Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Методические указания
МУК 4.2.3389—16

Издание официальное

Москва • 2016

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Методические указания
МУК 4.2.3389—16

ББК 51.23
В15

В15 **Валидация** методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1521—0

1. Разработаны ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (В. А. Тутельян, Н. В. Тышко, Э. О. Садыкова, А. К. Голомидова, С. И. Шестакова), Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (А. Ю. Попова, И. В. Брагина), Российской академией наук (Г. Г. Онищенко), Институтом биоинженерии ФГУ «ФИЦ Биотехнологии» РАН (К. Г. Скрябин, И. В. Яковлева, Б. Б. Кузнецов), МГУ им. М. В. Ломоносова (М. П. Кирпичников), ООО «ГенБит» (П. А. Французов, М. М. Никитин, А. Г. Голиков).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 3 августа 2016 года.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1521—0

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

Содержание

I. Область применения 5

II. Термины и определения 5

III. Общие положения 7

IV. Организация и порядок проведения валидации методов 8

V. Обработка и оформление результатов валидации 9

VI. Валидация методов контроля, представленных заявителем при регистрации новых ГМО на территории Российской Федерации 11

VII. Нормативные ссылки 12

Приложение 1. Требования к составлению стандартных операционных процедур на методы контроля ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье 13

Приложение 2. Определение характеристик (свойств) метода контроля 15

Приложение 3. Определение показателей точности метода контроля 17

Приложение 4. Пример формы протокола валидации 19

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
3 августа 2016 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Методические указания МУК 4.2.3389—16

Требования действующего законодательства Российской Федерации, интенсивное развитие технологий генной инженерии и использование генно-инженерно-модифицированного (ГМ) продовольственного сырья при производстве пищевой продукции обусловливают необходимость применения надежных и достоверных методов контроля за оборотом ГМО. Надежность и достоверность методов контроля достигается за счет разработки и внедрения в практику новых или усовершенствования существующих лабораторных методов, позволяющих выявлять и идентифицировать специфичные для соответствующих ГМ-линий последовательности ДНК или белки.

Принимая во внимание многообразие существующих и вновь создаваемых методов, возникла потребность в систематизации требований к их валидации, представляющей собой документированную процедуру подтверждения того, что метод пригоден для применения в целях контроля за ГМО и обеспечивает получение надежной и достоверной информации. Процедура валидации является важным этапом, предшествующим официальному утверждению метода контроля, ее использование обеспечит дополнительные доказательства правомерности применения метода и объективности полученных результатов, в том числе в случае необходимости разрешения конфликтных и спорных ситуаций.

I. Область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок валидации методов выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов растительного, животного и микробного происхождения (далее – ГМО) в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

1.2. Методические указания предназначены для организаций, разрабатывающих и внедряющих методы контроля, уполномоченных органов, осуществляющих надзор, контроль и нормативное правовое и методическое обеспечение исполнения обязательных требований законодательства Российской Федерации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, защиты прав потребителей (далее – уполномоченные органы государственного контроля и надзора), а также для испытательных лабораторий, аккредитованных в установленном порядке на проведение исследований пищевых продуктов и продовольственного сырья (далее – испытательные лаборатории).

II. Термины и определения

Аналитический сигнал – показания измерительного прибора, использующиеся для расчета результата (величина оптической плотности, pH, масса, объем и т. д.).

Валидация метода – документированное подтверждение пригодности метода для контроля ГМО в пищевой продукции и продовольственном сырье.

Воспроизводимость – степень близости друг к другу независимых результатов, полученных в стандартизованных условиях: одним и тем же методом, на идентичных объектах испытаний, в разных лабораториях, разными операторами, с использованием различных комплектов оборудования и средств измерения, предусмотренных для реализации метода.

Диапазон определяемых величин – интервал между верхним и нижним значениями количества специфичного аналита, для которого установлена пригодность метода.

Исходно известное значение – значение, которое служит в качестве согласованного для сравнения и получено как: а) теоретическое, базирующееся на научных принципах; б) установленное, полученное с использованием референтного образца; в) приписанное или аттестованное значение, базирующееся на экспериментальных работах (стандартный референтный образец).

Линейность – способность метода в пределах заданного диапазона давать результаты, величина которых изменяется в линейной зависимости от количества специфичного аналита в стандартном образце.

Метод добавок – способ определения характеристик аналитической методики, основанный на добавлении в образец заранее известного количества (концентрации) исследуемого вещества (компонента).

Метод контроля – документированная процедура определения показателей качественного и количественного состава пищевой продукции и продовольственного сырья, включая описание оборудования, реактивов (последовательности специфических олигонуклеотидов, концентрации, состав растворов и т. п.), образцов и условий проведения эксперимента.

Оборудование – технические средства, которые используют для воспроизведения стандартизованных условий метода (амплификатор, термостат, центрифуга, холодильник и т. д.).

Повторяемость – степень близости друг к другу независимых результатов, полученных в стандартизованных условиях: одним и тем же методом, на идентичных объектах испытаний, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же комплекта оборудования и средств измерения.

Правильность – степень близости значения, полученного на основании серии результатов, к исходно известному значению.

Предел количественного определения – минимальное количество (концентрация) специфичного аналита, которое может быть количественно обнаружено с определенной точностью данным методом.

Предел обнаружения – минимальное количество (концентрация) специфичного аналита, которое может быть обнаружено данным методом.

Прецизионность – степень близости друг к другу независимых результатов, полученных в стандартизованных условиях. Количественная форма представления прецизионности включает два показателя: повторяемость и воспроизводимость.

Проба – представительная часть продукта, отобранная в соответствии с правилами и стандартами, установленными для данного вида продукции.

Результат – окончательное значение аналитического показателя, получаемое при выполнении метода. В зависимости от метода может быть качественным (присутствие/отсутствие специфичного аналита в пробе) или количественным (точное значение концентрации/содержания специфичного аналита в пробе).

Референтный образец – растительный, животный или микробный материал, свойства которого однородны и позволяют использовать его для выявления и идентификации ГМО в качестве положительного контроля.

Специфичность – способность метода определять исключительно анализируемый компонент.

Специфичный аналит – специфичные для ГМО белок или последовательность ДНК.

Средства измерения – контрольно-измерительные приборы, которые используют для воспроизведения стандартизованных условий метода, занесенные в Государственный реестр средств измерений (например, pH-метр, спектрофотометр, аналитические весы, термометр и т. д.).

Стандартный референтный образец – это референтный образец, свойства которого подтверждены сертификатом (свидетельством) и позволяют использовать его для выявления, идентификации и количественного определения ГМО.

Характеристики (свойства) метода – включают: специфичность, линейность, диапазон определяемых величин, предел обнаружения или количественного определения.

III. Общие положения

3.1. Целью валидации методов контроля ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье (далее – валидация методов) является:

– установление пригодности метода для оценки содержания специфичного аналита в исследуемых образцах;

– обеспечение единства измерения содержания компонентов, полученных с применением ГМО, в уполномоченных органах государственного контроля и надзора, а также в испытательных лабораториях, аккредитованных в установленном порядке на проведение исследований пищевых продуктов и продовольственного сырья.

3.2. Валидации подлежат:

3.2.1. Вновь вводимые методы контроля, которые будут использоваться для выявления ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

3.2.2. Ранее введенные в использование методы контроля после внесения изменений, касающихся области их применения, условий проведения, замены применяемых в них средств измерений и оборудования.

3.3. Валидацию методов проводят на основании представленного разработчиком уполномоченному органу государственного контроля и надзора пакета документов на методы контроля.

3.4. Валидацию проводят с применением оборудования и средств измерения, аттестованных и внесенных в реестр Госстандартом России или Минздравом России. Средства измерения должны иметь документы, подтверждающие их поверку или калибровку, выданные организациями, уполномоченными на соответствующий вид деятельности.

3.5. При валидации новых методов определяют характеристики (свойства) метода и показатели его точности.

3.5.1. Характеристики (свойства) нового метода должны быть определены на стадии его разработки.

3.5.1.1. Характеристики для качественных методов:

– специфичность;

– предел обнаружения.

3.5.1.2. Характеристики для количественных методов:

– специфичность;

– линейность;

– диапазон определяемых величин;

– предел количественного определения.

3.5.2. Показателями точности являются:

– прецизионность (повторяемость, воспроизводимость);

– правильность.

Показатели точности определяются только для количественных методов контроля ГМО.

3.6. При ревалидации методов контроля ГМО определяют показатели точности, а также подтверждают характеристики, определенные для качественных и количественных методов (п. 3.5.1.1—3.5.1.2).

IV. Организация и порядок проведения валидации методов

4.1. Валидацию методов контроля содержания ГМО проводят в два этапа.

4.1.1. Первый этап валидации выполняет организация, разработавшая или использующая метод контроля. На первом этапе подтверждают характеристики (свойства) метода и показатели его точности (повторяемость, внутрилабораторная воспроизводимость).

4.1.2. Второй этап валидации осуществляют испытательные лаборатории по поручению уполномоченного органа государственного контроля и надзора (не менее двух лабораторий). На втором этапе валидации определяют правильность и межлабораторную воспроизводимость метода, а также подтверждают характеристики (свойства) метода.

4.1.3. Для проведения второго этапа валидации разработчик метода представляет в уполномоченный орган государственного контроля и надзора следующие документы:

– заявку на проведение валидации;

– метод, оформленный в виде стандартной операционной процедуры (далее – СОП) (прилож. 1);

– отчет о прохождении первого этапа валидации с оформлением протоколов исследований в соответствии с прилож. 4;

– референтные образцы.

4.2. Перед проведением второго этапа валидации должен быть составлен план исследований. В плане должны быть отражены: организации и лаборатории, на базе которых будет осуществлен второй этап валидации, последовательность проведения исследований и необходимое количество измерений, используемое оборудование и средства измерения, необходимая квалификация персонала.

4.3. Определение характеристик (свойств) метода осуществляют с использованием надлежащих методов статистической обработки данных. Для определения характеристик (свойств) метода должны использоваться слепые выборки объемом не менее 30 образцов (в сумме для образцов, содержащих и не содержащих специфичный аналит).

4.4. Для получения надежных оценок повторяемости и межлабораторной воспроизводимости метода необходимо, чтобы эти оценки были получены при минимум 15 измерениях для заявленного диапазона концентраций (по 5 измерений для 3 концентраций – низкой, средней и высокой, входящих в заявленный диапазон).

4.5. После проведения исследований в соответствии с планом валидации и анализа полученных данных должно быть сформировано заключение о результатах прохождения первого или второго этапа валидации. Метод считается успешно валидированным, если по результатам межлабораторных испытаний в испытательных лабораториях получено не менее 95 % правильных результатов.

V. Обработка и оформление результатов валидации

5.1. Результаты по первому и второму этапам валидации оформляют в виде соответствующих отчетов с приложением всех протоколов исследований, а также в виде анализа данных и заключения о результатах валидации. Отчеты оформляют не менее чем в двух экземплярах.

5.1.2. Отчет по первому этапу валидации подписывают руководитель и исполнители первого этапа работ, и утверждает руководитель организации, проводившей первый этап валидации.

В отчете должны быть отражены:

– название метода, назначение и цель использования;

– характеристики (свойства) метода, подтвержденные на первом этапе валидации;

– показатели точности метода, определенные на первом этапе валидации;

– вывод о возможности передачи метода на второй этап валидации.

5.1.3. Отчет по второму этапу работ подписывают руководитель второго этапа работ, ответственный исполнитель и утверждает руководитель организации, проводившей второй этап валидации.

В отчете должны быть отражены:

– название метода, назначение и цель использования;

– характеристики (свойства) метода, подтвержденные на втором этапе валидации;

– показатели точности метода, определенные и подтвержденные на втором этапе валидации;

– вывод о пригодности метода для выявления ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

5.2. При положительных результатах валидации на основании СОП и отчета о прохождении второго этапа валидации уполномоченным органом государственного контроля и надзора выпускается методический документ по использованию валидированного метода для выявления и идентификации ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

5.3. При отрицательных результатах валидации в отчете указывают необходимость проведения дополнительных исследований и анализа полученных данных с целью уточнений характеристик и показателей точности метода.

Отрицательным результат валидации признают в следующих случаях:

– если выявлено отсутствие специфичности и линейности;

– если выявлено несоответствие предела обнаружения или предела количественного определения значениям, определенным на этапе разработки и подтвержденным на первом этапе валидации;

– если выявлено несоответствие показателей точности значениям, установленным в прилож. 3.

VI. Валидация методов контроля, представленных заявителем при регистрации новых ГМО на территории Российской Федерации

6.1. Валидация методов контроля, представленных заявителем при регистрации нового ГМО на территории Российской Федерации, проводится в один этап.

6.2. Валидацию осуществляют аккредитованные в установленном порядке испытательные лаборатории по поручению уполномоченной организации государственного контроля и надзора в области качества и безопасности пищевых продуктов.

6.3. Для проведения валидации заявитель представляет:

– метод, оформленный в виде стандартной операционной процедуры, содержащей сведения о характеристиках (свойствах) метода;

– референтные образцы;

– стандартные референтные образцы (при их наличии).

6.4. При валидации подтверждают заявленные разработчиком характеристики (свойства) метода:

6.4.1. Для качественных методов:

– специфичность;

– предел обнаружения.

6.4.2. Для количественных методов:

– специфичность;

– линейность;

– диапазон определяемых величин;

– предел количественного определения.

Характеристики (свойства) метода подтверждают в соответствии с прилож. 2.

6.5. Результат валидации оформляют в виде отчета не менее чем в двух экземплярах. Отчет подписывают исполнители и руководитель исследований по валидации и утверждает руководитель организации, проводящей валидацию.

6.6. В отчете должны быть отражены:

– название метода, назначение и цель использования;

– подтвержденные характеристики (свойства) метода;

– вывод о пригодности метода для выявления ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

6.7. При положительных результатах валидации на основании отчета о прохождении валидации уполномоченным органом государственного контроля и надзора выпускается методический документ по исполь-

зованию валидированного метода для выявления и идентификации ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье.

6.8. При отрицательных результатах валидации в отчете указывают необходимость проведения дополнительных исследований и анализа полученных данных с целью уточнения характеристик и показателей точности метода.

Отрицательным результат валидации признают в следующих случаях:

– если выявлено отсутствие специфичности и линейности;

– если выявлено несоответствие предела обнаружения или предела количественного определения значениям, определенным на этапе разработки и подтвержденным при валидации.

VII. Нормативные ссылки

1. Федеральный закон от 05 июля 1996 г. № 86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности».

2. ГОСТ Р ИСО 5725-1—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

3. МУ 3.3.2.1886—04 «Валидация методов контроля химических и физико-химических показателей качества МИБП: организация, порядок проведения и представление результатов».

4. Validation of analytical procedures: text and methodology, Directive ICH Q2 (R1), 2005.

5. The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics. EurachemGuide, 1998.

Приложение 1

Требования к составлению стандартных операционных процедур на методы контроля ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье

I. Общие положения

1.1. При составлении СОП следует руководствоваться следующими правилами:

– текст СОП должен быть ясным и четким, не допускать двоякого толкования, обеспечивать возможность воспроизведения процедуры обученным лицом;

– при описании процедуры целесообразно нумеровать этапы процедуры по принципу «один пункт – одно действие», чтобы в дальнейшем давать ссылку на номер конкретного этапа процедуры;

– при использовании физических величин их размерность должна быть указана в системе СИ, за исключением тех случаев, когда допускается использование других общепризнанных систем.

1.2. Стандартная операционная процедура должна быть утверждена и занесена в реестр СОП организации-разработчика с присвоением порядкового номера.

II. Составление стандартной операционной процедуры на методы контроля

2.1. Стандартная операционная процедура на методы контроля должна содержать следующие разделы:

– Наименование метода.
– Даты утверждения и/или пересмотра.
– Назначение и область применения метода.
– Термины и обозначения.
– Характеристика метода.
– Характеристика образцов.
– Материалы и оборудование.
– Порядок работы.
– Интерпретация результатов, включая действия в случае отклонения или несоответствия требуемым параметрам.
– Приложения.
– Ссылки.

2.2. В зависимости от области применения разделы могут быть объединены, переименованы или исключены.

III. Изложение разделов стандартной операционной процедуры

3.1. В разделе «Даты утверждения и/или пересмотра» должно быть указано «Разработана впервые», если СОП разработана впервые или

«Взамен СОП № ...», если это пересмотренная СОП. В случае пересмотра СОП должна быть дана краткая история поправки. Этот раздел может быть включен в текст титульной страницы.

3.2. В разделе «Назначение и область применения метода» должны быть указаны цель проведения процедуры, где и с какой целью используется метод и общие положения по усмотрению разработчика.

3.3. В разделе «Термины и обозначения» должны быть расшифрованы введенные термины, а также обозначения и сокращения.

3.4. В разделе «Характеристика метода» должны быть указаны установленные на этапе разработки характеристики (свойства) метода.

3.5. В разделе «Характеристика образцов» должны быть указаны: порядок отбора образцов, их количество, необходимое для процедуры, правила пробоподготовки и хранения до осуществления процедуры.

3.6. В разделе «Материалы и оборудование» должно быть указано все необходимое для проведения процедуры:

– реактивы;

– стандартные образцы, другие контрольные материалы (при необходимости);

– контрольно-измерительное и другое оборудование, необходимое для выполнения метода.

3.7. В разделе «Порядок работы» должны быть максимально подробно изложены все этапы работы:

– предварительные работы (подготовка помещения, оборудования, рабочего места, реактивов, пробы, калибровочного графика). При необходимости следует указать ссылки на соответствующие СОП;

– описание процедуры включает перечень, объем, последовательность операций, периодичность и число измерений, требования к представлению промежуточных и конечных результатов (число значащих цифр и др.), указания о проведении контрольного опыта, описание операций по устранению влияющих факторов.

3.8. В разделе «Интерпретация результатов» должны быть указаны:

– любые вычисления, требуемые для получения окончательного результата;

– критерии принятия решения о результатах анализа;

– оценку достоверности результата или критерий того, что исследование проведено правильно.

3.9. В разделе «Приложения» должен быть приведен перечень всех вспомогательных материалов, если они необходимы для работы по данной СОП (табличные материалы, формы отчетности и т. д.).

3.10. В разделе «Ссылки» указывают перечень документов, которые должны учитываться при работе с данной СОП. В этом же разделе, при необходимости, приводятся ссылки на литературные источники.

Приложение 2

Определение характеристик (свойств) метода контроля

I. Общие положения

1.1. Характеристики (свойства) метода должны быть установлены в процессе его разработки.

1.2. Для методов контроля ГМО в пищевых продуктах и продовольственном сырье оценивают в зависимости от назначения метода следующие характеристики (свойства):

1.2.1. Характеристики для качественных методов:

– специфичность;

– предел обнаружения.

1.2.2. Характеристики для количественных методов:

– специфичность;

– линейность;

– диапазон определяемых величин;

– предел количественного определения.

II. Определение специфичности

2.1. Метод, обладающий специфичностью, дает возможность определять анализируемое вещество в присутствии других веществ и/или примесей других веществ.

При оценке специфичности метода устанавливают факторы, мешающие или влияющие на определение. При наличии таких факторов они должны быть указаны в СОП на метод контроля.

2.2. Для оценки специфичности могут быть использованы образцы, полученные методом добавок, или стандартные образцы. В исследованиях должны быть использованы как образцы, содержащие определяемое вещество в известной концентрации (положительные образцы), так и образцы, заведомо не содержащие определяемое вещество (отрицательные образцы).

III. Определение линейности

3.1. Линейность метода определяют, проводя анализ проб с различной концентрацией (при разработке метода – не менее 5 концентраций, при ревалидации – не менее 3 концентраций) анализируемого вещества или образцов, содержащих внесенный специфический аналит в диапазоне, предусмотренном методом. По результатам анализа строят график вручную или с помощью компьютерной обработки, для построения графика отмечают на оси ОХ – ожидаемое количество анализируемого соединения; на оси ОУ – величину аналитического сигнала.

3.2. Стандартное отклонение и доверительный интервал точки пересечения графика с осью ОУ и наклона линии регрессии могут быть вычислены методом наименьших квадратов или с помощью компьютерной обработки с пакетом статистических программ для регрессионного анализа.

3.3. Вывод о линейности может быть сделан при соблюдении следующих условий:

– измеренные значения лежат на линии регрессии или равномерно распределены по обе стороны от нее (отклонение не должно превышать 10 %);

– коэффициент корреляции превышает 0,9;

– начало координат находится внутри доверительного интервала точки пересечения графика с осью ОУ (если график должен проходить через 0).

IV. Определение предела обнаружения

4.1. Предел обнаружения может быть установлен с использованием визуальной или инструментальной оценки.

4.2. При использовании визуальной оценки проводят анализ образцов с различной известной концентрацией специфичного аналита. Пределом обнаружения считают наименьшую концентрацию специфичного аналита, которая достоверно определяется с помощью валидируемого метода.

4.3. При использовании инструментальной оценки предел обнаружения метода устанавливают расчетным путем по соотношению аналитического сигнала анализируемой пробы и контрольного раствора (соотношение «сигнал/шум»). Это соотношение должно быть не менее 3 : 1.

V. Оценка предела количественного определения

5.1. Установление предела количественного определения (*limit of quantification, LOQ*) проводится расчетным путем на основании величины стандартного отклонения и угла наклона графика при определении линейности.

5.2. Формула расчета предела количественного определения:

$$LOQ = 10\frac{SD}{b}, \text{ где}$$

SD – стандартное отклонение сигнала;

b – наклон калибровочной прямой.

5.3. Для оценки предела количественного определения рекомендуется использовать не менее 5 повторов для нескольких концентраций из нижней части диапазона определяемых величин метода.

Приложение 3

Определение показателей точности метода контроля

I. Общие положения

1.1. Оценку показателей точности метода проводят на основании результатов внутрилабораторных (для оценки повторяемости) или межлабораторных (для оценки воспроизводимости) испытаний. Межлабораторные испытания должны проводиться с привлечением не менее двух независимых лабораторий.

1.2. Показатели точности – прецизионность и правильность – определяются только для количественных методов контроля.

1.3. Концентрации определяемого специфичного аналита в образцах, используемых при определении показателей точности метода, должны быть равномерно распределены в пределах, установленных для определяемого показателя.

II. Определение повторяемости

2.1. Повторяемость метода характеризуется стандартным отклонением повторяемости SD_R. Стандартное отклонение определяют при многократном (минимум 15 измерений) исследовании нескольких образцов. Многократное определение проводят при стандартизованных условиях, то есть выполняют серию определений одно за другим в одной лаборатории с применением одного метода, одной пробы, одним оператором, на одном комплекте оборудования и средств измерения.

2.2. Для оценки повторяемости проводят определение показателя в образцах, выбранных и приготовленных в соответствии с СОП на метод контроля. Оценку повторяемости метода проводят на основании минимум 15 измерений для заявленного диапазона концентраций (то есть, используя 3 концентрации, по 5 определений для каждой из них). Рассчитывают стандартное отклонение результатов, полученных в условиях повторяемости (SD_R), и доверительный интервал среднего значения для низкой, средней и высокой концентрации диапазона.

2.3. Доверительные интервалы среднего значения при уровне надежности 95 % служат оценкой повторяемости метода.

III. Определение воспроизводимости

3.1. Воспроизводимость метода характеризуется стандартным отклонением воспроизводимости SD_r. Для определения воспроизводимости проводят определение показателя в образцах, выбранных и приготовленных в соответствии с СОП на метод контроля, в различных организациях, одним методом, на идентичных частях одной пробы, учитывая следующие факторы:

– разные операторы;

– различные комплекты испытательного оборудования и средств измерения, предусмотренные СОП на метод контроля.

3.2. Для оценки воспроизводимости проводят определение показателя в образцах, выбранных и приготовленных в соответствии с СОП на метод контроля. Для получения оценки воспроизводимости метода необходимо провести минимум 15 измерений для заявленного диапазона концентраций (то есть, используя 3 концентрации, по 5 определений для каждой из них). Рассчитывают стандартное отклонение результатов, полученных в условиях воспроизводимости (SD_r), и доверительный интервал разности средних значений, полученных в разных лабораториях для низкой, средней и высокой концентрации диапазона.

3.3. Доверительные интервалы среднего значения при уровне надежности 95 % служат оценкой воспроизводимости метода.

IV. Определение правильности

4.1. Для нового метода с целью определения правильности применяют следующие подходы:

– новый метод сравнивается с другим методом, точность которого установлена;

– используются образцы, полученные методом «добавок». Образцы с внесенным в них веществом в концентрациях, охватывающих диапазон определяемых величин, исследуются в соответствии с СОП.

По результатам анализа строят график, для этого отмечают на оси ОХ ожидаемое количество анализируемого вещества; на оси ОУ – измеренное количество анализируемого вещества.

4.2. Для определения правильности проводят определение значения показателя в образцах, содержащих анализируемое вещество в необходимой концентрации (низкая, средняя, высокая концентрация). Анализ проводят не менее 5 раз для каждой из концентраций.

При отсутствии систематической ошибки измеренные значения должны лежать на прямой линии, проходящей через начало координат и имеющей наклон.

Рассчитывают стандартное отклонение и доверительный интервал точки пересечения графика с осью ОУ и угол наклона графика. Для построения графика используют метод наименьших квадратов, для расчета коэффициентов – регрессионный анализ. Алгоритм расчета зависит от метода анализа и плана эксперимента.

4.3. Правильность считают удовлетворительной при соблюдении следующих условий:

– значения, полученные по методике анализа, не должны различаться на значительную величину (не должны превышать доверительный интервал среднего значения);

– доверительный интервал ($P = 95$ %) точки пересечения графика с осью ОУ должен включать начало координат;

– доверительный интервал ($P = 95$ %) наклона линии регрессии должен включать единицу (1) и быть в пределах 0,9—1,1.

Приложение 4

Пример формы протокола валидации

1. Организация: _____
2. Подразделение: _____
(Наименование лаборатории, производившей непосредственные испытания (исследования)

_____

3. СОП, в соответствии с которой проводилась оценка результатов (номер, название, дата принятия): _____

_____

4. Сведения об используемых средствах измерения и испытательном оборудовании, включающие информацию о поверке средств измерений и калибровке оборудования: _____

_____

5. Сведения об используемых реактивах: _____

_____

6. Сведения об используемых образцах: _____

_____

7. Результаты исследований: _____

_____

_____

8. Вывод: _____

_____

Испытания провели:

Исполнитель _____ (Ф.И.О. Исполнителя)

Руководитель лаборатории_____(Ф.И.О. Руководителя)

Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Методические указания
МУК 4.2.3389—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 27.12.16

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 101

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru