

## 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-<br>len/Referenzmaterialien und gleichzeitige Untersuchung der<br>Einflussgrößen                 | 20       |
| 1.5.1.3  | Dritte Charakterisierungsmethode: Vergleich der Ergebnisse, die mit<br>einem weiteren Verfahren ermittelt wurden  | 21       |
| 1.5.1.4  | Vierte Charakterisierungsmethode: Vergleichsmessungen zwischen<br>Laboratorien (Laborvergleichsversuche, Ringversuche)  | 23       |
| 1.5.1.5  | Fünfte Charakterisierungsmethode: Geordnete Schätzung der Ergebnis-<br>unsicherheit auf der Grundlage von Wissen und Erfahrung<br>(Ein Schätzverfahren vom Typ B) | 24       |

## Inhaltsverzeichnis

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 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</b>                      | <b>33</b> |
|          | <b>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    | F- und Cochran-Test  | 66         |
| 4.6.4.1  | F-Test, Test auf Varianzenhomogenität  | 66         |
| 4.6.4.2  | Cochran-Test   | 67         |
| 4.6.5    | Zusammenfassung der Tests und abschließendes Beispiel  | 68         |
| 4.7      | Abschließende Fragen zur Präzision   | 71         |
| 4.7.1    | Welche Präzision kann noch akzeptiert werden?  | 71         |
| 4.7.1.1  | Messpräzision  | 72         |
| 4.7.1.2  | Methodenpräzision  | 72         |
| 4.7.2    | Wie kann ich die Präzision erhöhen?  | 74         |
| 4.7.2.1  | Was sind die Vor- und Nachteile bei großer Präzision?  | 75         |
| <b>5</b> | <b>Richtigkeit</b>   | <b>77</b>  |
|          | <i>Stavros Kromidas</i>  |            |
| 5.1      | Definitionen und Erläuterungen   | 77         |
| 5.2      | Prüfung auf Richtigkeit  | 78         |
| 5.2.1    | Vergleich mit einem (oder mehreren) Referenz- oder Arbeitsstandard(s)  | 78         |
| 5.2.1.1  | Vergleich einer Probe unbekanntes Gehaltes mit einem Standard bekannten Gehaltes auf <i>Richtigkeit</i>  | 78         |
| 5.2.1.2  | Vergleich mehrerer Proben (oft 6) unterschiedlichen Gehaltes, die idealerweise den erwarteten Arbeitsbereich abdecken, mit Referenzstandardproben bekannten Gehaltes | 82         |
| 5.2.2    | Vergleich mit einer unabhängigen, möglichst validierten Methode bekannter Richtigkeit  | 84         |
| 5.2.3    | Wiederfindungsexperimente nach Zusatz bekannter Menge an Analyt (Referenzsubstanz!)  | 86         |
| 5.2.4    | Elementbilanzierung  | 87         |
| 5.2.5    | Indirekte Überprüfung über Massenbilanzen  | 87         |
| 5.2.6    | Plausibilitätsbetrachtung  | 88         |
| 5.3      | Messunsicherheit, Ergebnisunsicherheit und Vertrauensbereich   | 88         |
| 5.4      | Zusammenfassung von Tests zum Vergleich und zur Beurteilung von Zahlen und Zahlenreihen  | 98         |
| 5.5      | Wie soll ich nun die Richtigkeit überprüfen?   | 99         |
| 5.5.1    | Einfacher Test zum Vergleich zweier Messwertreihen   | 101        |
| <b>6</b> | <b>Robustheit</b>  | <b>103</b> |
|          | <i>Stavros Kromidas</i>  |            |
| 6.1      | Definition und Erläuterungen   | 103        |
| 6.2      | Prüfung auf Robustheit   | 104        |
| 6.2.1    | Methodenrobustheit, Robustheit I: frühes Stadium   | 105        |
| 6.2.2    | Verfahrensstabilität   | 105        |
| 6.2.2.1  | Stabilität von Lösungen  | 105        |
| 6.2.3    | Anwendbarkeit, Robustheit II   | 107        |
| 6.3      | Zeitlicher Ablauf der Robustheitstests   | 109        |

## 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 unbekanntten 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        |



|   |            |
|---|------------|
| Anwendung   | 184        |
| Varianzquotientenwichtung   | 184        |
| Praxis  | 185        |
| <b>Wiederfindung oder Wiederfindungsrate</b>                          | <b>189</b> |
| <i>Stavros Kromidas</i>   |            |
| Definitionen und Erläuterungen  | 189        |
| Ermittlung der Wiederfindungsrate                                     | 189        |
| Analyse von zertifizierten Referenzmaterialien                        | 189        |
| Zudosierungs- oder Aufstockungsexperimente<br>(„spiken“ einer Probe)  | 190        |
| Indirekt über die Richtigkeit   | 191        |
| Massenbilanzierung  | 191        |
| Praktische Hinweise und Bemerkungen                                   | 191        |
| <b>Nachweis-, Bestimmungs- und Erfassungsgrenze</b>                   | <b>193</b> |
| <i>Stavros Kromidas</i>   |            |
| Definitionen und Erläuterungen  | 193        |
| Ermittlung der Nachweis-, Bestimmungs- und Erfassungsgrenze           | 195        |
| Kommentare und Hinweise   | 197        |
| Leerwert- und Kalibriermethode  | 197        |
| Peak/Rausch-Verhältnis  | 197        |
| Abschlussbemerkungen und Empfehlungen                                 | 198        |
| <b>Arbeitsbereich</b>   | <b>201</b> |
| <i>Stavros Kromidas</i>   |            |
| Prozess- und Methodenfähigkeit  | 202        |
| Definitionen und Erläuterungen  | 202        |
| Beispiele   | 203        |
| Akzeptanzkriterien, Bewertung von Prozessen und Methoden              | 206        |
| Maßnahmen bei unzureichender Methodenfähigkeit – zu kleine $c_{MK}'s$ | 211        |
| <b>Häufige Fragen zur Validierung</b>                                 | <b>213</b> |
| <i>Stavros Kromidas</i>   |            |
| Ermittlung der interessantesten Fragen                                | 213        |
| Antworten auf die sieben wichtigsten Fragenkomplexe                   | 214        |
| „Was ist der Mindestumfang einer Validierung?“                        | 214        |
| „Was ist eigentlich Präzision ...?“                                   | 217        |
| Die Zeitknappheit   | 223        |
| Behördliche/rechtliche Anforderungen                                  | 223        |
| Hilfen, Infos   | 225        |
| Validierungsumfang als Funktion von Methode, Ziel                     | 227        |
| Sonstiges   | 228        |

## Inhaltsverzeichnis

- 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
  
- 13 Trends in der Validierung 245**  
*Michael Haustein und Manfred Neupert*
  - 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
  
- A1 Abkürzungen (Auswahl) 257**
  
- A2 Standardarbeitsanweisung SOP 1–18: Validierung und Ergebnisunsicherheit von Prüfverfahren 261**  
*Roman Klinkner*
  - 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

|      |  |     |
|------|--|-----|
| 3.4  | Qualitätsregelkarte (Kontrollkarte)        | 268 |
| 3.5  | Ringversuche                               | 268 |
| 3.6  | Arbeitsbereich                             | 268 |
| 3.7  | Linearität                                 | 269 |
| 3.8  | Wiederfindung                              | 269 |
| 3.9  | Nachweisgrenze                             | 270 |
| 3.10 | Bestimmungsgrenze                          | 270 |
| 3.11 | Verfahrenskenndaten bei Kalibrierverfahren | 270 |
| 3.12 | Robustheit                                 | 270 |
| 3.13 | Spezifität                                 | 272 |
| 4    | Validierungsbericht                        | 272 |
|      | Dokumentation                              | 273 |
|      | Hinweise und Anmerkungen                   | 273 |
| 1    | Mitgeltende Unterlagen                     | 273 |
| 2    | Anmerkungen                                | 273 |
|      | Anlagen                                    | 273 |

**Definitionen und Erläuterungen von Begriffen aus den Bereichen  
„Validierung“ und „Qualitätssicherung“** 275

**Englische Übersetzung einiger wichtiger Begriffe zum Komplex  
„Validierung“ (Auswahl)** 317

**Register der Rechenbeispiele** 319

**Statistische Tabellen** 321

**Literatur** 331

**Sachregister** 335