

## Inhaltsverzeichnis

**Vorwort zur zweiten Auflage** V

**Vorwort zur ersten Auflage** VI

<b>1</b>	<b>Grundsätze der Validierung in der Analytik und im Prüfwesen</b>	<b>1</b>
	<i>Stavros Kromidas und Janusz S. Morkowski</i>	
1.1	Einführung	1
1.2	Definition, Erläuterung und Kommentierung von Begriffen der Qualitätssicherung	3
1.2.1	Validierung	4
1.2.2	Verifizierung	11
1.2.3	Qualifizierung bzw. Qualifikation	11
1.2.4	Charakterisierung	13
1.2.5	Messen, Prüfen, Justieren, Kalibrieren, Eichen	14
1.3	Grundvoraussetzungen für die Validierung einer analytischen Methode	15
1.4	Die Unsicherheit der Ergebnisse von Messungen, Prüfungen und Analysen	16
1.5	Methoden zur Charakterisierung von analytischen Methoden	18
1.5.1	Die Charakterisierungsmethoden	19
1.5.1.1	Erste Charakterisierungsmethode: systematische Beurteilung der Faktoren, die das analytische Ergebnis beeinflussen können	20
1.5.1.2	Zweite Charakterisierungsmethode: Kalibrierung mit Referenznorma- len/Referenzmaterialien und gleichzeitige Untersuchung der Einflussgrößen	20
1.5.1.3	Dritte Charakterisierungsmethode: Vergleich der Ergebnisse, die mit einem weiteren Verfahren ermittelt wurden	21
1.5.1.4	Vierte Charakterisierungsmethode: Vergleichsmessungen zwischen Laboratorien (Laborvergleichsversuche, Ringversuche)	23
1.5.1.5	Fünfte Charakterisierungsmethode: Geordnete Schätzung der Ergebnis- unsicherheit auf der Grundlage von Wissen und Erfahrung (Ein Schätzverfahren vom Typ B)	24

1.5.1.6	Kombination der fünf Charakterisierungsmethoden	28
1.5.1.7	Weitere Methoden vom Typ B	28
1.6	Charakterisierung (Qualifizierung) von Methoden als letzter Schritt einer Validierungsprozedur	29
1.7	Freigabe von Methoden, Dokumentation	30
1.8	Schlussbemerkungen	30
<b>2</b>	<b>Vor Beginn der Validierungsarbeiten: Voraussetzungen, Dokumentation, Gerätequalifizierung</b>	<b>33</b>
	<i>Stavros Kromidas</i>	
2.1	Voraussetzungen	33
2.2	Dokumentation	34
2.3	Gerätequalifizierung	36
2.3.1	Das „V“-Modell	39
2.3.2	Empfehlungen für die Praxis	41
<b>3</b>	<b>Die Validierungsparameter einer analytischen Methode</b>	<b>43</b>
	<i>Stavros Kromidas</i>	
<b>4</b>	<b>Präzision</b>	<b>47</b>
	<i>Stavros Kromidas</i>	
4.1	Definitionen und Erläuterungen	47
4.2	Präzisionsarten	50
4.2.1	Wiederholpräzision, Wiederholbarkeit (früher: Wiederholgenauigkeit)	50
4.2.2	Vergleichspräzision, Vergleichbarkeit (häufig auch: Reproduzierbarkeit, selten Übertragbarkeit)	50
4.2.3	Laborpräzision oder laborinterne Vergleichspräzision	50
4.2.4	Weitere Präzisionen	50
4.3	Mess- und Methodenpräzision	52
4.4	Rechenbeispiele	52
4.4.1	Vergleich von Mittelwerten und Variationskoeffizienten	52
4.4.2	Vergleich von Messwertreihen	54
4.4.3	Vergleich von Methoden, die aus stochastisch unabhängigen Schritten bestehen	56
4.5	Angaben zur Präzision und deren Deutungsmöglichkeiten	58
4.6	Umgang mit Zahlen und Möglichkeiten zu deren Beurteilung	60
4.6.1	Ausreißertests oder Verlässlichkeitstests	61
4.6.1.1	Dixon-Test	61
4.6.1.2	Grubbs-Test	63
4.6.1.3	Henning-Test	64
4.6.1.4	Mittelwertabweichung	64
4.6.2	Trendtest nach Neumann	64
4.6.3	Ermittlung der Wiederholgrenze	65

4.6.4	<i>F- und Cochran-Test</i> 66
4.6.4.1	<i>F-Test, Test auf Varianzenhomogenität</i> 66
4.6.4.2	<i>Cochran-Test</i> 67
4.6.5	<i>Zusammenfassung der Tests und abschließendes Beispiel</i> 68
4.7	<i>Abschließende Fragen zur Präzision</i> 71
4.7.1	<i>Welche Präzision kann noch akzeptiert werden?</i> 71
4.7.1.1	<i>Messpräzision</i> 72
4.7.1.2	<i>Methodenpräzision</i> 72
4.7.2	<i>Wie kann ich die Präzision erhöhen?</i> 74
4.7.2.1	<i>Was sind die Vor- und Nachteile bei großer Präzision?</i> 75
<b>5</b>	<b>Richtigkeit</b> 77
	<i>Stavros Kromidas</i>
5.1	<i>Definitionen und Erläuterungen</i> 77
5.2	<i>Prüfung auf Richtigkeit</i> 78
5.2.1	<i>Vergleich mit einem (oder mehreren) Referenz- oder Arbeitsstandard(s)</i> 78
5.2.1.1	<i>Vergleich einer Probe unbekannten Gehaltes mit einem Standard bekannten Gehaltes auf Richtigkeit</i> 78
5.2.1.2	<i>Vergleich mehrerer Proben (oft 6) unterschiedlichen Gehaltes, die idealerweise den erwarteten Arbeitsbereich abdecken, mit Referenzstandardproben bekannten Gehaltes</i> 82
5.2.2	<i>Vergleich mit einer unabhängigen, möglichst validierten Methode bekannter Richtigkeit</i> 84
5.2.3	<i>Wiederfindungsexperimente nach Zusatz bekannter Menge an Analyt (Referenzsubstanz!)</i> 86
5.2.4	<i>Elementbilanzierung</i> 87
5.2.5	<i>Indirekte Überprüfung über Massenbilanzen</i> 87
5.2.6	<i>Plausibilitätsbetrachtung</i> 88
5.3	<i>Messunsicherheit, Ergebnisunsicherheit und Vertrauensbereich</i> 88
5.4	<i>Zusammenfassung von Tests zum Vergleich und zur Beurteilung von Zahlen und Zahlenreihen</i> 98
5.5	<i>Wie soll ich nun die Richtigkeit überprüfen?</i> 99
5.5.1	<i>Einfacher Test zum Vergleich zweier Messwertreihen</i> 101
<b>6</b>	<b>Robustheit</b> 103
	<i>Stavros Kromidas</i>
6.1	<i>Definition und Erläuterungen</i> 103
6.2	<i>Prüfung auf Robustheit</i> 104
6.2.1	<i>Methodenrobustheit, Robustheit I: frühes Stadium</i> 105
6.2.2	<i>Verfahrensstabilität</i> 105
6.2.2.1	<i>Stabilität von Lösungen</i> 105
6.2.3	<i>Anwendbarkeit, Robustheit II</i> 107
6.3	<i>Zeitlicher Ablauf der Robustheitstests</i> 109
6.4	<i>Kommentare, Hinweise</i> 111

X | **Inhaltsverzeichnis**

6.5	Robustheit in der HPLC	111
6.5.1	Vorgehen zur Überprüfung der Robustheit in der HPLC	115
<b>7</b>	<b>Selektivität und Spezifität</b>	<b>119</b>
	<i>Stavros Kromidas</i>	
7.1	Definitionen und Erläuterungen	119
7.2	Grundsätzliches zur Prüfung auf Selektivität	120
7.3	Prüfung auf Selektivität von bekannten Proben in der HPLC	121
7.4	Prüfung auf Selektivität in der HPLC bei Proben unbekannter Zusammensetzung	121
7.4.1	Systematische Variation der Methodenparameter	121
7.5	Überprüfung der Selektivität in der HPLC – Schnellmethoden	129
7.5.1	Peakbreite und Retentionszeit	129
7.5.2	Asymmetriefaktor und Peakhöhe	130
7.5.3	Asymmetriefaktor und Retentionszeit	132
7.5.4	Ableitungschromatographie	133
7.6	Zusammenfassung	134
<b>8</b>	<b>Linearität</b>	<b>137</b>
	<i>Stavros Kromidas</i>	
8.1	Einleitung und Definitionen	137
8.1.1	Wozu braucht man eigentlich eine Kalibrierung?	137
8.1.2	Über Linearität und „Mathematik“	137
8.2	Durchführung der Linearitätstests	139
8.2.1	Grundsätzliches	139
8.2.1.1	Konzentrationsbereich für den Linearitätstest	141
8.2.1.2	Arbeitsbereich der Kalibriergeraden	141
8.2.2	Prüfung auf Linearität	142
8.2.3	Beurteilung der Ergebnisse	147
8.2.3.1	Wann ist nun das Prognoseintervall klein?	148
8.2.4	Welche Methodenkenndaten/Informationen können aus einer linearen Kalibrierfunktion gewonnen werden?	151
8.2.4.1	Arbeitsbereich	151
8.2.4.2	Reststandardabweichung	154
8.2.4.3	Verfahrensvariationskoeffizient	156
8.2.5	Fließschema zur Kalibrierung und zur Ermittlung der Linearität	163
8.2.6	Beispiel zur Prüfung auf Linearität [40]	168
8.2.6.1	Prüfung auf Varianzenhomogenität	168
8.2.6.2	Ermittlung der Kalibrierfunktion	170
8.2.6.3	Kalibrierstrategien	175
8.2.6.4	Ermittlung der unbekannten Konzentration	177
8.2.6.5	Ausreißertest nach Huber	177
8.2.6.6	Ergebnis der Bestimmung	177
8.2.7	Eine kritische Betrachtung der Kriterien für Linearität	179
8.2.8	Gewichtete Lineare Regression	183

8.2.8.1	Anwendung	184
8.2.8.2	Varianzquotientenwichtung	184
8.2.8.3	Praxis	185
<b>9</b>	<b>Wiederfindung oder Wiederfindungsrate</b>	189
	<i>Stavros Kromidas</i>	
9.1	Definitionen und Erläuterungen	189
9.2	Ermittlung der Wiederfindungsrate	189
9.2.1	Analyse von zertifizierten Referenzmaterialien	189
9.2.2	Zudosierungs- oder Aufstockungsexperimente („spiken“ einer Probe)	190
9.2.3	Indirekt über die Richtigkeit	191
9.2.4	Massenbilanzierung	191
9.3	Praktische Hinweise und Bemerkungen	191
<b>10</b>	<b>Nachweis-, Bestimmungs- und Erfassungsgrenze</b>	193
	<i>Stavros Kromidas</i>	
10.1	Definitionen und Erläuterungen	193
10.2	Ermittlung der Nachweis-, Bestimmungs- und Erfassungsgrenze	195
10.3	Kommentare und Hinweise	197
10.3.1	Leerwert- und Kalibriermethode	197
10.3.2	Peak/Rausch-Verhältnis	197
10.4	Abschlussbemerkungen und Empfehlungen	198
<b>11</b>	<b>Arbeitsbereich</b>	201
	<i>Stavros Kromidas</i>	
11.1	Prozess- und Methodenfähigkeit	202
11.1.1	Definitionen und Erläuterungen	202
11.2	Beispiele	203
11.3	Akzeptanzkriterien, Bewertung von Prozessen und Methoden	206
11.4	Maßnahmen bei unzureichender Methodenfähigkeit – zu kleine $c_{MK}$ 's	211
<b>12</b>	<b>Häufige Fragen zur Validierung</b>	213
	<i>Stavros Kromidas</i>	
12.1	Ermittlung der interessantesten Fragen	213
12.2	Antworten auf die sieben wichtigsten Fragenkomplexe	214
12.2.1	„Was ist der Mindestumfang einer Validierung?“	214
12.2.2	„Was ist eigentlich Präzision ...?“	217
12.2.3	Die Zeitknappheit	223
12.2.4	Behördliche/rechtliche Anforderungen	223
12.2.5	Hilfen, Infos	225
12.2.6	Validierungsumfang als Funktion von Methode, Ziel	227
12.2.7	Sonstiges	228

12.3	Häufige Fehler bei der Validierung analytischer Methoden	229
12.3.1	Allgemeine Fehler und Interpretationsfehler	229
12.3.2	Fehler im Zusammenhang mit der praktischen Durchführung der Validierung	236
12.3.2.1	Präzision	236
12.3.2.2	Richtigkeit	237
12.3.2.3	Robustheit	238
12.3.2.4	Systemeignungstest	238
12.3.2.5	Linearität	239
12.3.2.6	Nachweis- und Bestimmungsgrenze	240
12.3.2.7	Selektivität	240
<b>13</b>	<b>Trends in der Validierung</b>	<b>245</b>
	<i>Michael Haustein und Manfred Neupert</i>	
13.1	Einleitung	245
13.2	Bewertung von Validierungsdaten – statistische Tests vs. Akzeptanzgrenzen	245
13.3	Risikomanagement in der Analytik	247
13.4	Messunsicherheit im Qualitätskontrolllabor – Abschätzung aus Validierungsdaten	250
13.4.1	Zufällige Abweichungen	251
13.4.2	Systematische Abweichungen	252
13.4.3	Kombinierte Messunsicherheit	253
13.4.4	Erweiterte Messunsicherheit	254
13.5	Computer Aided Validation (CAV) – Automatisierungstrend in der Validierung	254
<b>A1</b>	<b>Abkürzungen (Auswahl)</b>	<b>257</b>
<b>A2</b>	<b>Standardarbeitsanweisung SOP 1–18: Validierung und Ergebnisunsicherheit von Prüfverfahren</b>	<b>261</b>
	<i>Roman Klinkner</i>	
A2.1	Zweck	261
A2.2	Geltungsbereich	261
A2.3	Begriffe/Abkürzungen	261
A2.4	Befugnisse und Verantwortlichkeiten	263
A2.5	Beschreibung	263
A2.5.1	Grundprinzip der Validierung	263
A2.5.2	Validierungsplanung	264
A2.5.2.1	Festlegung der Vorgaben	264
A2.5.2.2	Festlegung des Validierungsumfangs	264
A2.5.3	Validierungsdurchführung	266
A2.5.3.1	Ergebnisunsicherheit	266
A2.5.3.2	Wiederholpräzision	267
A2.5.3.3	Vergleichspräzision	267

A2.5.3.4	Qualitätsregelkarte (Kontrollkarte)	268
A2.5.3.5	Ringversuche	268
A2.5.3.6	Arbeitsbereich	268
A2.5.3.7	Linearität	269
A2.5.3.8	Wiederfindung	269
A2.5.3.9	Nachweisgrenze	270
A2.5.3.10	Bestimmungsgrenze	270
A2.5.3.11	Verfahrenskenndaten bei Kalibrierverfahren	270
A2.5.3.12	Robustheit	270
A2.5.3.13	Spezifität	272
A2.5.4	Validierungsbericht	272
A2.6	Dokumentation	273
A2.7	Hinweise und Anmerkungen	273
A2.7.1	Mitgelrende Unterlagen	273
A2.7.2	Anmerkungen	273
A2.8	Anlagen	273
<b>A3</b>	<b>Definitionen und Erläuterungen von Begriffen aus den Bereichen „Validierung“ und „Qualitätssicherung“</b>	<b>275</b>
<b>A4</b>	<b>Englische Übersetzung einiger wichtiger Begriffe zum Komplex „Validierung“ (Auswahl)</b>	<b>317</b>
<b>A5</b>	<b>Register der Rechenbeispiele</b>	<b>319</b>
<b>A6</b>	<b>Statistische Tabellen</b>	<b>321</b>
<b>A7</b>	<b>Literatur</b>	<b>331</b>
<b>A8</b>	<b>Sachregister</b>	<b>335</b>