenek?**

Nyitott kérdések

- **Az “adjusztált” módszer is validáltnak tekintendő?**
- **A napi rutinban is módosítható a módszerünk következmények nélkül, ha RAT nem jár sikerrel?**
- **Az álló fázis típusa módosítható?**
- **Az eredmények normális eloszlásúak? A mért értékek egymástól függetlenek?**

Parameters	Type of procedure			
	ID	Impurity Quanti	Tests Limit	Assay
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Interm. Prec ⁿ	-	+	-	+
Specificity	+	+	+	+
LOD	-	-	+	-
LOQ	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

Érintett teljesítményjellemzők

- **Specifikusság - Specificity (RAT)**
- **Pontosság - Precision**
 - **Rendszerpontosság - itt:system precision (RAT)**
 - **Ismételhetőség -Repeatability**
 - **Laboratóriumon belüli szórás -Intermediate Precision**
- **Linearitás - Linearity**
- **Torzítatlanság - Accuracy**
- **Kimutatási határ - Detection Limit (RAT)**
- **Mennyiségi meghatározási limit - Quantitation Limit**
- **Oldatstabilitás - Solution stability**
- **Állóképesség - Robustness (RAT)**

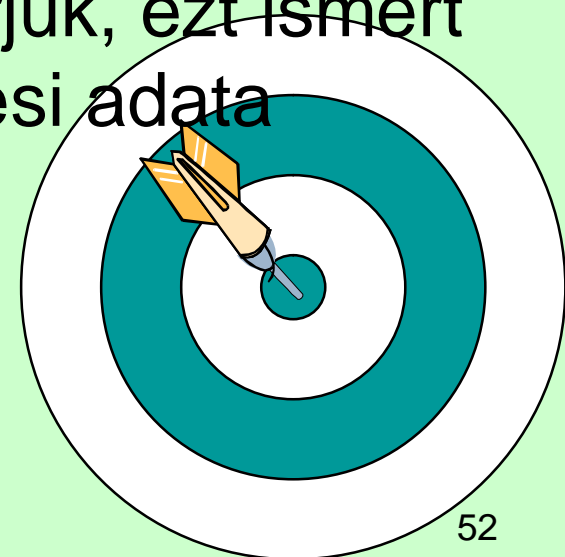
TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (1)

- SZELEKTIVITÁS
- a módszer milyen mértékben képes az adott alkotó meghatározására egyéb zavaró alkotók jelenlétében
- tökéletes szelektivitás = specificitás, specifikusság
- az SST definiálása, értékelése, megbízhatósága (pl. rendszerpontosság, R_s , N , k , t_R , A_s)
- előnyös, de nem feltétlenül követelmény

- **ÖTLETBÖRZE -SPECIFIKUSSÁG**
- **kromatogramok, spektrumok, titrálási görbék, stb (illetve ezek néhány paraméterének) összehasonlítása:**
 - az alkalmazott oldószer
 - a munkastandard(ok) egyenkénti és közös oldata, szennyezők
 - a vizsgált készítmény analitikai oldata
 - a placebo és/vagy a mátrix oldata
 - a placebo ismert hatóanyagokkal spike-olt oldata
 - a vizsgált készítmény ismert komponensekkel spike-olt oldata
 - stressz minták
- **Stabilitásjelző a módszer?**
- **Csúcs tisztaság?**
- **Diszkriminatív specifikusság-igazolás**

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (2)

- TORZÍTATLANSÁG (ACCURACY, BIAS)
- a mérésstartomány valódiságának a mértéke
- a módszer **rendszeres** hibájának a jellemzője.
- Egy módszer annál torzítatlanabb, minél kisebb a mért érték és a valódi érték különbsége.
Mivel a valódi értéket nem ismerjük, ezt ismert referencia, standard anyag mérési adata helyettesíti

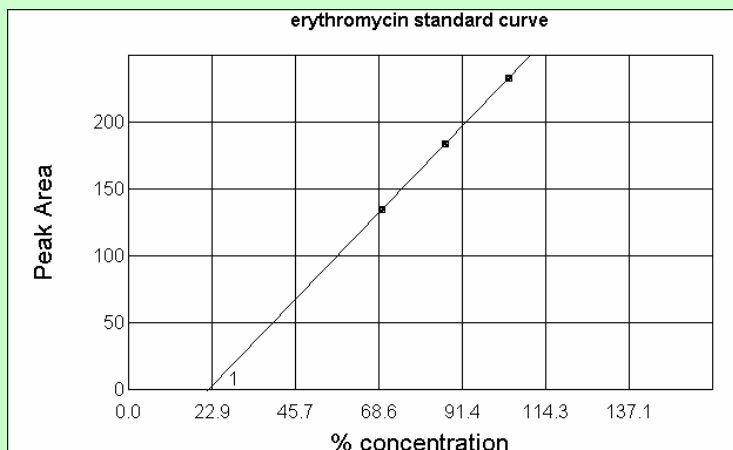


• ÖTLETBÖRZE TORZÍTATLANSÁG

- „spiked placebo” vagy „spiked matrix” módszer
- Értékelés: regresszió analízissel.
 - Elfogadási kritérium:
 - a korrelációs koefficiens $> 0.9(9999999)$,
 - a tengelymetszet konfidencia intervalluma (P=95 %) tartalmazza a "0"-t.
 - a meredekség konfidencia intervalluma (P=95 %) tartalmazza az "1"-t.
 - a reziduálisok egyenletesen, véletlenszerűen szóródnak a regressziós "0" vonal körül
- *standard addíció, standard belső addíció*
- *módszerösszehasonlítás (validált vagy szabványos módszerrel)*
- *recovery test,*
- *referens std mérése*

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (3)

- **LINEARITÁS**
- a mérőgörbe adott tartományában, az ún. lineáris vagy munkatartományban, adott megbízhatósággal egyenesnek tekinthető
- az érzékenység megadható
- előnyös, de nem feltétlenül követelmény

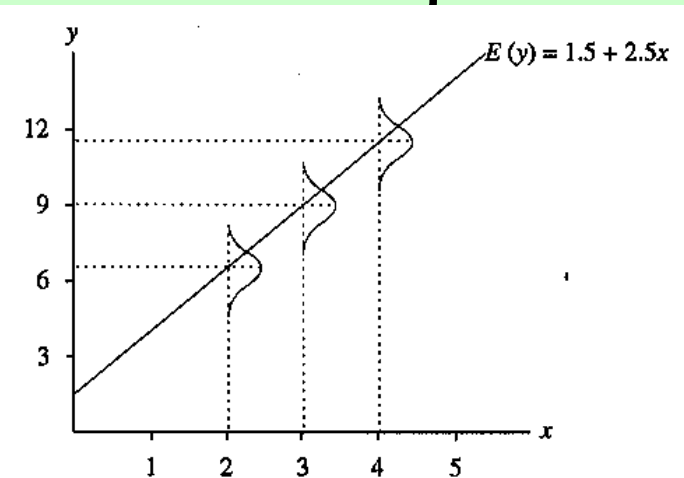


Regresszióanalízis

- Két változó közötti kapcsolatot vizsgáljuk: a változók között ok-okozati kapcsolatot *tételezünk* fel, amit egy függvénykapcsolattal írunk le. Változók két típusa:
 - független változó (ok),
 - függő változó (okozat).
- Leggyakoribb függvénykapcsolat a lineáris
- A regresszióanalízissel az egyenlet két paraméterét akarjuk megbecsülni. A becslés módszere az un. legkisebb négyzetek módszere: keressük azt az egyenest amely esetén az adatpontoknak (Y_i) az egyenestől (Y_B) Y irányban vett távolságai ($Y_i - Y_B$) négyzetének összege ($SUM(Y_i - Y_B)^2$) minimális.

Regressziós peremfeltételek

- Normális eloszlás
 - Y normális eloszlást követ X minden értékénél
 - A hibák eloszlása normális, zérus várható értékkel
- 2. Homoszcedaszticitás (Állandó variancia)
- 3. A hibák függetlensége
- 4. A független változó a kísérletező teljes kontrollja alatt áll.



Az egyszerű lineáris regressziós modell

- A két változó kapcsolatát lineáris függvénnel írjuk le
- Az egyik változó változása a másik változását eredményezi
- Az egyik változó függ a másiktól

Sokaságbeli Y tengelymetszet

Sokaságbeli meredekség

Random Error

Függő változó

Sokaságbeli regressziós vonal (feltételes átlag)

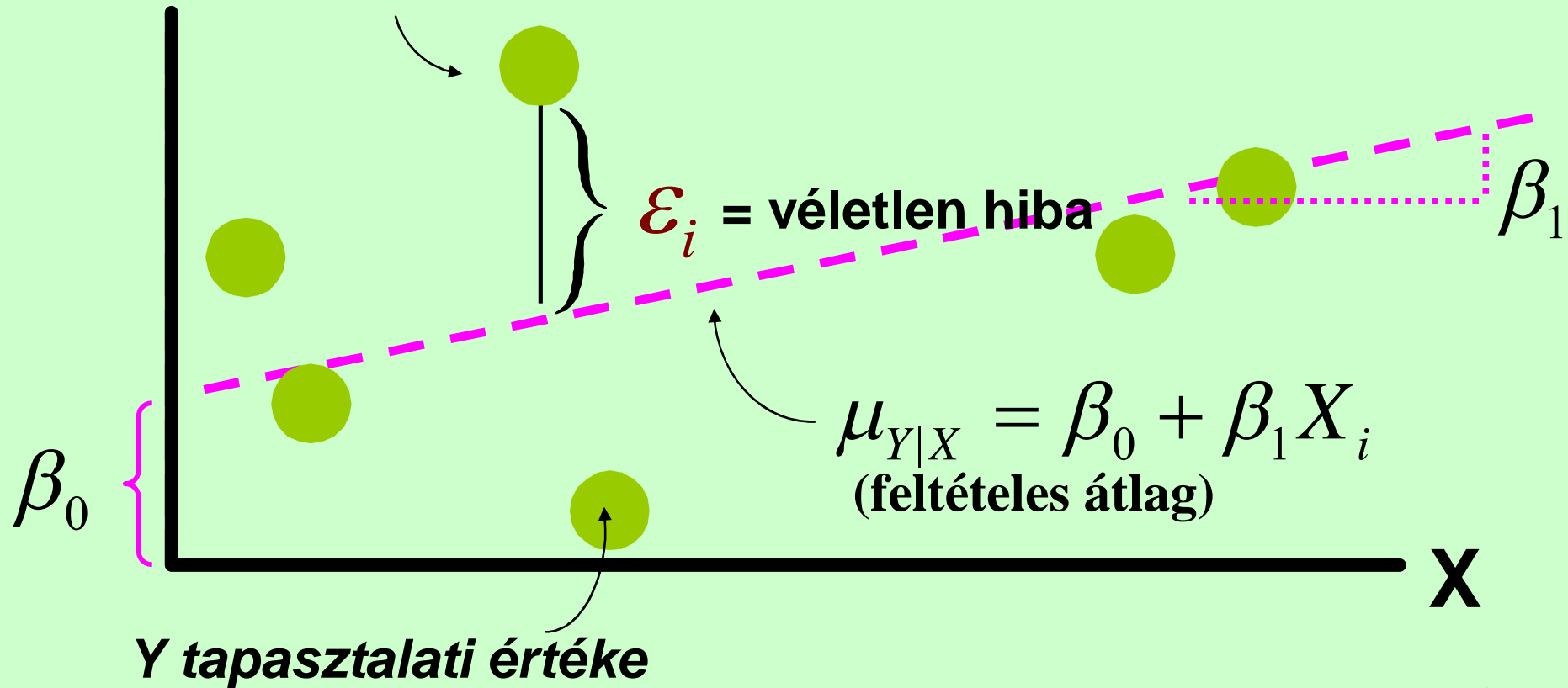
Független változó

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$$

$\mu_{Y|X}$

Az egyszerű lineáris regressziós modell

$$Y \text{ (} Y \text{ tapasztalati értéke)} = Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$$



A lineáris regressziós egyenlet

A sokaságbeli regressziós egyenesnek és paramétereinek becslése

Minta Y
tengelymetszet

Minta
meredekség

$$Y_i = b_0 + b_1 X_i + e_i$$

reziduális

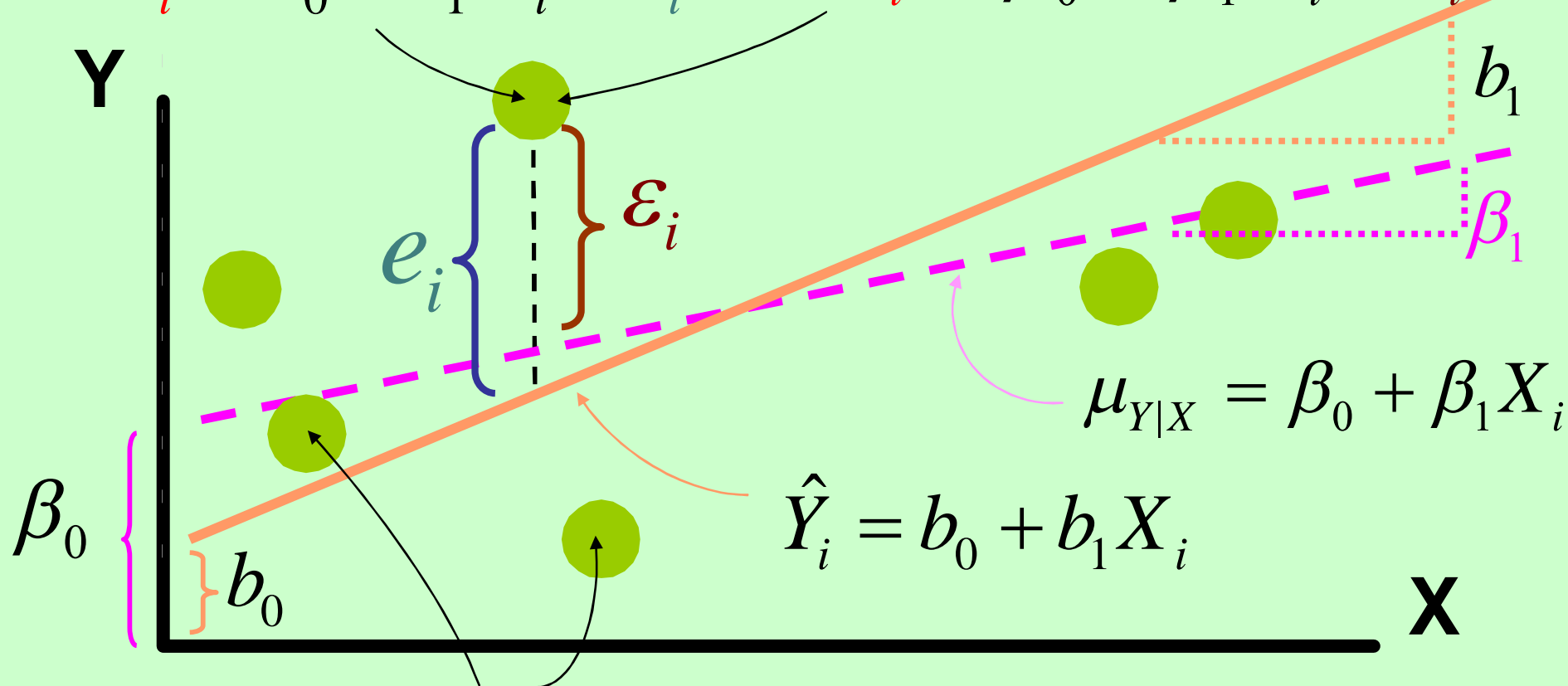
$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X = \text{Regressziós egyenlet}$$

(Illesztett görbe, jóslat érték)

A lineáris regressziós egyenlet

$$Y_i = b_0 + b_1 X_i + e_i$$

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$$



Tapasztalati értékek

Korrelációs együtthatók: ρ és r

$$\rho = \frac{E[(X - \mu_X)(Y - \mu_Y)]}{\sqrt{V(X)V(Y)}}$$

- A korreláció ERŐSSÉGE
- Dimenziómentes
- -1 és 1 között
- 0 alatt negatív, -1 közelében erős negatív kapcsolat
- 0 fölött pozitív, +1 közelében erős pozitív kapcsolat
- 0 környezetében “gyenge” lineáris kapcsolat

Négyzetösszegek

$$SST = SSR + SSE$$

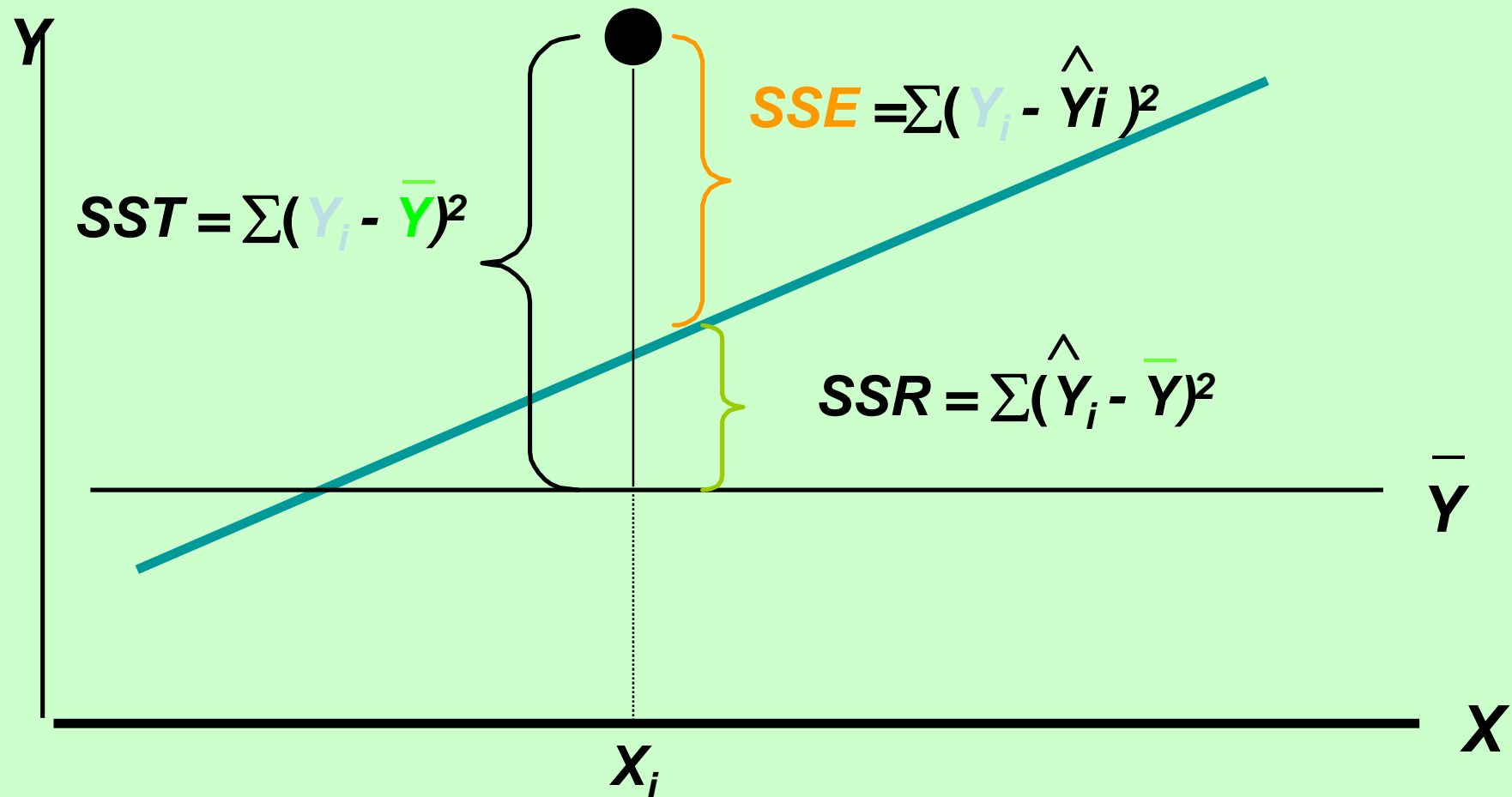
teljes = regressziós + hiba

- $SST =$ teljes négyzetösszeg (SS_{yy})
 - Az Y_i értékének ingadozása a középértéke körül,
- $SSR =$ regressziós négyzetösszeg
 - Az összefüggésnek tulajdonítható ingadozás
- $SSE =$ hiba négyzetösszeg
 - Nem az összefüggésnek tulajdonítható ingadozás

$$SST = SSR + SSE$$

$$\sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2 + \sum (y_i - \hat{y}_i)^2$$

Négyzetösszegek



ÖSSZESÍTŐ TÁBLA

Regressziós statisztika

r értéke	0,998568
r-négyzet	0,997139
Korrigált r-	0,996781
Standard hi	0,83303
Megfigyelé	10

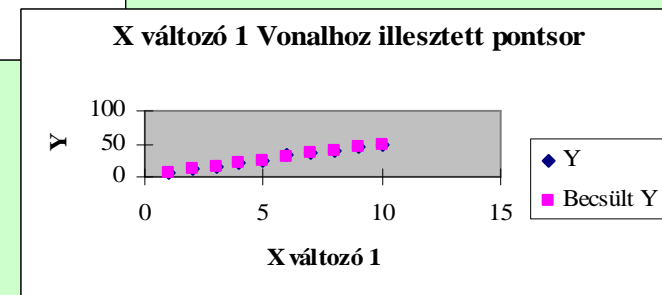
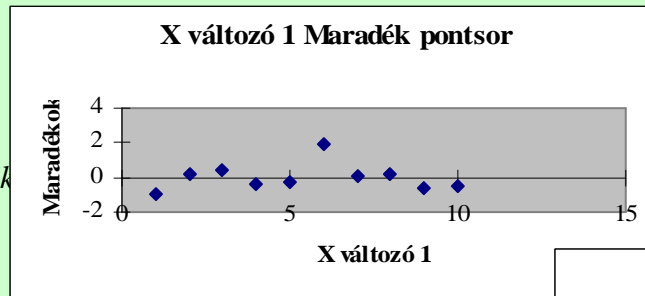
VARIANCIANALÍZIS

	df	SS	MS	F	szignifikanciája
Regresszió	1	1934,548	1934,548	2787,777	1,84E-11
Maradék	8	5,551515	0,693939		
Összesen	9	1940,1			

	Koefficiens	standard hib	t érték	p-érték	Alsó 95%	Felső 95%	Alsó 90,0%	Felső 90,0%
Tengelyme	1,066667	0,569068	1,87441	0,097742	-0,245607	2,378941	0,008457	2,124876
X változó 1	4,842424	0,091714	52,79941	1,84E-11	4,630932	5,053916	4,671878	5,01297

MARADÉK TÁBLA

Megfigyelés	Becsült Y	Maradékok	standard maradék
1	5,909091	-0,909091	-1,157505
2	10,75152	0,248485	0,316385
3	15,59394	0,406061	0,517019
4	20,43636	-0,436364	-0,555602
5	25,27879	-0,278788	-0,354968
6	30,12121	1,878788	2,392177
7	34,96364	0,036364	0,0463
8	39,80606	0,193939	0,246934
9	44,64848	-0,648485	-0,825687
10	49,49091	-0,490909	-0,625053



SUMMARY OUTPUT

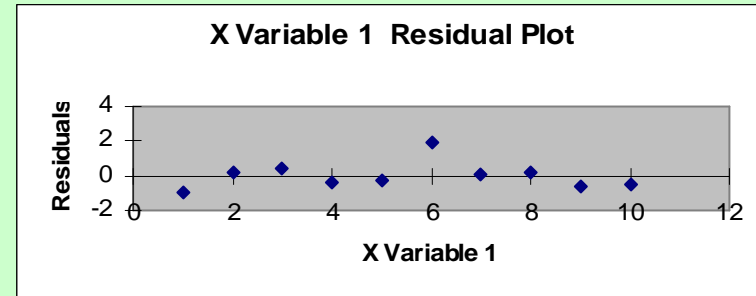
Regression Statistics

Multiple R	0,998568
R Square	0,997139
Adjusted R	0,996781
Standard E	0,83303
Observatio	10

ANOVA

	df	SS	MS	F	ignificance F
Regressor	1	1934,548	1934,548	2787,777	1,84E-11
Residual	8	5,551515	0,693939		
Total	9	1940,1			

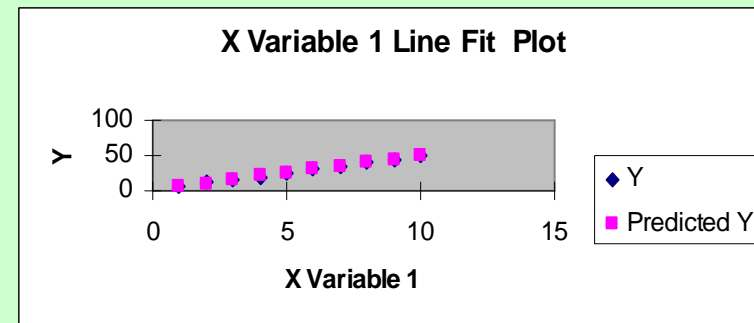
	Coefficient	standard Err	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	ower 90,0%	pper 90,0%
Intercept	1,066667	0,569068	1,87441	0,097742	-0,245607	2,378941	0,008457	2,124876
X Variable	4,842424	0,091714	52,79941	1,84E-11	4,630932	5,053916	4,671878	5,01297



RESIDUAL OUTPUT

Observator Predicted Y Residuals idard Residuals

1	5,909091	-0,909091	-1,157505
2	10,75152	0,248485	0,316385
3	15,59394	0,406061	0,517019
4	20,43636	-0,436364	-0,555602
5	25,27879	-0,278788	-0,354968
6	30,12121	1,878788	2,392177
7	34,96364	0,036364	0,0463
8	39,80606	0,193939	0,246934
9	44,64848	-0,648485	-0,825687
10	49,49091	-0,490909	-0,625053



Az ANOVA-tábla az Excel-ben

Szabadsági fok

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	30380456.12	30380456	81.17909	0.000281201
Residual	5	1871199.595	374239.92		
Total	6	32251655.71			

regressziós df

error (residuális) df

teljes df

SSR

SSE

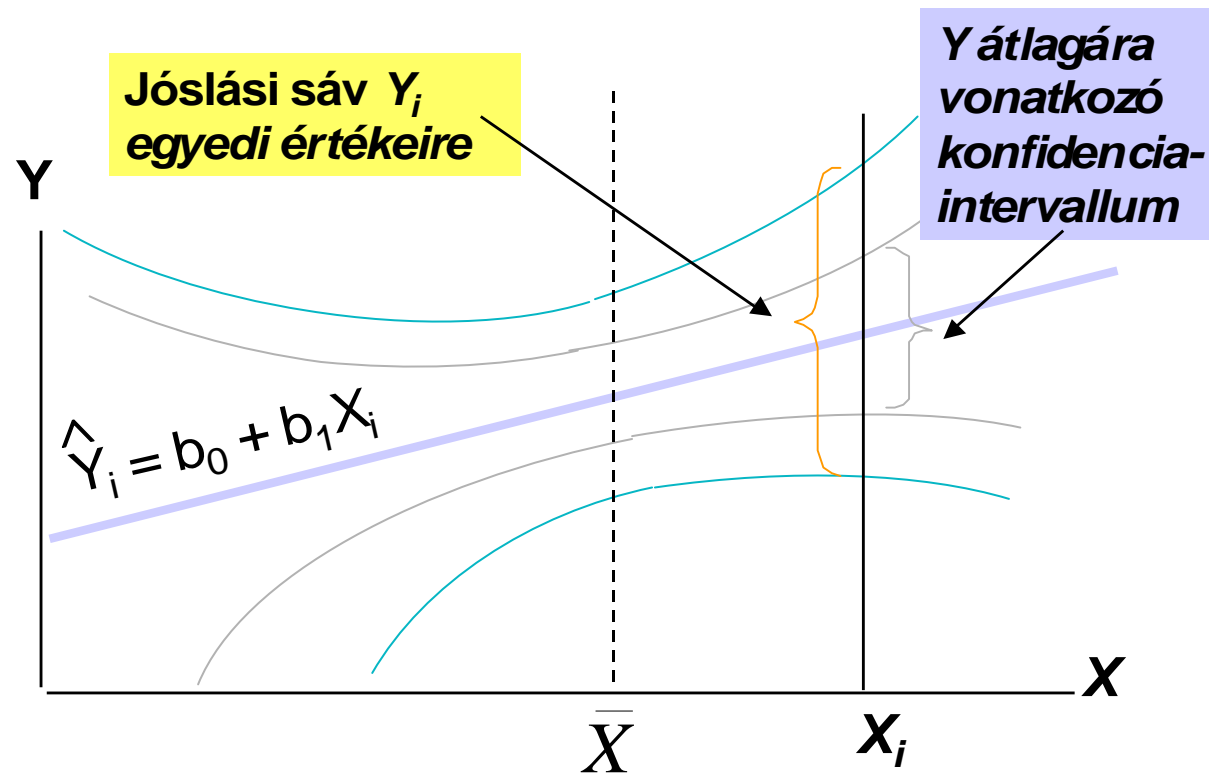
SST

Konfidencia-intervallumok

- A regressziós egyenes számított egyenletében mindkét együttható hibával terhelt: az egyenes mentén egy hibasáv húzódik
- Az additív tag hibája egy, a számított egyenessel párhuzamos határokkal rendelkező hibasávval jellemezhető,
- az iránytangens hibája nyíló hibasávval jellemezhető.
- **A két hatás eredőjeként olyan hibasáv keletkezik, amely az átlagértéktől mindkét irányban távolodva szélesedik.**

Értékelés: változó paraméterek

Jóslási és konfidencia-sáv



Az intervallumbecslések egyéb formái...

- Y átlagértékére (konfidencia intervallum)

$$\hat{y} \pm t_{\alpha/2} \cdot (s_{y,x}) \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x \text{ value} - \bar{x})^2}{(\sum x_i^2) - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}}$$

- y egyedi értékére (jóslási intervallum)

$$\hat{y} \pm t_{\alpha/2} \cdot (s_{y,x}) \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(x \text{ value} - \bar{x})^2}{(\sum x_i^2) - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}}$$

$$E(Y_i |_{X=x_i}) \in \left[\hat{Y}_i \pm \sqrt{MS_E \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{X})^2}{SS_{XX}} \right)} t_{1-\alpha/2}^{(n-2)} \right]$$

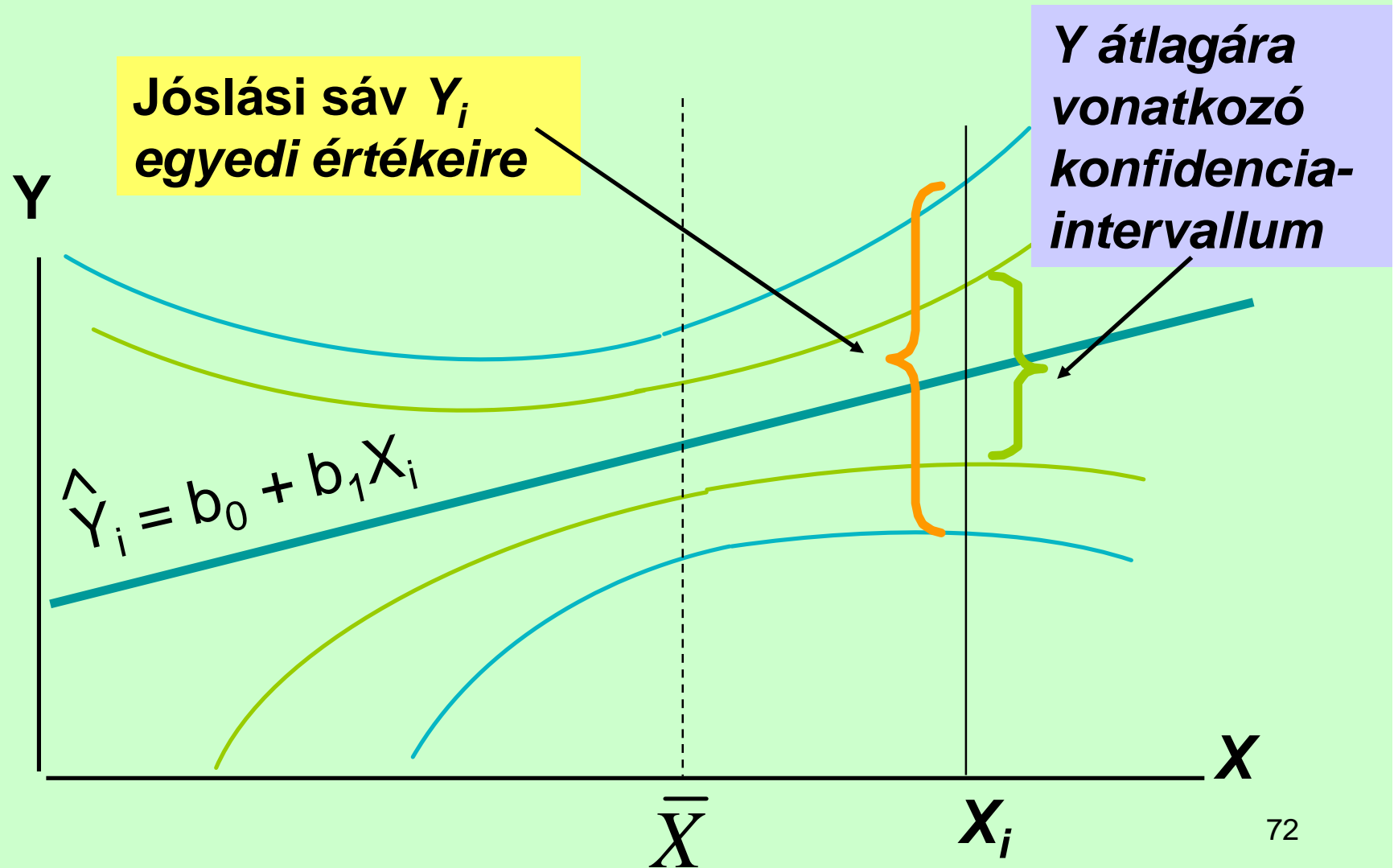
A sávok szélessége

- 1. $(1 - \alpha) \cdot 100\%$ konfidenciaszint
 - konfidenciaszint növelésével sáv szélesség nő
- 2. X és Y szóródása (S)
 - Y szóródásának növekedésével sáv szélesség nő
 - X szóródásának növekedésével sáv szélesség csökken
- 3. Minta elemszám
 - Adatpontok számának növelésével sáv szélesség csökken
- 4. x_p távolsága \bar{x} -től
 - A távolság növekedésével a sáv szélesség nő⁷⁰

A korrelációs számítás legfontosabb szabálya: a szignifikáns korreláció sem jelent ok-okozati kapcsolatot

- Ha x és y között erős korreláció van, akkor az lehet azért, mert
- 1. az y változásai okozzák az x változásait
- 2. a x változásai okozzák az y változásait
- 3. egy harmadik faktor mind az x -et, mind az y -t egy irányba (vagy ellenkező irányba) befolyásolja. Ez a leggyakoribb!!!

Jóslási és konfidencia-sáv

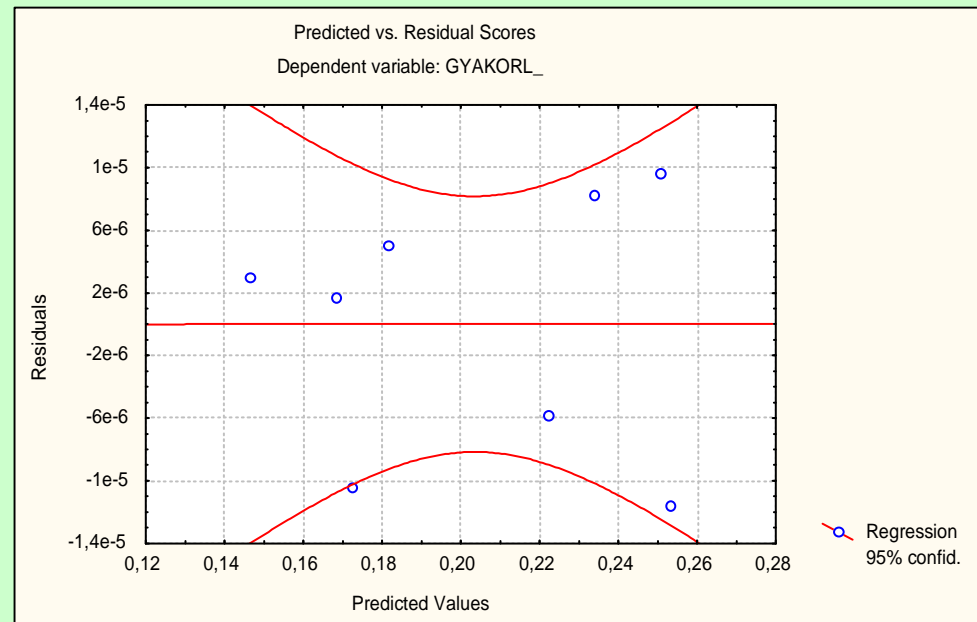


• ÖTLETBÖRZE -LINEARITÁS

• regresszió analízis

• Elfogadási kritérium:

- a korrelációs koefficiens $> 0.9(9999999)$,
- a tengelymetszet konfidencia intervalluma (P=95 %) tartalmazza a "0"-t.
- a reziduálisok egyenletesen, véletlenszerűen szóródnak a regressziós "0" vonal körül



TARTOMÁNY, RANGE

- A LEGVALÓSZÍNÜBB NAGYSÁGRENDEK VIZSGÁLATA (amelyre az adott feladatnál kielégítő torzítatlanság és pontosság érhető el)
- FŐKÖMPONENS-ANALÍZISNÉL A MUNKAKONCENTRÁCIÓ $\pm 20\%$
- CU-MÉRÉSNÉL: $\pm 30\%$
- KIOLDÓDÁS: $\pm 20\%$
- SZENNYEZÉSVIZSGÁLAT: QL-TÓL MUNKAKONCENTRÁCIÓ + 20%-IG
- ...

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (4)

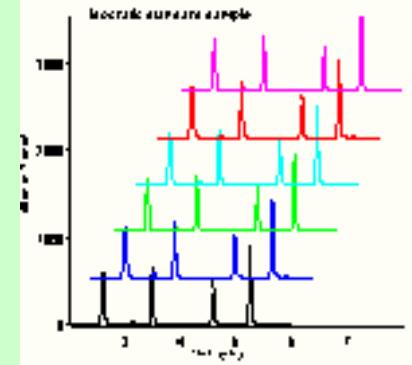
- **PONTOSSÁG (PRECISION)**
- a kölcsönösen független megismételt vizsgálatok eredményei közötti egyezés mértéke,
- a módszer véletlen hibáját jellemzi,
- a becsült tapasztalati szórással (**SD**) és/vagy a százalékos szórással (**RSD**) fejezzük ki

- *rendszerpontosság (SST-vizsgálatnál) 5 inj.*
- *Ismételhetőség (pl. 6 teljes elemzés)*
- *laboratóriumon belüli szórás (napok, készülékek, analitikusok hatása)*
- *laboratóriumok közötti szórás, körelemzések*

- Reprodukálhatóság: ez utóbbi kettő összessége

- **ISMÉTELHETŐSÉG**

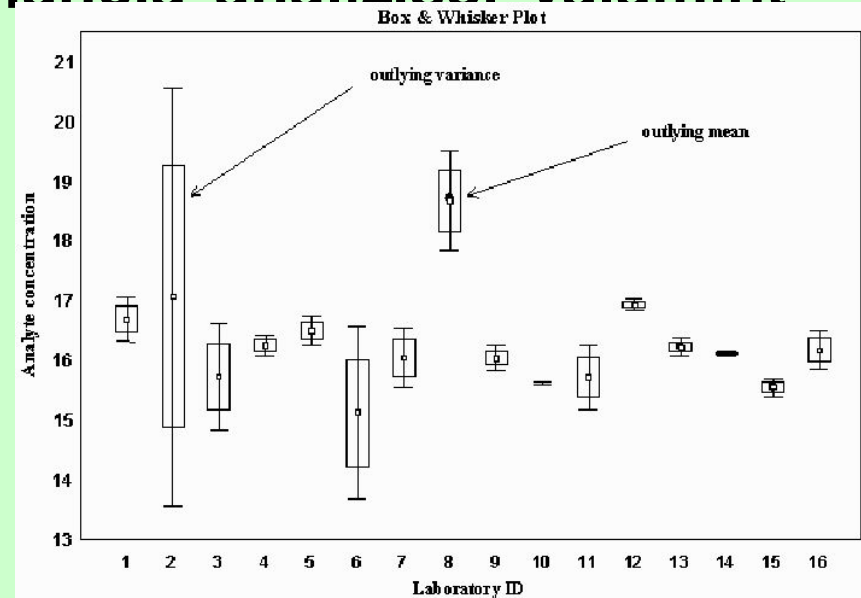
- ismételhető körülmények között,
- azonos minta, módszer, műszer, kezelő, laboratórium, rövid időintervallum a párhuzamos mérések között.
- A leginformatívabb teljesítményjellemző
- értékét tapasztalati szórással vagy relatív tapasztalati szórással határozzuk meg



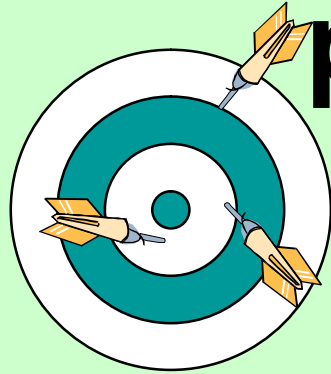
$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - x_i)^2}{n-1}}$$

LABORATÓRIUMON BELÜLI SZÓRÁS (INTERMEDIATE PRECISION)

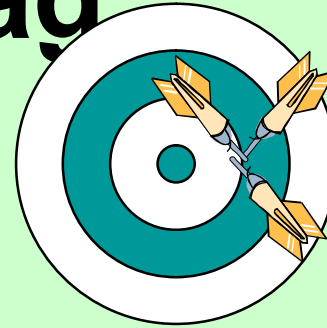
- reprodukálható körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik,
- azonos minta, azonos módszer,
- különböző műszer, különböző kezelő, hosszabb időintervallum a párhuzamos mérések között
- kísérleti terv elkészítése szükséges lehet (DOE)
- Értékelés: a mért értékek variancia analízise, valamint szórása alapján.
- Elfogadási kritérium:
 - $RSD < x \%$
 - $F_{calc} < F_{crit} (P=95\%)$



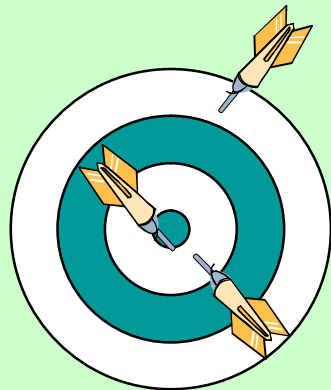
Torzítatlanság és pontosság



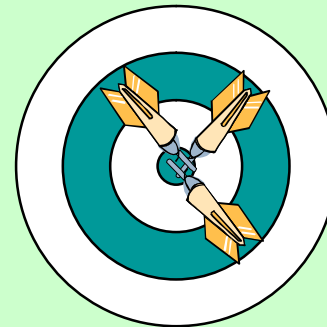
Torzított, pontatlan



Torzított, pontos



torzítatlan? pontatlan



Torzítatlan, pontos

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (5)

- **KIMUTATÁSI HATÁR, DETECTION LIMIT, DL**
- koncentráció, vagy anyagmennyiség, amelyhez tartozó jel értéke megegyezik a vak minta közepes jelének és a vak minta jel háromszoros tapasztalati szórásának összegével.

$$J_{KH} = \bar{J}_{vak} + 3SD_{vak} \qquad C_{KH} = \frac{J_{KH}}{a} \equiv DL$$

- **EGYÉB LEHETŐSÉGEK:**
 - jel/zaj viszony értékelésével (3, vagy 5)
 - csökkenő mennyiségű szpéciesz analízisével
 - a regressziós egyenes reziduális szórásából vagy a görbe tengelymetszetének szórásából számolva
 - a kalibrációs görbe meredekségével számolva

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (6)

- **A MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS LIMITJE, QUANTITATION LIMIT, QL**
- koncentráció, vagy anyagmennyiség, amelyhez tartozó jel értéke megegyezik a vak minta közepes jelének és a vak minta jel tízszeres tapasztalati szórásának összegével.

$$J_{KH} = \bar{J}_{vak} + 10SD_{vak}$$

$$C_{KH} = \frac{J_{KH}}{a} \equiv QL$$

- **EGYÉB LEHETŐSÉGEK:**
- csökkenő mennyiségű szpéciesz analízise és ahol a tapasztalati szórás már meghaladja a 10 %-ot (n=5)

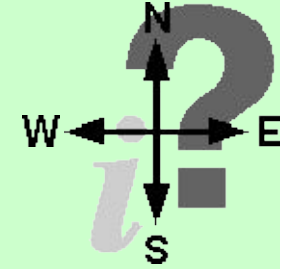
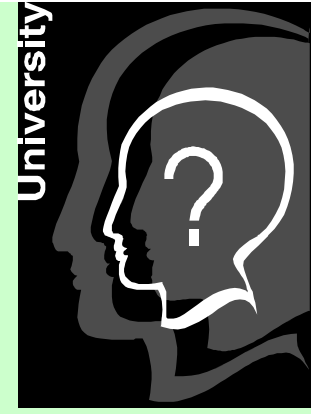
TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (7)

- OLDATSTABILITÁS

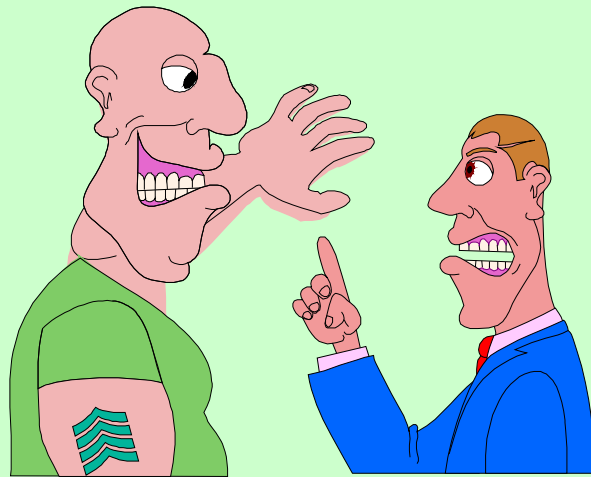
- mennyi ideig várnak a minták mérésre kész állapotban az analízisre? És ez az idő érvényesíthető?
- Trendanalízissel (run test),
- variancia-analízissel (ha van ismétlés is),
- szórás-számolással, vagy
- regressziós eljárással (a meredekség konfidencia-intervalluma tartalmazza a 0-t)

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (8)

- **ÁLLÓKÉPESSÉG, ÁLLÉKONYSÁG, ZAVARTŰRÉS, ROBOSZTUSSÁG (ROBUSTNESS)**
- szándékosan változtatjuk a módszer paramétereit (eluens, állófázis, minta pH, detektálási hullámhossz, stb) és varianciaanalízissel vizsgáljuk ezen faktorok hatásának szignifikanciáját
- a kromatogramokat/spektrumokat/titrálási görbéket és azok változásait értékelni kell



KÖSZÖNÖM A MEGTISZTELŐ
FIGYELMET!
VÁROM A KÉRDÉSEKET...



www.wil-zone.hu



WIL-ZONE TANÁCSADÓ IRODA



85