

1 – Автономное объединение «ШТАДА Фармдевелопмент» АО «НИЖФАРМ», 109029, Россия, г. Москва, Автомобильный проезд, 6

1 – Autonomous Incorporation «STADAPharmdevelopment», JSC «NIZHPHARM», 6, Avtomobilnyy proyezd, Moscow, 109029, Russia

\* адресат для переписки:  
E-mail: [naumepshtein@gmail.com](mailto:naumepshtein@gmail.com)  
Тел.: 8 (985) 771 73 59

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОЙ ПРЕЦИЗИОННОСТИ (ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ) ПРИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК В ФАРМАЦИИ

Н.А. Эпштейн<sup>1\*</sup>

**Резюме.** Рассмотрены достоинства и недостатки шести способов оценки внутрилабораторной прецизионности (IP) для валидации аналитических методик. Установлено что только четыре из них могут быть рекомендованы для оценки IP, причем три – с ограничениями. Даны рекомендации по использованию рассмотренных способов оценки IP. Показано, что использование наиболее широко применяемого способа оценки IP – по относительному стандартному отклонению совокупности результатов химиков – может приводить к получению ошибочного вывода о внутрилабораторной прецизионности методики. Предложен новый (наиболее универсальный) способ оценки внутрилабораторной прецизионности, который имеет хорошую перспективу применения в фармации.

**Ключевые слова:** валидация, внутрилабораторная прецизионность, внутрилабораторная воспроизводимость, промежуточная прецизионность.

### INTERMEDIATE PRECISION DETERMINATION AT VALIDATION OF METHODS IN PHARMACY

N.A. Epshtein<sup>1\*</sup>

**Abstract.** Merits and demerits of six ways of an assessment of an intermediate precision (IP) for validation of analytical methods are considered. It is established that only four of them can be recommended for IP assessment, and three – with restrictions. Recommendations about use of the considered ways of an assessment of IP are made. It is shown that use of the most widely applied way of an assessment of intermediate precision – on a relative standard deviation of set of results of chemists, can lead to receiving a wrong conclusion about an IP of a method. It is offered the new (most universal) way of an assessment of an intermediate precision, that has perspective of application in pharmacy.

**Keywords:** validation, intermediate precision, intra-laboratory precision, within-laboratory precision, within-laboratory reproducibility, ruggedness.

## ВВЕДЕНИЕ

Внутрилабораторная прецизионность (воспроизводимость) является одной из основных характеристик, определение которых требуется при валидации аналитических методик в фармации [1]. К настоящему времени предложено несколько способов ее оценки без критического рассмотрения их применимости. Это может привести к неправильным выводам о внутрилабораторной прецизионности методик.

**Цель статьи:** 1) рассмотрение способов оценки внутрилабораторной прецизионности методик, их ограничений и преимуществ; 2) предложение нового, универсального способа оценки внутрилабораторной прецизионности для методик, связанных с нормируемой верхней или верхней и нижней границами содержания определяемого вещества.

Отметим, что в литературе имеется несколько альтернативных названий валидационной характеристики intermediate precision ICH [1] как на английском, так и на русском языках.

- В русскоязычной литературе валидационная характеристика intermediate precision сначала переводилась как «внутрилабораторная воспроизводимость» [2, 3]. В литературе, не связанной с фармацией, и прежде всего в ГОСТах, стали использовать дословный перевод: «промежуточная прецизионность» [4–6]. Однако в фармации этот термин не получил распространения. Напротив, наиболее часто используют термин «внутрилабораторная прецизионность» [7–13], что более логично по смыслу, так как речь идет об оценке, связанной с результатами анализов внутри одной лаборатории. Заметим также, что в фармации внутрилабораторную прецизионность определяют в условиях варьирования только трех факторов (различные химикаты, различные дни, различные приборы) [14, раздел <1225>], поэтому ее можно рассматривать как частный случай промежуточной прецизионности [11]. В согласии с этим в ГФ XIII в разделе 1.1.12 «Валидация аналитических методик» говорится о промежу-

точной (внутрилабораторной) прецизионности аналитических методик.

- В англоязычной литературе аналогами термина «intermediate precision» (ICH) являются «intra-laboratory precision», «within-laboratory precision», «within-laboratory reproducibility», а также «ruggedness» (no USP) [14 – 31].

Для того чтобы понять требования к внутрилабораторной прецизионности, рассмотрим основные определения вышеупомянутой валидационной характеристики.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОЙ ПРЕЦИЗИОННОСТИ ГАРМОНИЗИРОВАННОЕ ПО ICH

«Внутрилабораторная прецизионность устанавливает влияние случайных факторов на прецизионность валидируемой аналитической методики. Типичными исследуемыми факторами являются различные дни, различные аналитики, различное оборудование и т.п. Не считается необходимым изучать влияние каждого фактора отдельно. При изучении влияния различных факторов предпочтительно использовать планирование эксперимента» [1, 10].

**United States Pharmacopoeia** [14]. Раздел <1225> *Validation of compendia procedures*. «Внутрилабораторная прецизионность (intermediate precision; также известная как надежность – ruggedness) выражает внутрилабораторную вариабельность при проведении испытаний в разные дни или разными аналитиками, или на разном оборудовании в одной лаборатории... Документы ICH рекомендуют оценивать повторяемость с использованием минимум девяти определений, охватывающих всю аналитическую область методики (т.е. три концентрации и три повторения для каждой концентрации), или с использованием шести определений при 100% испытываемой концентрации».

Раздел <1092> *Dissolution Procedure: Development and Validation*. «Для многих аналитических процедур внутрилабораторная прецизионность, как правило, оценивается путем определения вкладов в дисперсию и, возможно, путем сравнения средних (значений)». Следует обратить внимание на то, что в этом, значительно обновленном разделе, допускается необходимость сравнения средних результатов анализа при оценке внутрилабораторной прецизионности связано с тем, что в основном разделе <1225> пока нет рекомендации сравнивать средние значения. Однако логически понятно, что только на основании стандартных отклонений или относительных стандартных отклонений, без сравнения средних результатов анализа разных химиков нельзя получить надежную оценку внутрилабораторной прецизионности (воспроизводимости) методики. В пользу этого свиде-

тельствует рекомендация в разделе <1092>, посвященном внутрилабораторной прецизионности, в качестве критерия использовать различие между средними значениями растворения: «различие в средних значениях результатов растворения между любыми двумя условиями, при использовании одной и той же дозировки, не должно превышать абсолютных 10% во временных точках <85% растворения и абсолютных 5% для временных точек >85%» [14].

Перейдем к рассмотрению способов внутрилабораторной прецизионности методик, учитывая вышесказанное.

### Способ 1. Оценка внутрилабораторной прецизионности по относительному стандартному отклонению совокупности результатов двух химиков $RSD_T$

Для методик определения содержания основных веществ определяют стандартные отклонения результатов анализа каждого из химиков, проверяют, что экспериментальные значения  $RSD_i \leq 2,0\%$ . Затем проверяют, что для совокупности результатов обоих химиков значение  $RSD_T \leq 2,0\%$  (индекс Т от слова total – «общий», «совокупный»). Хотя этот способ пока еще является наиболее распространенным, он имеет существенный недостаток: не учитывается различие между средними результатами, полученными химиками. А это может приводить к ошибочному заключению о приемлемости внутрилабораторной прецизионности методики (это показано при рассмотрении способа б).

Очевиден вопрос: почему в качестве критерия взято именно значение  $RSD_T \leq 2,0\%$ , а не другое. Ответ, по-видимому, заключается в том, что в качестве критического значения  $RSD_T$  взято наименьшее из возможных приемлемых значений RSD по ставшей классической эмпирической формуле Горвица (Horwitz) для  $C=1$ , где  $C$  – массовая доля аналита в веществе. Отметим, что для примесей (то есть для низких концентраций определяемых веществ:  $C \ll 1$ ) для оценки приемлемости сходимости и воспроизводимости (внутрилабораторной прецизионности) в литературе приведены значительно более высокие пороговые значения RSD (таблица 1) в зависимости от предела количественного определения LQ [3 (С. 51), 19].

Таблица 1.

Допустимые значения прецизионности ( $RSD_{max}$ ) для методик определения примесей в зависимости от предела количественного определения QL [3 (С. 51), 19]

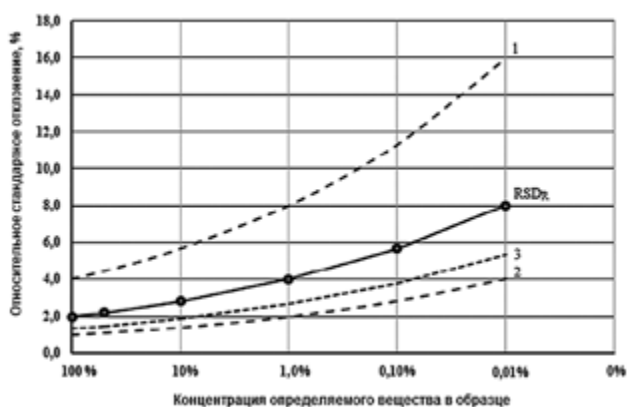
Диапазон концентраций	$RSD_{max}$	
	Повторяемость (сходимость)	Воспроизводимость
От QL до <2 QL	25,0%	30,0%
От 2 QL до <10 QL	15,0%	20,0%
От 10 QL до <20 QL	10,0%	15,0%
$\geq 20$ QL	5,0 %	10,0%

**Способ 2. Оценка внутрилабораторной прецизионности по формуле Горвица или по связанному с ней коэффициенту Хоррата**

Горвиц (Horwitz) с соавторами проанализировал несколько тысяч результатов межлабораторного тестирования аналитических методик в широком интервале концентраций. Он пришел к выводу, что существует взаимосвязь между концентрацией определяемого вещества, выраженной в массовых долях, и межлабораторным стандартным отклонением (reproducibility standard deviation), независимая от аналита, вспомогательных веществ и методики анализа [32, 33]. В результате была предложена формула зависимости средних значений относительного стандартного отклонения  $RSD_R$  от массовой доли определяемого компонента в анализируемом веществе (C) – формула Горвица:

$$RSD_r = 2^{(1-0,5 \log C)}, \quad (1)$$

где индекс R означает «reproducibility»; заметим, что в формулах коэффициентов Хоррата (ниже) используется символ  $PRSD_R$ , соответствующий  $RSD_R$  в формуле Горвица. Было предложено рассматривать как приемлемые результаты оценки межлабораторной воспроизводимости методик, если экспериментально полученные значения RSD попадают в доверительный интервал от  $0,5 \times RSD_R$  до  $2 \times RSD_R$ . Позднее появилась уточняющая рекомендация: «При оценке эффективности работы лабораторий значения вариабельности, в полтора-два раза превышающие прогнозируемые значения, рассчитанные с помощью уравнения на основании концентрации, считаются приемлемыми. Предполагаемая внутрилабораторная вариабельность, как правило, составляет половину или две трети межлабораторной вариабельности» [3, 30] (рисунок 1). Последняя оценка соответствует требованию для приемлемости внутрилабораторной прецизионности:



**Рисунок 1.** Зависимость относительного стандартного отклонения  $RSD_R$ , рассчитанного по формуле Горвица, от содержания определяемого вещества – сплошная линия. Пунктирные линии 1 и 2 – верхняя и нижняя границы значений «приемлемой» воспроизводимости по Горвицу соответственно; 3 – верхний предел приемлемых значений внутрилабораторной прецизионности =  $0,67 \times RSD_R$

ности: совокупное стандартное отклонение результатов анализа химиков  $RSD_T < 0,67 \times RSD_R$  (рисунок 1, область под кривой 3).

В настоящее время в качестве альтернативы оценки приемлемости значений RSD при валидации методик рассматривается подход Хоррата (Horrat), использующий так называемые коэффициенты Хоррата [20] – отношение экспериментально найденного относительного стандартного отклонения к стандартному отклонению, вычисленному по формуле Горвица (1):

для повторяемости

$$HORRAT_r = \frac{RSD_r, \%}{PRSD_r, \%} \quad (2)$$

для внутрилабораторной прецизионности

$$HORRAT_R = \frac{RSD_R, \%}{PRSD_R, \%} \quad (3)$$

Отметим, что значение  $RSD_R$  правильнее вычислять на основании дисперсионного анализа (ANOVA, см. ниже способ 4) [29], а не брать совокупное стандартное отклонение результатов двух химиков. В качестве приемлемых значений коэффициента Хоррата рассматривают: для межлабораторной воспроизводимости – интервал от 0,5 до 2; для результатов анализов в одной лаборатории для повторяемости – от 0,2 до 0,3; для внутрилабораторной прецизионности – от 0,2 до 1 [29]. Однако использование интервала значений коэффициента Хоррата противоречит сути RSD: чем меньше экспериментально найденное относительное стандартное отклонение, тем лучше прецизионность методики. Следовательно, должно быть предельное значение коэффициента Хоррата, а не интервал значений. Неудивительно поэтому, что для оценки приемлемости методик по показателю «внутрилабораторная прецизионность» имеется рекомендация использовать предельное значение коэффициента Хоррата  $\leq 2$  [6] или даже меньшее значение коэффициента Хоррата, например  $\leq 1,3$  [25].

Подчеркнем, что у способа 2, при всей привлекательности оценки внутрилабораторной прецизионности по простой формуле Горвица или по критерию Хоррата, имеется существенный недостаток: этот способ основан на эмпирической зависимости, которая, естественно, не может охватить все реальные результаты. Поэтому для фармации рекомендуется использовать способ 2 для предварительной оценки внутрилабораторной прецизионности [3 (С. 47)]. Это касается прежде всего методик количественного определения. Дело в том, что в области высоких концентраций определяемого вещества в образце концентрация мало влияет на прецизионность [3]: экспериментальные значения RSD в зависимости от концентрации могут расти даже медленнее, чем расчетное по фор-

муле Горвица. Напротив, для примесей в области малых концентраций экспериментальные значения RSD растут значительно быстрее, чем оценочные значения по формуле Горвица, то есть экспериментальные значения RSD получаются даже больше, чем расчетные для тех же концентраций [3, 30]. Поэтому для методик определения содержания примесей оценка внутрилабораторной прецизионности на основании формулы Горвица или коэффициента Хоррата, возможно, приемлема, но это требует дополнительного изучения.

### Способ 3. Оценка внутрилабораторной прецизионности с использованием F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента [2]

Готовят не менее 6 испытуемых растворов определяемого вещества при концентрации, близкой к номинальной. Каждый из растворов: а) готовится независимо от других растворов в соответствии с валидируемой методикой, б) хроматографируется как минимум 3 раза. Для каждого из растворов находят среднее значение содержания определяемого вещества

по результатам каждого из химиков  $\bar{X}_i$  и  $\bar{X}_j$ . Проводят статистическую обработку этих значений и определяют обобщенные средние результаты  $X_1 = \sum X_i/n$  и  $X_2 = \sum X_j/n$ , стандартные отклонения SD<sub>i</sub> и SD<sub>j</sub> относительные стандартные отклонения RSD<sub>i</sub> и RSD<sub>j</sub> отдельного результата.

Требование: сначала с помощью F-критерия Фишера показывают, что статистически эквивалентны стандартные отклонения SD<sub>i</sub> и SD<sub>j</sub>, результатов анализа, полученных разными химиками. Для этого вычисляют критерий Фишера как отношение большей дисперсии результатов анализов к меньшей дисперсии и сравнивают с табличным значением критерия Фишера  $F(P, f_1, f_2)$  для доверительной вероятности  $P=95\%$  и числа степеней свободы  $f_1=(n_1-1)$ ,  $f_2=(n_2-1)$ . Условием статистической эквивалентности результатов анализа, полученных разными химиками, является следующее выражение:

$$F = \frac{SD_{\text{большее}}^2}{SD_{\text{меньшее}}^2} < F(P, f_1 = n_1 - 1, f_2 = n_2 - 1). \quad (4)$$

Затем доказывают, что средние результаты статистически достоверно ( $P=95\%$ ) не отличаются друг от друга. Для этого вычисляют критерий t:

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{SD_1^2}{n_1} + \frac{SD_2^2}{n_2}}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{SD_1^2 + SD_2^2}{n}}}, \quad (5)$$

где  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  – средние результаты анализов, полученных химиками «1» и «2», SD<sub>1</sub> и SD<sub>2</sub> – стандартные откло-

нения отдельных определений при числе параллельных определений  $n_1$  и  $n_2$  соответственно (обычно  $n_1=n_2=n$ ). Сравнивают расчетную величину t с табличным значением t-критерия Стьюдента t ( $P=95\%$ ;  $f=n_1+n_2-2$ ) для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=n_1+n_2-2$  степеней свободы. Если расчетное значение t меньше табличного, то с 95%-й вероятностью можно сделать заключение о статистической незначимости различия средних результатов анализа, полученных двумя химиками. В противном случае средние результаты различаются статистически сильнее, чем это допускает случайная ошибка внутри серий анализа [34].

Достоинством способа 3 является то, что он основан на строгой теоретической базе. Однако он имеет существенный недостаток. При небольших значениях стандартных отклонений  $SD \ll 1$  t-критерий может указывать на статистически значимое отличие даже при близких, практически одинаковых значениях сравниваемых результатов анализов. Это вызвано тем, что t-критерий пропорционален отношению систематических и случайных ошибок.

В таблице 2 в качестве примера приведены исходные данные и результаты оценки внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения основного вещества в лекарственном препарате способом 3. Из таблицы 2 видно, что для дозировки 30 мг расчетное значение F-критерия Фишера 1,62 меньше табличной величины 5,05. То есть дисперсии результатов анализа обоих химиков статистически эквивалентны. Следовательно, можно использовать оценку внутрилабораторной прецизионности по t-критерию Стьюдента. Так как расчетное значение  $t = 3,46$  больше табличного  $t(P=95\%; f=10) = 2,23$ , то получаем вывод о статистической значимости различия средних результатов двух химиков. Однако это не говорит о неприемлемости внутрилабораторной прецизионности методики, поскольку с практической точки зрения различие средних результатов анализа  $|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|$  незначимо:  $(30,55 - 30,33) \times 100 / [(30,55 + 30,33) / 2] = 0,72\%$  при допуске содержания основного вещества  $\pm 7,5\%$  относительно номинального значения по спецификации.

Для дозировки 60 мг (таблица 2) расчетные значения критериев F-Фишера и t-Стьюдента меньше соответствующих табличных величин. Это является достаточным основанием для вывода о внутрилабораторной прецизионности методики.

### Способ 4. Оценка внутрилабораторной прецизионности методом одностороннего ANOVA

Этот способ также является статистически строгим. ANOVA (Analysis of Variances) может использоваться как при оценке внутрилабораторной прецизионности, так и при оценке межлабораторной

воспроизводимости (при трансфере методик). Для практического использования ANOVA важно, что об-счет результатов анализа легко проводится с помо-щью распространенного программного обеспечения, например Excel. Как правило, используют односторон-ний вариант – one-way ANOVA, а в качестве сравнивае-мых групп рассматривают результаты анализа каждого из химиков. Алгоритм ANOVA в Excel подробно изло-жен, например, в «Basic Concepts for ANOVA» [http://www.real-statistics.com/one-way-analysis-of-variance-anova/basic-concepts-anova], и поэтому не будем его рассматривать. Тем не менее для понимания сути вы-числений независимо от используемой програм-мы отметим, что при ANOVA определяются три вида прецизионности:

Таблица 2.

Результаты анализа порошка таблеток препарата 30 мг и 60 мг, полученные двумя химиками в одной аналитической лаборатории в разные дни и на разных приборах, для оценки внутрилабораторной прецизионности

№	Таблетки 30 мг		Таблетки 60 мг	
	Химик 1, мг/табл	Химик 2, мг/табл	Химик 1, мг/табл	Химик 2, мг/табл
1	30,43	30,38	57,72	57,59
2	30,40	30,66	57,31	58,19
3	30,33	30,61	57,66	57,98
4	30,16	30,52	58,00	57,94
5	30,30	30,45	57,93	58,14
6	30,37	30,69	57,86	57,35
Среднее значение	30,33	30,55	57,75	57,87
Стандартное отклонение (SD)	0,09621	0,1226	0,2488	0,3289
Дисперсия (SD <sup>2</sup> )	0,009257	0,01502	0,06191	0,10819
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	0,32	0,40	0,43	0,57
Расчетное значение F-критерия Фишера	1,62		1,75	
Табличное значе-ние F-критерия Фишера	5,05		5,05	
Расчетное значение t-критерия Стьюдента	3,46		0,70	
Табличное значе-ние t-критерия Стьюдента	2,23		2,23	

**а) Внутригрупповая прецизионность** (within-group precision; Within Group in Excel) выражает вклад случайных ошибок во внутрилабораторную прецизионность:

$$SD_r^2 = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{p \cdot (n-1)} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n [(X_{ij} - \bar{X}_i)^2] / (n-1)}{p} = \frac{\sum_{i=1}^p SD_i^2}{p} = \frac{SD_1^2 + SD_2^2}{2} \quad (6)$$

$$\bar{X}_i = \frac{\sum_{j=1}^n X_{i,j}}{n} \quad (7)$$

где  $p$  – количество групп (в нашем случае химиков),  $n$  – количество результатов анализа в группе, индекс  $i$  – номер группы,  $j$  – номер результата анализа в груп-пе. В формуле (6) правая часть уравнения записана в предположении, что исследования проводятся дву-мя химиками (в разные дни на разных приборах). Каж-дый химик анализирует по  $n=6$  проб одного и того же образца на уровне около 100% номинального содер-жания по валидируемой методике в соответствии с рекомендацией ICH и получает  $n$  результатов со зна-чениями дисперсий соответственно  $SD_1^2$  и  $SD_2^2$ . Аль-тернатива также по ICH: каждый химик анализирует как минимум по 9 проб не менее чем на трех уровнях концентраций, одинаковых для обоих химиков.

**б) Межгрупповая прецизионность** (between-group precision; Between Group in Excel) выражает вклад систематических ошибок:

$$S_g^2 = S_x^2 - \frac{S_r^2}{n} = \frac{\sum_{i=1}^p (\bar{X}_i - \bar{X})^2}{(p-1)} - \frac{S_r^2}{n} = \frac{[(\bar{X}_1 - \bar{X})^2 + (\bar{X}_2 - \bar{X})^2]}{(p-1)} - \frac{S_r^2}{n} \quad (8)$$

где  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  – средние результаты анализа, полученные двумя химиками,  $\bar{X}$  – среднее значение совокупности результатов анализа обоих химиков.  $\bar{X}$  вычисляется путем суммирования всех результатов анализа и деле-нием полученной суммы на произведение  $p \cdot n$ :

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n X_{ij}}{p \cdot n} \quad (9)$$

**в) Внутрилабораторная прецизионность** (intermediate precision; Total in Excel), являющаяся ос-новной целью расчетов, представляет собой сумму внутригрупповой и межгрупповой прецизионностей:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_g^2 \quad (10)$$

При валидации методик с использованием ANOVA внутрилабораторная прецизионность рассматри-вается как приемлемая, если расчетное значение  $F < F_{критическое}$ . Отметим, что при использовании

Таблица 3.

**Результаты ANOVA при оценке внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения таблеток 30 мг (на основании исходных данных таблицы 2)\***

Однофакторный дисперсионный анализ						
ИТОГИ						
Группы	Счет	Сумма	Среднее	Дисперсия		
Столбец 1	6	181,99	30,3316667	0,009256667		
Столбец 2	6	183,31	30,5516667	0,015016667		
Дисперсионный анализ						
Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F критическое
Между группами	0,1452	1	0,1452	11,96374622	0,006134404	4,964602744
Внутри групп	0,1213667	10	0,01213667			
Итого	0,2665667	11				

Примечание: \* – пример Excel-таблицы.

Таблица 4.

**Результаты ANOVA при оценке внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения таблеток 60 мг (на основании исходных данных таблицы 2)\***

Однофакторный дисперсионный анализ						
ИТОГИ						
Группы	Счет	Сумма	Среднее	Дисперсия		
Столбец 1	6	346,48	57,7466667	0,061906667		
Столбец 2	6	347,19	57,865	0,10819		
Дисперсионный анализ						
Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F критическое
Между группами	0,0420083	1	0,04200833	0,493934821	0,49821141	4,964602744
Внутри групп	0,8504833	10	0,08504833			
Итого	0,8924917	11				

Примечание: \* – пример Excel-таблицы.

ANOVA имеет ограничение, обусловленное теми же причинами, что и при использовании способа 3.

В качестве примера в таблицах 3 и 4 представлены результаты обсчета в Excel исходных данных по результатам анализа химиков из таблицы 2. При этом в таблицах 3 и 4 используются следующие обозначения, характерные для Excel: Группы (Groups) – в нашем слу-

чае – химики; Счет (Count) – количество результатов анализа (количество проанализированных проб) в каждой группе; Сумма (Sum) – сумма результатов анализа; Среднее (Mean) – среднее значение результатов анализа; Дисперсия (Variance) – значение дисперсии; SS – сумма квадратов отклонений от средних значений  $\bar{X}_i$ ; (внутригрупповая сумма квадратов отклонений)

или от совокупного среднего значения  $\bar{X}$  для всех групп (межгрупповая сумма квадратов отклонений);  $df$  – число степеней свободы;  $MS = SS/df$  – среднее квадратическое (Mean Square);  $F$  – экспериментальное значение критерия Фишера для заданной величины  $\alpha$  (вероятности отрицания нулевой гипотезы о статистической эквивалентности значений  $F$ ; обычно  $\alpha=0,05$ , что соответствует 95% доверительной вероятности);  $p$  – расчетная оценка значения  $\alpha$ ;  $F_{критическое}$  ( $F_{crit}$ ) – критическое, табличное значение  $F$ -критерия Фишера.

Из таблиц 3 и 4 видно, что для дозировки 60 мг (таблица 4)  $F < F_{критическое}$ , то есть внутрилабораторная прецизионность подтверждена, а для дозировки 30 мг (таблица 3)  $F > F_{критическое}$ , то есть внутрилабораторная прецизионность не подтверждена, как и в случае использования способа 3. И это несмотря на то, что в ANOVA вычисляются другие по смыслу и по значениям критерии по сравнению со способом 2. Это говорит о том, что в ANOVA выводы о внутрилабораторной прецизионности методик также зависят от соотношения случайных и систематических ошибок. При малых случайных ошибках систематическая ошибка может оказаться статистически значимой. Это легко можно оценить, например, по отношению  $|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|$  к полусумме средних результатов анализа в процентах (как для способа 3) или, что более надежно, сравнением с максимально допустимой неопределенностью анализа (см. ниже).

Таким образом, при использовании для оценки внутрилабораторной прецизионности способа 3, основанного на  $F$ -критерии Фишера и  $t$ -критерии Стьюдента, или при использовании способа 4 (ANOVA) выполнение критериальных требований является достаточным, но не обязательным условием для заключения о внутрилабораторной прецизионности валидируемой методики.

**Способ 5. Оценка внутрилабораторной прецизионности сравнением доверительного интервала совокупности результатов анализа химиков  $\Delta_{intra}$  с максимально допустимой относительной неопределенностью анализов  $\max\Delta_{As}$  [9, 12, 35]**

При этом способе оценки внутрилабораторной прецизионности используется неравенство: доверительный интервал  $\Delta_{intra}$ , % совокупности результатов, полученных в разных условиях (разные химикаты, дни, оборудование), не должен превышать максимально допустимой относительной неопределенности анализа  $\max\Delta_{As}$ :

$$\Delta_{intra} \% = t[P = 95\%, (f = n \times (m - 1))] \times SD_{Z-intra} \% \leq \max\Delta_{As} \quad (11)$$

Для субстанций

$$\max\Delta_{As} = B \quad (12)$$

Для ГЛС

$$\max\Delta_{As} = 0,32 \times B, \quad (13)$$

где для субстанций  $B = B_H - 100$ , для готовых лекарственных средств (ГЛС)  $B = (B_H - B_L)/2$ ;  $B_H$  и  $B_L$  – соответственно верхняя и нижняя граница нормируемого содержания определяемого вещества в %. «Анализируют  $n=5$  (навесок) одной и той же серии исследуемого препарата в  $m=3$  разных дня... Все полученные результаты ( $Z$ ) должны принадлежать одной и той же генеральной совокупности. Поэтому для них рассчитывают объединенное среднее значение ( $Z$ -intra), стандартное отклонение ( $SD_{Z-intra}$ , %), относительный доверительный интервал  $\Delta_{intra}$ , %» [9, 12].

Подчеркнем, что использование формулы (11) имеет ограничение: сначала требуется подтвердить, что все полученные результаты принадлежат одной и той же генеральной совокупности. То есть сначала надо с помощью  $F$ -критерия Фишера проверить, что расчетное значение  $F$ -критерия Фишера меньше табличного значения [как и в способе 3 – по формуле (4)]. В случаях, когда это требование не выполняется, способ 5 неприемлем для оценки внутрилабораторной прецизионности. Кроме этого, отметим, что в соответствии с рекомендациями ИСН в формуле (11) для методик контроля качества лекарственных субстанций и ГЛС следует брать  $n=6$  и  $m=2$ .

Альтернативой способу 5 является представленный ниже способ 6, также использующий максимально допустимую неопределенность результатов анализа, но не требующий соответствия отношения дисперсий значению  $F$ -критерия Фишера и учитывающий не только случайные, но и систематические ошибки.

**Способ 6 (новый). Оценка внутрилабораторной прецизионности путем сравнения максимального различия относительных средних результатов анализа химиков  $\Delta_{max}$  с максимально допустимой относительной неопределенностью анализов  $\max\Delta_{As}$**

Способ 6 применим для методик, для которых нормируется верхняя граница или верхняя и нижняя границы допустимого содержания определяемого вещества.

При оценке внутрилабораторной прецизионности методик фактически требуется оценить приемлемость различия результатов, получаемых разными химиками. Для этого логично сравнивать максимально возможное значение разности относительных средних результатов анализа химиков  $\Delta_{max}$  с максимально допустимой относительной неопределенностью результатов анализов  $\max\Delta_{As}$ . Учитывая выражение для  $\max\Delta_{As}$  [9, 12, 35], условие приемлемости внутрилабо-

раторной прецизионности методики можно записать в виде неравенства:

Для методик с верхней нормируемой границей содержания определяемого вещества (в частности для методик анализа субстанций):

$$\Delta_{\max} = |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| + (\Delta\bar{X}_1 + \Delta\bar{X}_2) \leq \max \Delta_{A_5} = B. \quad (14)$$

Для методик с верхней и нижней нормируемыми границами определяемого вещества (методики контроля качества ГЛС):

$$\Delta_{\max} = |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| + (\Delta\bar{X}_1 + \Delta\bar{X}_2) \leq \max \Delta_{A_5} = k \cdot B/2 = 0,32 \cdot (B_H - B_L)/2, \quad (15)$$

где  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  – средние результаты анализа химиков, выраженные как относительные величины в % (относительно номинального содержания определяемого вещества в случае ГЛС; процентное содержание в случае субстанций и примесей);  $\Delta\bar{X}_1$  и  $\Delta\bar{X}_2$  – доверительные интервалы значений  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  ( $\Delta\bar{X}_i = t \cdot SD_i / \sqrt{n}$ );  $t$  – критерий Стьюдента,  $SD$  – стандартное отклонение,  $n$  – количество результатов анализа химика;  $B = B_H - 100$  – для субстанций,  $B = B_H$  – для примесей,  $B = (B_H - B_L)/2$  – для ГЛС;  $B_H$  и  $B_L$  – верхняя и нижняя границы нормируемого содержания определяемого вещества в % соответственно. Значение коэффициента  $k=0,32$  соответствует доверительной вероятности 95%, общепринятой в аналитической химии.

Значение коэффициента  $k$  определяется из так называемого принципа незначимости. Он заключается в следующем [9, 12]: «Доверительный интервал  $\Delta_2$  является значимым на уровне  $P\%$  [незначимым на уровне  $(100-p)\%$ ] по сравнению с доверительным интервалом  $\Delta_1$ , если объединенный доверительный интервал  $\Delta_p$  превышает  $\Delta_1$  не более чем на  $p\%$ », т.е.

$$\Delta_p = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \leq \left[ \frac{100+p}{100} \right] \cdot \Delta_1. \quad (16)$$

Из (16)

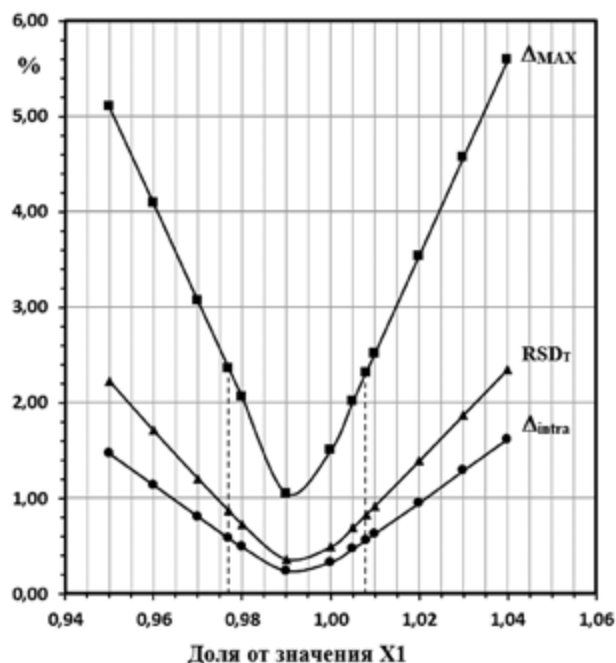
$$\Delta_2 \leq \sqrt{\left(1 + \frac{p}{100}\right)^2 - 1} \cdot \Delta_1 = k \cdot \Delta_1 \quad \text{и} \quad k = \sqrt{\left(1 + \frac{p}{100}\right)^2 - 1}, \quad (17)$$

где  $p=(100-P)\%$ . Подставляя в (17)  $p=5$ , получаем для доверительной вероятности  $P=95\%$   $k=0,32$ . Заметим, что с увеличением доверительной вероятности значение  $k$  уменьшается: для  $P=99\%$   $k=0,14$ , для  $P=99,9\%$   $k=0,045$ , при этом соответственно возрастают требования к внутрилабораторной прецизионности методики.

В таблице 5 в качестве примера представлены результаты применения способа 6 для оценки внут-

рилабораторной прецизионности методики количественного определения содержания лекарственного вещества в препарате. Видно, что для обеих дозировок, 30 мг и 60 мг, выполняется условие приемлемости внутрилабораторной прецизионности:  $\Delta_{\max}$  для дозировки 30 мг составляет 1,50, а для дозировки 60 мг – 1,21, что соответствует требованию критерия приемлемости:  $\Delta_{\max} \leq \max \Delta_{A_5} = 2,40$ .

Способ 6 дает возможность наглядно показать, что использование только совокупного стандартного отклонения  $RSD_T$  или только доверительного интервала  $\Delta_{intra}$  (способ 5) может приводить к ошибочному заключению о приемлемости внутрилабораторной прецизионности: различие средних результатов (с учетом доверительных интервалов) превышает допустимую максимальную неопределенность результатов анализа  $\Delta_{A_5}$ . На рисунке 2 изображены зависимости  $\Delta_{\max}$ ,  $RSD_T$  и  $\Delta_{intra}$  от результатов анализа второго химика ( $X_1$ ) при неизменных результатах анализа первого химика ( $X_2 = \text{const}$ ). Результаты анализа второго химика (отдельные результаты и соответственно средние значения) варьировали путем умножения на коэффициенты от 0,95 до 1,04 (ось абсцисс) и определяли, как изменяются при этом значения  $RSD_T$ , % – нижняя кривая, и  $\Delta_{\max}$ , % – верхняя кривая. То есть мо-



**Рисунок 2.** Зависимость максимальной разницы средних результатов анализа химиков  $\Delta_{\max}$  (способ 6), совокупного относительного стандартного отклонения  $RSD_T$  (способ 1) и доверительного интервала совокупности результатов анализа химиков  $\Delta_{intra}$  (способ 5) от варьируемых результатов анализа  $X_1$  при неизменных  $X_2$ . Пунктирными линиями ограничена область приемлемых значений внутрилабораторной прецизионности, которая соответствует максимально допустимой неопределенности результатов  $\Delta_{A_5} = 2,40\%$  (таблица 5, таблетки препарата дозировкой 30 мг)



Таблица 5.

Результаты оценки внутрилабораторной прецизионности методики определения лекарственного вещества в таблетках препарата 30 мг и 60 мг способом 6

№	Таблетки 30 мг		Таблетки 60 мг	
	Химик 1, мг/табл ( $X_2$ )	Химик 2, мг/табл ( $X_1^*$ )	Химик 1, мг/табл ( $X_2$ )	Химик 2, мг/табл ( $X_1^*$ )
1	30,43	30,38	57,72	57,59
2	30,4	30,66	57,31	58,19
3	30,33	30,61	57,66	57,98
4	30,16	30,52	58,00	57,94
5	30,30	30,45	57,93	58,14
6	30,37	30,69	57,86	57,35
Средний результат анализа, мг	30,33	30,55	57,75	57,87
Стандартное отклонение SD, мг	0,096212	0,122543	0,248811	0,328922
Стандартное отклонение SD, %	0,320705	0,408475	0,414684	0,548204
Количество результатов анализа (проб) n	6		6	
Число степеней свободы $f=n-1$	5		5	
Критерий Стьюдента t	2,57		2,57	
Верхняя нормируемая граница, $V_H$ , %	107,5		107,5	
Нижняя нормируемая граница, $V_L$ , %	92,5		92,5	
Коэффициент k	0,32		0,32	
Максимально допустимая неопределенность анализов $\max \Delta_{A5}$	2,40		2,40	
Дозировка (содержание основного вещества, указываемое на этикетке), мг	30		60	
Среднее значение $X_1$ , %	101,11		96,24	
Среднее значение $X_2$ , %	101,84		96,44	
Доверительный интервал $\Delta X_1$ , %	0,34		0,44	
Доверительный интервал $\Delta X_2$ , %	0,43		0,58	
$\Delta_{MAX} = (X_1 + \Delta X_1) - (X_2 - \Delta X_2)$ , %	1,50		1,21	

Примечание: \* –  $X_1$  обозначены результаты второго химика, так как у его результатов больше стандартное отклонение SD (следовательно, и дисперсия), чем у результатов первого химика.

делировали влияние различия средних результатов анализа химиков на оценку внутрилабораторной прецизионности методики. Из рисунка 2 видно, что зависимости имеют форму; близкую к параболической. При этом  $\Delta_{\text{MAX}}\%$  находится в границах приемлемости  $\Delta_{\text{MAX}} < \max \Delta_{\text{AS}} = 2,40\%$  только в области от  $0,977 \times X1$  до  $1,008 \times X1$  (область, ограниченная пунктирными линиями). В то же время значения  $\text{RSD}_T$  и  $\Delta_{\text{intra}}$  удовлетворяют критерию приемлемости (соответственно  $\leq 2,0\%$  и  $\leq 2,4\%$ ) в более широкой области значений  $X1$ , там, где  $\Delta_{\text{MAX}}$  превышает максимально допустимую неопределенность результатов анализов. То есть при использовании способов 1 и 5 имеется риск получения ошибочных заключений о приемлемости внутрилабораторной прецизионности методик. Отметим, что в случае способа 5 этот риск можно исключить, если проверять незначимость различия средних результатов анализа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе рассмотрены способы оценки внутрилабораторной прецизионности аналитических методик в фармации. Критерии приемлемости и недостатки (ограничения) этих способов, а также рекомендации по их применению систематизированы в таблице 6. Основные рекомендации следующие:

- **Способ 1** (оценка внутрилабораторной прецизионности по совокупному стандартному отклонению  $\text{RSD}_T$ ) не рекомендуется использовать для методик определения содержания основных веществ.
- **Способ 2** (оценка внутрилабораторной прецизионности на основании формулы Горвица или коэффициента Хоррата) не рекомендуется использовать как для методик определения содержания основных веществ, так и для методик определения примесей.

**Для оценки внутрилабораторной прецизионности методик рекомендуется использовать любой из способов 3–6, поскольку они являются теоретически обоснованными, но только с учетом их ограничений.**

**При использовании способов 3 и 4** (оценка по критериям F-Фишера и t-Стьюдента) выполнения критериев приемлемости достаточно для заключения о внутрилабораторной прецизионности методики. Однако существует вероятность того, что можно получить ошибочное заключение о несоответствии внутрилабораторной прецизионности методики критериям приемлемости в случае неблагоприятного соотношения систематических и случайных ошибок. Поэтому в случае отрицательного заключения по способам 3 и 4 следует использовать другой способ оценки внутрилабораторной прецизионности.

**При использовании способа 5** (сравнение доверительного интервала совокупности результатов анализа химиков с максимальной относительной неопределенностью анализов) необходимо *предварительно* оценивать незначимость различия средних результатов анализа.

**Наиболее универсальным для оценки внутрилабораторной прецизионности является способ 6** (сравнение максимального различия относительных средних результатов  $\Delta_{\text{MAX}}$  с максимально допустимой относительной неопределенностью анализа  $\Delta_{\text{AS}}$ ). Он не зависит от соотношения случайных и систематических ошибок, не требует статистической эквивалентности выборок по F-критерию Фишера и не связан с эмпирическими формулами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). ICH. 2005.
2. Н.А. Эпштейн. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ-методик в фармацевтическом анализе (обзор) // Хим.-фарм. Журн. 2004. Т. 38. № 3. С. 40–56; N.A. Epshtein. Validation of HPLC Techniques for Pharmaceutical Analysis // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2004. V. 38. № 4. P. 212-229. URL: <http://www.chem.folium.ru/index.php/chem/article/view/2339/1826> (дата обращения 15.01.2016).
3. Й. Эрмер, Д. Х. МакБ. Миллер. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучших практик. – М.: ВИАЛЕК, 2013. 495 с.; J. Ermer, J.H. McB. Miller. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. 403 p.
4. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. – М.: Госстандарт России, 2002.
5. РМГ 61 – 2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – М.: Стандартинформ, 2012.
6. Ч.Ч. Чан. Валидация аналитических методик: принципы и подходы // Производство лекарственных средств. Контроль качества и регулирование. Практическое руководство / Пер. с англ. под ред. В.В. Береговых. – СПб.: ЦОП «Профессия», 2013. С. 831–903.
7. МИ 2335-2003. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. – Екатеринбург. 2003. 79 с.

Таблица 6.

Сводная таблица способов оценки внутрилабораторной прецизионности (ВП) при валидации аналитических методик

Наименование	Критерии приемлемости	Недостатки (ограничения)	Рекомендации / Примечания
Способ 1	Для основных веществ $RSD_T \leq 2,0$ . Для примесей – см. таблицу 1	Может давать завышенную оценку приемлемости ВП	Не рекомендуется использовать для методик определения содержания основных веществ
Способ 2	$RSD_T < 0,67 \times RSD_R$ , где $RSD_R$ – значение $RSD$ , вычисленное по формуле Горвица с использованием концентрации определяемого вещества, выраженной в массовых долях С. Коэффициент Хоррата $\leq 2$	Эмпирический подход	Только для предварительной оценки ВП [3]
Способ 3	$F < F(P=95\%; f_1 = n_1 - 1, f_2 = n_2 - 1)$ и $t < t(P=95\%; f = n_1 + n_2 - 2)$	Существует вероятность получения ошибочного заключения о внутрилабораторной прецизионности методики в случае неблагоприятного соотношения систематических и случайных ошибок	В случае невыполнения требования t-критерия Стьюдента использовать другой способ оценки ВП
Способ 4	$F < F_{критическое}$	Недостаток такой же, что и для способа 3	В случае невыполнения требования F-критерия Фишера использовать другой способ оценки ВП
Способ 5	$\Delta_{intra} \% \leq \max \Delta_{As} \%$	Не учитывается влияние на вывод о приемлемости ВП различия средних результатов анализа химиков. А без учета незначимости этого различия имеется риск получения завышенной оценки приемлемости ВП	Способ 5 использовать, если различие между средними результатами анализа химиков незначимо с практической точки зрения
Способ 6	$\Delta_{max} \leq \max \Delta_{As} \%$		Рекомендуется для широкого использования в фармации. С помощью этого способа показана возможность ошибочного вывода о приемлемости ВП методики при использовании способа 1

8. МИ 2336-2002. ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – Екатеринбург. 2004. 45 с.
9. А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпружников. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. 2004. № 3. С. 1–15.
10. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна, М.А. Гетьмана, А.А. Малина. – М. 2007. 57 с.
11. А.Н. Смагунова, У.В. Ондар, В.А. Козлов. Изменение смыслового содержания терминов метрологических характеристик методик выполнения измерений в количественном химическом анализе // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14. № 4. С. 254–259.
12. А.И. Гризодуб. Стандартизованные процедуры методик контроля качества лекарственных средств // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. Т. 3. – Харьков: Изд. НТМТ, 2011. С. 934–1063.
13. Э. Причард, В. Барвик. Контроль качества в аналитической химии / Пер. с англ. под ред. И.В. Болдырева. – СПб.: ЦОП «Профессия», 2012. 320 с.; E. Prichard and V. Barwick. Quality Assurance in Analytical Chemistry. – Chichester (UK): John Wiley & Sons, Ltd, 2007. 316 p.
14. United States Pharmacopoeia. USP38–NF33. 2015.
15. Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). – Washington. 1994.
16. J. M. Green. A Practical Guide to Analytical Method Validation // Analytical Chemistry News & Features. 1996. P. 305A–309A.
17. L. Huber. Validation and Qualification in Analytical Laboratories. – N.Y.: Informa Healthcare USA Inc., 2007. 303 p.
18. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International. Method validation programs (OMAIPVM Department). Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. 2000.
19. J.B. Crowther, J.M. Miller. Qualification of laboratory instrumentation, validation, and transfer of analytical methods // Analytical Chemistry in a GMP Environment. A practical guide. – N.Y.: Wiley, 2000. P. 423–458.
20. Criteria for Evaluating Acceptable Methods of Analysis for Codex Purposes. / CX/MAS. 2001.
21. R. Ficara. Validation of a LC method for the analysis of zafirlukast in a pharmaceutical formulation // J. Pharm. Biomed. Analysis. 2000. V. 23. № 1. P. 169–174.
22. R. Boqué, A. Maroto, J. Riu and F. Rius. Validation of Analytical Methods // Grasas y Aceites. 2003. V. 53. P. 128–143.
23. I. Taverniers, M. De Loose, E. Van Bockstaele. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance // Trends in Analytical Chemistry. 2004. V. 23. № 8. P. 535–552.
24. D.M. Bliesner. Validating Chromatographic Methods. A Practical Guide. – New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2006. 291 pp.
25. A. Gonzalez, M. Herrador. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles // Trends Analyt. Chem. 2007. V. 26. № 3. P. 227–238.
26. D. Chesher. Evaluating Assay Precision // Clin. Biochem. Rev. 2008. V. 29. P. 23–24.
27. T. Ellison, V. Borwick, T. Farrant. Practical Statistics for the Analytical Scientist. A Bench Guide. 2nd Ed. – Cambridge: LGC Limited, 2009. 283 p.
28. Validation of analytical procedures. 1-st ed. – Bonn: B.A.H. 2009. 224 p.
29. A.G. Gonzalez, M.A. Herrador, G. Agustin, A.G. Asuero. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards // Talanta. 2010. V. 82. P. 1995–1998.
30. R. Albert and W. Horwitz. A heuristic derivation of the Horwitz curve // Anal. Chem. 1997. V. 69. P. 789–790.
31. AOAC Official Methods of Analysis, Interlaboratory Collaborative Study, Appendix D. 2002. 12p. URL: [http://www.aoac.org/imis15\\_prod/AOAC\\_Docs/StandardsDevelopment/Collaborative\\_Study\\_Validation\\_Guidelines.pdf](http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/Collaborative_Study_Validation_Guidelines.pdf) (дата обращения 15.01.2016).
32. W. Horwitz, L.R. Kamps and K.W. Boyer. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents // J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1980. V. 63. P. 1344–1354.
33. T.P.J. Linsinger, R.D. Josephs. Limitations of the application of the Horwitz equation // Trends Analyt. Chem. 2006. V. 25. № 11. P. 1125–1130.
34. К. Дерффель. Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1994. С. 173–175.
35. Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб. Метрологический контроль результатов анализа. Специфика применения концепции неопределенности в фармацевтическом анализе // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 4 (5). С. 68–75.