

Teil A
Grundlagen

COPYRIGHTED MATERIAL



1 Grundsätze der Validierung in der Analytik und im Prüfwesen

Stavros Kromidas und Janusz S. Morkowski

1.1 Einführung

Validierung bedeutet, auf die Frage zu antworten, ob ein Prüfverfahren, eine analytische Methode oder eine Mess-/Prüfeinrichtung für die Erfüllung einer ganz bestimmten Aufgabe geeignet ist.

Um auf diese Frage antworten zu können, muss man dreierlei wissen:

- Wie lautet die bestimmte Aufgabe, die gelöst werden soll?
- Durch welche charakteristischen Leistungsmerkmale kann das für die Lösung der Aufgabe vorgesehene Verfahren auf Eignung getestet werden?
- Wie lauten die experimentell ermittelten Werte der ausgesuchten Merkmale?

Somit können die von der Aufgabenstellung her geforderten Fähigkeiten des Verfahrens/der Methode/der Prüfeinrichtung mit den tatsächlichen Leistungsmerkmalen verglichen werden und die eigentliche Validierungsfrage auf Eignung beantwortet werden.

Stellt der Validierer anschließend auch noch formal fest, dass das vorgesehene Verfahren tatsächlich imstande ist, die gestellten Forderungen zu erfüllen, so sind alle Schritte der Validierungsprozedur normgerecht ausgeführt.

■ *Bemerkung:* Der Einfachheit halber wird im Folgenden nicht von dem Verfahren/der Methode/der Prüfeinrichtung, sondern stellvertretend von der Methode die Rede sein.

Zusammenfassend bedeutet das Gesagte Folgendes:

Methodenvalidierung bedeutet, die Absicht des Auftraggebers zu kennen und anschließend herauszufinden, ob eine Methode für den vorgesehenen Verwendungszweck geeignet ist.

Die Validierung betrifft immer zwei Parteien:

1) Der Aufgabensteller

Zunächst muss jemand da sein, der eine Aufgabe stellt. Die zu lösende Aufgabe kann sich auch aus den Interessen der Öffentlichkeit ergeben oder sie kann aus

Tabelle 1.1 Ablauf einer Validierungsprozedur (allgemeines Schema).

Der Auftraggeber	Das Labor
benötigt Informationen, damit er eine bestimmte Aufgabe erfüllen oder lösen kann. Er überlegt sich, um welche konkrete Informationen es sich handeln soll und beschreibt diese möglichst genau.	bestimmt eine Methode, mit deren Hilfe es den Auftrag des Aufgabenstellers bearbeiten will. Eventuell wird die Methode vorgegeben. Es definiert sämtliche Kenngrößen (Leistungs- oder Verfahrensmerkmale) der vorgesehenen Methode, deren Prüfung zur Lösung der Aufgabe erforderlich sind.
↓	↓
Spezifikation Die für die Aufgabenlösung benötigten Informationen werden in dem an das Labor vergebenen Auftrag als (Qualitäts-)Forderungen spezifiziert. Genannt werden die zulässigen Werte der charakteristischen Kenngrößen des verwendeten Verfahrens; insbesondere die zulässige Gesamtunsicherheit der Ergebnisse der Prüfung. Gegebenenfalls werden die Forderungen erst nach klärenden Gesprächen mit dem Labor spezifiziert.	Charakteristische Kenngrößen von Methoden sind z. B. <ul style="list-style-type: none"> • Wiederholbarkeit • Vergleichbarkeit • Nachweis- und Bestimmungsgrenze • Anwendungsbereich • Selektivität • Robustheit • Linearität • Gesamtunsicherheit der Ergebnisse
↓	↓
Vergleich Im Anschluss an die obigen Schritte werden die (Qualitäts-)Forderungen des Aufgabenstellers mit den Werten der charakteristischen Kenngrößen der Methode verglichen.	
↓	
Methode modifizieren bzw. Alternativ-Methode suchen Aufgabenstellung ändern	Qualifizierung der Methode d. h. Feststellung der Eignung Die Validierungsprozedur endet mit der formalen Feststellung des Labors, dass die vorgesehene Methode für die Lösung der spezifischen Aufgabe geeignet oder eben nicht geeignet ist, d. h. dass sie sich qualifiziert hat oder nicht.
↙	→ ja
↘	← nein

den Forderungen von Gesetzen, Verordnungen oder normativen Dokumenten resultieren. Es ist letztlich belanglos, wer die Aufgabe formuliert; dies kann ein externer oder interner Kunde sein, ebenso gut kann das Labor selbst jene Forderungen formulieren, welche die Methode erfüllen muss.

2) Der Aufgabenlöser

Der Aufgabensteller benötigt jemanden, der für ihn die Aufgabe löst, also ein Labor. Um eine vollständige Validierung durchzuführen, muss das beauftragte Labor nun Folgendes tun:

- Es muss die Aufgabe, und allenfalls auch das Problem des Auftraggebers, verstehen und
- es muss abklären, ob die für die Aufgabenlösung vorgesehene Methode imstande ist, Ergebnisse zu liefern, die für die Aufgabenlösung nützlich sein werden; oder mit anderen Worten, ob sie für den vorgesehenen Verwendungszweck geeignet ist. Gegebenenfalls muss es eine Alternativmethode vorschlagen.
- Es wird dem Aufgabensteller mitteilen, dass es im Stand ist, die gestellte Aufgabe zu lösen.
- Anschließend wird es die Eignung der Methode zu überprüfen haben, d. h. es hat zu prüfen, ob die ermittelten Zahlenwerte der Merkmale von einer leistungsfähigen, sprich von einer für die konkrete Aufgabenstellung geeigneten Methode zeugen.

Die Validierungsprozedur lässt sich am besten in einem Ablaufschema darstellen. Dieses zeigt, dass sowohl der Auftraggeber in seiner Funktion als Aufgabensteller, wie auch das Labor als Auftragnehmer und Aufgabenlöser bei der Validierung eine wichtige Rolle zu übernehmen haben, siehe Tab. 1.1. In der Praxis kommt es oft vor, dass das Labor die Fragestellung des Kunden so gut versteht, dass es sehr wohl im Stand ist, stellvertretend für den Kunden selbst die geplante Vorgehensweise zu definieren und dann mit ihm abzusprechen.

1.2**Definition, Erläuterung und Kommentierung von Begriffen der Qualitätssicherung**

Trotz klarer Vorstellungen bezüglich des Begriffs Validierung, wie sie in der obigen Einführung dargelegt wurde, und trotz vieler Diskussionen darüber, besteht bis heute immer noch eine gewisse Verwirrung bezüglich verwandter Begriffe wie Validierung, Zertifizierung, Charakterisierung, Verifizierung und Qualifizierung. Diese Konfusion hat weit mehr als nur linguistische oder semantische Bedeutung. Die Autoren plädieren keinesfalls für die Beibehaltung oder gar zwingende Verwendung all dieser Begriffe. Es zeigt sich jedoch, dass dadurch eher Probleme auftreten als dass deren Verwendung der Klärung dient. Leider existieren sie und werden in der Praxis immer noch in eigenwilliger und zugleich arbiträrer Weise verwendet, was die Verständigung zwischen den betroffenen Parteien nicht gerade erleichtert: Wollte man die heutige Situation in der Analytik charakterisieren, so dürfte Folgendes – außer in der Pharmaindustrie, wo der Validierungsgedanke sehr weit fortgeschritten und strukturiert ist – wohl häufig zutreffen:

Viele der Betroffenen wissen heute ganz genau, was für sie selbst Validierung, Verifizierung und Qualifizierung bedeutet; nur meinen leider andere Leute unter

diesen Begriffen nicht genau das gleiche und manchmal sogar etwas recht Unterschiedliches.

Oft werden auch die klaren Auslegungen der Begriffe Validierung, Verifizierung und Qualifizierung aus Regelwerken wie DIN 32645, ISO 8402:1994 und DIN EN ISO 17025:2005, siehe unten, ignoriert.

- *Bemerkung:* ISO 8402:1994 ist seit 2000 Teil der ISO 9000:2000 bzw. der Revision von 2008. Da jedoch in vielen SOP's auf die ISO 8402:1994 verwiesen wird, ist nachfolgend die Rede von der ISO 8402:1994.

Ein Beispiel: In dem Dokument der ILAC „Guideline for validating test methods“ 3rd draft of ILAC WG6: 1994-05-13 wird der Begriff Validierung, wie in der ISO 8402 definiert, nicht beachtet und für den eigenen Gebrauch eine Umschreibung verwendet, die gemäß der Norm auf den Begriff Verifizierung zutrifft.

Was notwendig ist, ist einerseits eine Verständigung unter den Betroffenen bezüglich der Begrifflichkeiten, andererseits sollte eine pragmatische, dem Laboralltag dienende Auslegung angestrebt werden. Diesem Zweck sollen die nachfolgenden Definitionen und Erläuterungen dienen.

1.2.1

Validierung

Mit Validierung verbindet jeder Analytiker die Überprüfung einer Methode auf Brauchbarkeit. Der Begriff Validierung taucht offiziell erst in den 1970er Jahren auf:

1975 in Europa: Richtlinie des Rates 75/318 (EWG)

1978 in den USA: FDA, im Zusammenhang mit der Produktion von Arzneimitteln

Nachfolgend eine Auswahl von Definitionen aus der Literatur.

- Dertinger, Gänshirt, Steinigen in „GAP Praxisgerechtes Arbeiten in pharmazeutisch-analytischen Laboratorien“, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1984: „Validierung ist der Nachweis und die Dokumentation der Zuverlässigkeit einer Methode.“
- H. Bosshardt, F. Schorderet, H. Feltkamp, P. Fuchs und H. Sucker, Pharmazeutische Qualitätskontrolle, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1983: „Unter Validierung versteht man die Gesamtheit aller sich über Planung, Ausführung und Dokumentation erstreckenden Maßnahmen, die die Gültigkeit einer analytischen Methode beweisen. Der Prüfaufwand richtet sich nach der Methodik, der Apparatur und den Anforderungen an die Güte des Resultats.“
- Chapmann, 1985: „Validierung heißt nichts Anderes als gesunder Menschenverstand – gut organisiert und gut dokumentiert.“
- FDA, 1986 (im Hinblick auf Produktion): „Validierung ist der dokumentierte Nachweis, dass ein bestimmter Prozess mit einem hohen Grad an Sicherheit kontinuierlich ein Produkt erzeugt, das vorher definierte Spezifikationen und Qualitätsmerkmale erfüllt.“

- Inspectorate for Health Protection, Food Inspection Service, Niederland: „Validierung ist die Prozedur, die sicherstellt, dass eine Testmethode so zuverlässig ist wie möglich. Dieser Prozess besteht aus einem (Test)Programm, das zur Beantwortung folgender Fragen führt: „Wie richtig ist es?“ und „Wie präzise ist die Methode in den Händen des Routineanwenders?“
- Römpp Chemie Lexikon, 1992 (ebenfalls auf die Produktion bezogen): „Validierung umfasst (nach dem verbindlichen Code von „Good Validation Practices“ in der Pharmazeutischen Industrie, Anm. der Autoren) die systematische Überprüfung der wesentlichen Arbeitsschritte und Einrichtungen in Entwicklung und Produktion einschließlich der Kontrolle von pharmazeutischen Produkten mit dem Ziel, sicherzustellen, dass die hergestellten Produkte bei Innehaltung der festgelegten Produktions- und Kontrollverfahren zuverlässig und reproduzierbar in der gewünschten Qualität hergestellt werden können.“
- USP1225: „Validierung ist der Prozess, durch den mittels Laborexperimenten gezeigt wird, dass die Leistungsmerkmale (Charakteristika) einer Methode den Forderungen für eine beabsichtigte Anwendung genügen.“
- ICH, 1995: „Das Ziel bei der Validierung einer analytischen Methode ist zu zeigen, dass sie für den beabsichtigten Zweck geeignet ist.“
- ISO 8402, 1994 § 2.18: „Bestätigen aufgrund einer Untersuchung und durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass die besonderen Forderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt worden sind.“ (objektiver Nachweis: nachweisbare Informationen basierend auf Tatsachen, die man durch Beobachtung, Messung, einen Test oder auf eine andere Art und Weise (other means!) erhält)

Im Jahre 2000 wurde ein Schritt vollzogen, der heute noch Beachtung verdient: Aus dem ISO Guide 25 und der EN 45001 (1989) wurde eine neue internationale Norm, die ISO 17025 (Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien). Mit der neuen Norm wird dem Vorschlag der DIN Rechnung getragen, eine Gleichstellung der Wertigkeit des ISO-Standards mit der europäischen Norm EN 45001:1997-06 zu erreichen.

Die EN ISO/IEC 17025:2005 hat den Status einer Deutschen Norm und ist seit Dezember 1999 in Kraft. Seit April 2000 existiert eine dreisprachige Fassung (deutsch, englisch, französisch) (zu beziehen bei: Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin). ISO 17025:2005 kann als ein wichtiger Bezugspunkt für analytische Laboratorien (Prüf- und Kalibrierlaboratorien) angesehen werden. Daher lohnt es sich, die für uns interessanten Textpassagen der Norm im Wortlaut zu verfolgen. Bemerkenswerterweise erscheinen für die Verfasser die „Validierung von Verfahren“ und die „Schätzung der Messunsicherheit“ gleichwertige Werkzeuge der Qualitätssicherung zu sein. Jedenfalls erhalten im Text beide Verfahren eine gleichwertige Stellung in der Hierarchieebene (Punkt 5.4.5 und 5.4.6).

„5.4.5 Validierung von Verfahren

5.4.5.1 Die Validierung ist die Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden.

5.4.5.2 Das Laboratorium muss nicht in normativen Dokumenten festgelegte Verfahren, selbst entwickelte Verfahren, Verfahren nach normativen Dokumenten, die außerhalb ihres vorgesehenen Anwendungsbereiches angewendet werden, und Erweiterungen von Verfahren nach normativen Dokumenten validieren, um zu bestätigen, dass die Verfahren für den beabsichtigten Gebrauch geeignet sind. Die Validierung muss in dem Umfang durchgeführt werden, der zur Erfüllung der Erfordernisse der beabsichtigten Anwendung oder des betreffenden Anwendungsgebiets notwendig ist. Das Laboratorium muss die erhaltenen Ergebnisse und das für die Validierung verwendete Verfahren aufzeichnen und festlegen, ob das Verfahren für den beabsichtigten Gebrauch geeignet ist.

Anmerkung 1: Validierung kann Verfahren für Probenahme, Handhabung und Transport umfassen.

Anmerkung 2: Zur Bestimmung der Verfahrensmerkmale sollte eine der folgenden Methoden oder eine Kombination davon verwendet werden:

- Kalibrierung mit Bezugsnormalen oder Referenzmaterialien;
- Vergleich mit Ergebnissen, die mit anderen Verfahren erzielt wurden;
- Vergleiche zwischen Laboratorien;
- systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen;
- Beurteilung der Ergebnisunsicherheit auf der Grundlage wissenschaftlichen Verstehens der theoretischen Grundlagen des Verfahrens und praktischer Erfahrung.

Anmerkung 3: Wenn einige Änderungen in den validierten nicht genormten Verfahren vorgenommen werden, sollte der Einfluss solcher Änderungen dokumentiert werden und, sofern angemessen, sollte eine neue Validierung vorgenommen werden.

5.4.5.3 Der Bereich und die Genauigkeit der mit validierten Verfahren erreichbaren Werte (z. B. Ergebnisunsicherheit, Nachweisgrenze, Selektivität des Verfahrens, Linearität, Wiederholgrenze und/oder Vergleichsgrenze, Robustheit gegen äußere Einflüsse und/oder Querempfindlichkeit gegenüber Beeinflussungen durch die von der Matrix der Probe/des Prüfgegenstandes), wie sie für die beabsichtigte Anwendung beurteilt werden, müssen den Erfordernissen des Kunden entsprechen.

Anmerkung 1: Validierung schließt Beschreibung der Anforderungen, Bestimmung der Verfahrensmerkmale, eine Prüfung, dass die Anforderungen durch Anwendung der Methode erfüllt werden, und eine Aussage zu ihrer Gültigkeit ein.

Anmerkung 2: Bei weiterer Entwicklung des Verfahrens sind regelmäßige Prüfungen erforderlich, die sicherstellen sollen, dass die Erfordernisse des Kunden weiterhin erfüllt werden. Jede Änderungen der Anforderungen, die Modifizierungen des Entwicklungsprogramms erfordern, müssen geprüft und genehmigt werden.

Anmerkung 3: Bei der Validierung sind immer die Kosten, Risiken und technischen Möglichkeiten abzuwägen. In vielen Fällen können der Bereich und

die Unsicherheit der Werte (z. B. für Genauigkeit, Nachweisgrenze, Selektivität, Linearität, Wiederholpräzision, Reproduzierbarkeit, Robustheit, Quersensitivität) mangels Information nur in vereinfachter Weise angegeben werden.

5.4.6 Schätzung der Messunsicherheit

5.4.6.1 Ein Kalibrierlaboratorium oder ein Prüflaboratorium, das interne Kalibrierungen durchführt, muss über ein Verfahren zur Schätzung der Messunsicherheit für alle Kalibrierungen und alle Arten von Kalibrierungen verfügen und dieses anwenden.

5.4.6.2 Prüflaboratorien müssen über Verfahren für die Schätzung der Messunsicherheit verfügen und diese anwenden. In bestimmten Fällen kann die Art der Prüfmethode eine strenge metrologische und statistisch gültige Schätzung der Messunsicherheit ausschließen. Das Laboratorium muss in solchen Fällen mindestens versuchen, alle Komponenten der Messunsicherheit zu ermitteln, und eine vernünftige Schätzung der Messunsicherheit vornehmen und sicherstellen, dass der Prüfbericht keinen falschen Eindruck bezüglich der Unsicherheit erweckt. Eine vernünftige Schätzung muss auf der Kenntnis der Durchführung des Verfahrens und auf der Art der Messung basieren und z. B. von vorhergehender Erfahrung und von Validierungsdaten Gebrauch machen.

Anmerkung 1: Der Grad der Strenge, die bei der Schätzung der Messunsicherheit erforderlich ist, hängt von Faktoren ab wie z. B.

- die Anforderungen der Prüfmethode;
- die Anforderungen des Kunden;
- das Vorhandensein enger Grenzen für die Entscheidung bezüglich der Einhaltung einer Spezifikation.

Anmerkung 2: In den Fällen, wo ein bekanntes Prüfverfahren die Grenzwerte der Hauptquellen der Messunsicherheit und die Form der Darlegung des berechneten Ergebnisses festgelegt hat, wird angenommen, dass das Laboratorium diesen Abschnitt der Internationalen Norm durch Befolgen der Festlegungen für die Prüfmethode und die Form des Prüfberichtes erfüllt hat (siehe 5.10).

5.4.6.3 Bei der Schätzung der Messunsicherheit müssen alle Unsicherheitskomponenten, die für den betreffenden Fall von Bedeutung sind, in Betracht gezogen werden, wobei angemessene Auswertungsverfahren zu verwenden sind.

Anmerkung 1: Zu den Quellen, die zur Unsicherheit beitragen, gehören unter anderem die verwendeten Bezugsnormale und das verwendete Referenzmaterial, benutzte Verfahren und Einrichtungen, Umgebungsbedingungen, Eigenschaften und Zustand des zu prüfenden oder zu kalibrierenden Gegenstandes und das Bedienungspersonal.

Anmerkung 2: Das voraussichtliche Langzeitverhalten des zu prüfenden und/oder zu kalibrierenden Gegenstandes wird üblicherweise bei der Schätzung der Messunsicherheit nicht berücksichtigt.

Anmerkung 3: Weitere Informationen sind in den Normen der Reihe ISO 5725 und in dem „Guide to the expression of uncertainty in measurement“ enthalten (siehe Literaturhinweise).“

Kommentare zum Entwurf

Die für diese Textlänge relativ häufige Anzahl von Passagen zum Thema zielgerichtete Validierung

- „... für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch ...“
- „... müssen den Erfordernissen des Kunden entsprechen ...“
- „... dass die Erfordernisse des Kunden noch immer erfüllt werden ...“

zeugen von einer Praxisnähe und einer wesentlich stärkeren Kundenorientierung im Vergleich zu älteren Texten. Das ist eine erfreuliche Entwicklung. Es gilt, diesen Geist im Alltag zu leben.

Folgende eindeutige Aussage schafft Klarheit: Genormte Verfahren müssen nicht validiert werden.

Ob allerdings stets darauf verzichtet werden kann, wenn es tatsächlich um Wahrheitsfindung geht, sollte individuell entschieden werden.

Die Schritte einer Validierung sollten Folgende sein:

- Beschreibung der Anforderungen
- Findung und Bestimmung von aussagefähigen Verfahrensmerkmalen
- Vergleich der Anforderungen mit den erhaltenen Werten der Verfahrensmerkmale
- Ja/Nein-Aussage über die Eignung der Methode für den vorgesehenen Gebrauch.

Folgende Passage zeugt von einer Kenntnis der Situation im Labor und kann als Entgegenkommen gegenüber den analytischen Laboratorien bewertet werden: „In vielen Fällen können der Bereich und die Unsicherheit der Werte (...) mangels Information nur in vereinfachter Weise angegeben werden.“

Erfreulicherweise erfahren durch die Erwähnung erstmals in dieser Norm und in diesem Zusammenhang die Probenahme und der Transport den ihnen gebührenden Stellenwert.

Die Anforderung, dass das Laboratorium die Ergebnisse und verwendeten Verfahren aufzeichnen muss, bekräftigt das tatsächliche Ziel bei einer Validierung: Der Validierer muss Aussagen machen und nicht lediglich Zahlen/Daten erzeugen.

Dem erfahrenen Leser fällt beim Aufzählen von erreichbaren Werten zweierlei auf:

- Die klassischen, wichtigen Elemente „Richtigkeit“ und „Präzision“ fehlen, dafür taucht „Ergebnisunsicherheit“ auf. Hier wird die Auffassung der Verfasser of-

fenkundig: Es ist ein Plädoyer für die Ermittlung bzw. Schätzung der „Ergebnisunsicherheit“ als übergeordnetes Merkmal, das geeignet ist, die tatsächliche Streuung von Werten (zufällige Abweichungen = Präzision, systematische Abweichungen = Richtigkeit) zu beschreiben und einen realen Vertrauensbereich anzugeben (siehe Ausführungen weiter unten und in Abschnitt 5.3). Systematische und zufällige Fehler sind nur Beiträge zur Gesamtunsicherheit der Ergebnisse. Eine Unterscheidung in systematischen und zufälligen Fehlern ist nicht notwendig.

- Es wird die „Nachweisgrenze“, nicht jedoch die „Bestimmungsgrenze“ erwähnt. Auf Anfrage von S. Kromidas wurde Folgendes als plausibler Grund für den Verzicht genannt: Ein Nicht-Naturwissenschaftler kann mit dem Begriff Nachweisgrenze umgehen, eine klare Abgrenzung zur Bestimmungsgrenze ist nicht trivial. Dies wurde in einer Reihe von juristischen Auseinandersetzungen deutlich.
- Der Verzicht auf „Bestimmungsgrenze“ kann fachlich wie folgt begründet werden: Bestimmungsgrenze ist letzten Endes nichts mehr als eine erweiterte Messunsicherheit. Deswegen ist – übrigens in Übereinstimmung mit ISO 11843-1, siehe Abschnitt 3.1 die Benutzung des Begriffes „Bestimmungsgrenze“ *expressis verbis* nicht notwendig.

Die Ausführungen im Entwurf von ISO 17025:2005 kommen der Praxis sehr nahe und sind daher praktikabel. Zwei wichtige Forderungen werden leider nicht erwähnt: Die Methodenstabilität und die Methodenfähigkeit. Die Methodenstabilität beschreibt die Abhängigkeit eines Ergebnisses von der Zeit bei Anwendung der konkreten Methode unter realen Bedingungen. Es geht um die Streuung von Ergebnissen, wenn alle relevanten Faktoren im realen Routinealltag wirksam sind und nicht nur während der relativ kurzen Zeit der Validierungstätigkeit. Die Praxis zeigt immer wieder, dass die Nichtbeachtung dieses Aspektes zu unnötigen Differenzen zwischen Validierer und Routineanwender und zu erheblichen Kosten führt. Das Wort „kontinuierlich“ aus der FDA-Definition würde hier schon ausreichen, um die Aufmerksamkeit auf diesen wichtigen Punkt zu lenken. Es ist zu hoffen, dass in einer kommenden Revision die Methodenstabilität als gleichwertiger Validierungsparameter Zugang in den Normtext findet.

Auch die Methodenfähigkeit verdient mehr Beachtung. Nur so besteht die Chance, dass bei der Festlegung von Spezifikationen analytische Realitäten berücksichtigt werden, s. Kapitel 11 und Abschnitt 12.3.2.

Vor dem Versuch einer Zusammenfassung werden sieben Validierungsthesen für die Analytik vorgestellt. Diese lehnen sich an die sieben Validierungsthesen für die Herstellpraxis nach Sucker [1] an:

- Validierung ist ein Arbeitsinstrument zur Qualitätssicherung neben anderen wie z. B. SPC (Statistische Prozesskontrolle).
- Validierung ist produkt- und zweckspezifisch auszuführen. Die Verantwortung über Ausmaß und Art liegt beim Analytiker.
- Validierung heißt, das Notwendige zu tun, aber eine Eskalation zu vermeiden. Alle kritischen Kenngrößen der Methode müssen validiert werden, aber nicht wahl- und kritiklos alle.

- Methodenvalidierung beginnt am besten beim Endergebnis und geht im Analysenablauf bis zum ersten Schritt zurück.
- Validierung kann nicht durch Abhaken von Resultaten mittels Checkliste erfolgen.
- Eine fehlerfreie Analytik („wahrer Wert“) gibt es nicht. Nach Möglichkeit sind die statistische Relevanz und damit die Messunsicherheit zu ermitteln.
- Für validierte Methoden sind Art und Häufigkeit der notwendigen Kontrollen festzulegen mit dem Ziel, den Gesamtanalysenaufwand zu minimieren, aber dennoch die erforderliche Ergebnissicherheit zu erzielen.

Resümee und Kommentar

Die Definition der ISO Norm 17025:2005 lässt dem Analytiker nahezu alle Freiheiten, wenn er nur erstens weiß, was er will („besonderen Forderungen für einen speziellen, beabsichtigten Gebrauch“) und zweitens in der Lage ist, eine fachgerechte Durchführung zu garantieren, d. h. wenn er einen „objektiven Nachweis“ liefert.

- *Bemerkung:* In der Norm 17025 fehlt im Vergleich zu ISO 8402 das Wort „objektiv“.

Die drei wichtigen Elemente der ISO-Definition sind:

Untersuchung:	Es sind Fakten gefragt
Nachweis:	Es geht um nachvollziehbare Kriterien
beabsichtigter Gebrauch:	Validierung ist eine zielgerichtete Prüfung

Wird nun die ISO-Definition 8402 bzw. die neue aus der Norm 17025 zu Grunde gelegt, so wird dem Validierer – jedenfalls aus analytischer Sicht – kaum ein großer Fehler unterlaufen, wenn er folgende Voraussetzungen erfüllt:

- Eindeutig definieren, was mit der Methode beabsichtigt ist.
- Festlegen, was und wie geprüft werden soll.
- Aus den ermittelten Zahlen Aussagen bezüglich Methodeneignung treffen.
- Alle Daten, die zu den gemachten Aussagen führen, dokumentieren.

Die Realität sieht manchmal allerdings so aus, dass der Kontrollierende einer Institution/Behörde stur nach einer Validierungs-Checkliste vorgeht. Sind vom Validierer die in der Liste aufgeführten Validierungselemente abgearbeitet, so ist die Validierung erfolgt, ansonsten nicht. Zu diesem Handicap siehe Kapitel 25. Wir schließen die Diskussion über das, was unter Validierung manchmal verstanden wird, mit einigen Zitaten ab. Diese stammen aus Schriften führender Gerätehersteller und zeigen, dass immer wieder meist unwissentlich völlig verzerrte Bilder von der Validierung gegeben werden.

- 1) Aus einer Produktmitteilung eines Geräteherstellers A: „Ein Großteil der HPLC-Anwender ist heute den sogenannten GLP-Richtlinien unterworfen. Behörden wie BGA oder FDA verlangen die Validierung einer Analyse-methode. Zusätzlich müssen alle Analyseergebnisse permanent auf Einhal-tung der Validierungsgrenzen überprüft werden.“
- 2) Aus einer Kundenschrift eines Geräteherstellers B: „Unter Validierung wird die (regelmäßige) Überprüfung der Genauigkeit eines Messgerätes verstan-den ...“
- 3) Aus einer Produktmitteilung eines Geräteherstellers C: „Die Beurteilung des Dosiergerätes ... Nur wenn alle drei Werte innerhalb der festgelegten Berei-che liegen, hat das Dosiersystem die Validierung erfolgreich bestanden.“

Kommentare:

Zu 1:

- a) Nur ca. 5 % der HPLC-Bestimmungen sind GLP-pflichtig.
- b) Validierung ist keine GLP-Forderung.
- c) Es gibt keine „Validierungsgrenzen“, sondern Spezifikationsgrenzen bzw. Methodenfähigkeitsindices, siehe Kapitel 11.

Zu 2: Beschriebenes Procedere entspricht nicht einer Validierung sondern (vermutlich) der Überprüfung der Messpräzision und eventuell einer Kalibrierung.

Zu 3: Beim Dosiersystem handelt es sich nicht um Validierung sondern um Verifizierung, siehe unten.

1.2.2

Verifizierung

Definition gemäß ISO 8402:1994, § 2.17:

„Bestätigen aufgrund einer Untersuchung und durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass festgelegte Forderungen erfüllt worden sind.“

Die Normenbegriffe für Validierung und Verifizierung unterscheiden sich nur geringfügig. Die „besonderen Forderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch“ in der Definition der Validierung werden bei der Verifizierung durch die „festgelegten Forderungen“ ersetzt. Auf diesen Unterschied werden wir weiter unten noch einmal eingehen.

1.2.3

Qualifizierung bzw. Qualifikation

Dieser Begriff wird leider für zwei unterschiedliche Tatbestände benutzt:

- 1) Nach dem Deutschen Arzneibuch: DAB 9, Band 1, 1992, S. 747–748 „Validierung von Sterilisationsprozessen“ wird folgende Definition verwendet:
„Als Qualifikation wird jener Teilabschnitt der Validierung bezeichnet, der sich, ohne Berücksichtigung des Sterilisiergutes, nur mit der Funktionstüchtigkeit des Sterilisators befasst. Hierzu gehören vor allem Eichung und Kontrolle der physikalischen Messinstrumente wie z. B. Thermometer, Thermofühler, Manometer u. a.“ und
- 2) Gemäß ISO 8402,1994, § 2.13, „Qualifizierungsprozess“ und ISO 8402, 1994, § 2.14 „Qualifizierung“ bzw. „qualifiziert: Der Begriff Qualifizierungsprozess gemäß ISO 8402, 1994, § 2.13 wird beschrieben als „Prozess zur Darlegung, ob eine Einheit zur Erfüllung der festgelegten Qualitätsforderung fähig ist.“
 Der Begriff Qualifizierung gemäß ISO 8402,1994, § 2.14 lautet: *„Status einer Einheit, wenn ihre Fähigkeit zur Erfüllung der festgelegten Qualitätsforderung dargelegt wurde“.*

Kommentar
<p>Im Labor handelt es sich bei der Qualifizierung um die formale Feststellung, dass das für eine bestimmte Messung vorgesehene Verfahren voraussichtlich geeignet ist, den Qualitätsforderungen des Auftraggebers zu genügen. Aus der Sicht der Qualitätssicherung erfolgt der Qualifizierungsprozess im Rahmen der Vertragsprüfung. Dieser soll dem Auftraggeber bestätigen, dass das Labor über ein Prüfverfahren verfügt und es entsprechend beherrscht und so seine Erwartungen erfüllen kann.</p>

Beispiele

Nachfolgend wird versucht, die Begriffe Validierung, Verifizierung und Qualifizierung (nach DAB) am Beispiel der HPLC zu erläutern:

Qualifizierung: Überprüfung der Gerätespezifikationen – ohne Eluent und Probe

- Erreicht die Lampenenergie des Detektors einen bestimmten Wert?
- Ist im gesamten Messbereich des Säulenofens die vom Hersteller angegebene Temperaturkonstanz von 0,1 °C erreichbar?

Verifizierung: Prüfung auf HPLC typische Forderungen

- Erreicht der Detektor mit MeOH als Eluent bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 1 ml/min und einer Detektionswellenlänge von 254 nm ein für die HPLC übliches Basislinienrauschen 0,04 mAU?

- Ist die Systempräzision, gemessen mit MeOH als Eluent und einem unkritischen Testgemisch, kleiner 1 %?
- Validierung: Eignung der vorliegenden HPLC-Methode für ein bestimmtes Trennproblem
- Tensidanalytik mit Ionenaustauscher: wird mit verdünnter Schwefelsäure (eine andere Viskosität als der für Gerätetests übliche Eluent MeOH!) und realen Feuerlöschmittel-Proben die geforderte Präzision von 2 % erreicht?
 - Trennung von Phosphorlipiden: welche Nachweisgrenze wird erreicht bei einer Detektionswellenlänge von 200 nm mit einer Diolphase und einem Chloroform/Methanol Eluenten?“

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass bei der Verifizierung die Anlage auf die vom Hersteller angegebenen bzw. von der HPLC-Gemeinschaft erwarteten Spezifikationen geprüft wird. Das heißt, es handelt sich um eine Überprüfung einer allgemein formulierten Qualitätsforderung.

Bei der Qualifizierung (nach DAB) geht es um die Überprüfung technischer Werte, also letzten Endes um das Ablesen von Widerständen und Spannungswerten der nicht in Betrieb befindlichen Anlage. Es handelt sich de facto um eine Prüfung des technischen Zustandes des Gerätes.

Bei der Validierung liegt der Schwerpunkt auf der Frage, ob eine Trennung mit dieser Apparatur den von dem Kunden bzw. der Behörde festgelegten/erwarteten Qualitätsmerkmalen entspricht. Das heißt, hier handelt es sich um eine anwendungsbezogene Prüfung.

In der Praxis wird oft zwischen Verifizierung und Qualifizierung einer Anlage nicht unterschieden, eine Tatsache, die sicherlich nicht ins Gewicht fällt. Zur Qualifizierung einer Anlage siehe Abschnitt 2.3.

Dass die Verwendung mehrerer, ähnlicher Begriffe offensichtlich eher für Verwirrung denn für Klärung sorgt zeigt folgende Tatsache: Beim DAR (Deutscher Akkreditierungs Rat) wurde im Ausschuss Technische Fragen (ATF) erwogen, den Begriff „verification“ generell aus allen Punkten zu entfernen, um Missverständnissen vorzubeugen.

1.2.4

Charakterisierung

In der Norm ISO 8402:1994 wird dieser Begriff nicht genannt.

Charakterisiert wird eine Methode, indem man die Werte für ihre charakteristischen Kenngrößen ermittelt. Die Werte dieser Kenngrößen sind die Leistungs- oder Verfahrensmerkmalswerte der untersuchten Methode. Sie dienen zur Ab-

schätzung der Unsicherheiten von Ergebnissen, die mit dieser Methode erzielt werden können.

Die Charakterisierung erfasst allerdings nicht nur die spezifischen Eigenheiten der Methode selber, sondern auch alle wesentlichen spezifischen Einflüsse, die in jenem Labor wirksam sind und zur Unsicherheit des Ergebnisses beitragen können. Diese Einflüsse sind z. B.:

- Die Eigenheiten jener Personen, welche die Methode im gegebenen Labor anwenden; d. h. die praktische Erfahrung und Fertigkeit dieser Personen im Umgang mit der Methode, ebenso ihr theoretisches Wissen über die Hintergründe der Methode, aber auch „ihre Tagesform“ bei der Durchführung der Arbeiten.
- Die äußeren laborspezifischen Einflüsse wie z. B.: Temperatur, Feuchtigkeit, Luftdruck, Erschütterungen.
- Verunreinigungen von Wasser, Luft und technischen Gasen etc., verursacht durch Partikel, Bakterien, Sporen, Pilze und andere Fremdstoffen, elektromagnetische Felder, Strahlungen jeglicher Art, Spannungsschwankungen im elektrischen Versorgungsnetz.
- Die inneren für das Versuchsobjekt spezifischen Einflüsse, d. h. Einflüsse der Matrix wie z. B. Körnigkeit und Inhomogenität, die chemische Zusammensetzung von Gemischen, die physikalisch-chemische Aktivität von Beimengungen in den untersuchten Proben, z. B. auf die Oberflächenaktivität.

Als wesentlich sollten jene Einflüsse gelten, welche das Ergebnis der Messung über das tolerierbare Maß hinaus beeinflussen können, insbesondere jene, welche die Unsicherheit der Gesamtergebnisse über die zulässigen Grenzen des Vertrauensbereiches einer bestimmten Kenngröße vergrößern können.

Falls sich die Frage stellt, wie repräsentativ die Ergebnisse der im Labor untersuchten Proben für jene Gesamtheit sind, so müssen bei der Charakterisierung der Methode weitere Einflüsse auf das Gesamtergebnis untersucht bzw. abgeschätzt werden, nämlich: die laborexternen Einflüsse auf das Gesamtergebnis wie z. B. die Repräsentativität des Probenahmeortes, des Probenumfangs, der Probenahmedauer, der Probenmenge. Zu berücksichtigen ist ebenfalls die Möglichkeit wesentlicher Probenveränderung während des Transportes ins Labor. Um eine Methode genau charakterisieren zu können, müssen die ermittelten Ergebnisse über einen längeren Zeitraum verfolgt werden (Methodenstabilität).

1.2.5

Messen, Prüfen, Justieren, Kalibrieren, Eichen

In der analytischen Qualitätssicherung bzw. generell im Prüfwesen ist eine Reihe von Tätigkeiten notwendig. Diese werden *vor* (Eichen, Justieren, Kalibrieren), *während* (Messen) und *nach* Ende der Validierung (Prüfen) ausgeführt. Tabelle 1.2 gibt die DIN-Definitionen und zur Veranschaulichung je ein Beispiel wieder [2].

Tabelle 1.2 Grundbegriffe der Messtechnik.

Begriff	Definition nach DIN 1319 T. 1	Beispiel (Chromatographie)
Messen	Messen ist der experimentelle Vorgang, durch den ein spezieller Wert einer physikalischen Größe als Vielfaches einer Einheit oder eines Bezugswertes ermittelt wird.	Die Retentionszeit eines Peaks wird mit 8 min gemessen.
Prüfen	Prüfen heißt feststellen, ob der Prüfgegenstand eine oder mehrere vorgegebene Bedingungen erfüllt. Mit dem Prüfen ist daher immer der Vergleich mit vorgegebenen Bedingungen verbunden. <i>Anmerkung: Prüfgegenstand kann sowohl die Probe als auch das Messgerät sein!</i>	Funktionsprüfung des Chromatographen durch Auftrennung einer Testmischung und Freigabe oder Sperrung oder Prüfung einer Charge auf ihren Wirkstoffgehalt und Vergleich mit Spezifikationsforderungen.
Justieren (Abgleichen)	Justieren im Bereich der Messtechnik heißt, ein Messgerät so einstellen oder abgleichen, dass die Messabweichungen möglichst klein werden oder dass die Beträge der Messabweichungen die Fehlergrenzen nicht überschreiten. Das Justieren erfordert also einen Eingriff, der das Messgerät oder die Maßverkörperung meist bleibend verändert.	Abgleichen der Flussrate mittels Potentiometer, so dass die eingestellte Flussrate mit der gemessenen übereinstimmt.
Kalibrieren (Einmessen)	im Bereich der Messtechnik heißt, die Messabweichungen am fertigen Messgerät feststellen. Beim Kalibrieren erfolgt kein technischer Eingriff am Messgerät. <i>Anmerkung: Kalibrieren kann sich sowohl auf die Festlegung des Messzusammenhangs als auch auf dessen Überprüfung beziehen.</i>	Feststellen des Messzusammenhangs zwischen Signal und Konzentration (Aufstellen der Kalibrierfunktion) oder Überprüfung, ob der zuvor festgelegte Messzusammenhang noch gültig ist (Überprüfen der Kalibrierfunktion)
Eichen	Das Eichen eines Messgerätes umfasst die von der zuständigen Eichbehörde nach den Eichvorschriften vorzunehmenden Prüfungen und die Stempelung. <i>Anmerkung: An die Stelle der Eichbehörde kann auch eine Stelle treten, der die Eichbefugnis übertragen wurde.</i>	Eichung der für die Substanzwaage verwendeten Analysenwaage

1.3

Grundvoraussetzungen für die Validierung einer analytischen Methode

Es ist unbestritten, dass nur fachlich kompetente Laboratorien imstande sind, analytische Methoden zu validieren. Wichtig ist dabei, dass das Verständnis für die

Validierung, die Auslegung der Normenbegriffe und für die sich daraus ergebenden Forderungen in der Laborpraxis vereinheitlicht, harmonisiert und pragmatisch angelegt werden.

Aus der oben formulierten Auslegung des Begriffes Validierung ergeben sich für die Laborpraxis folgende Forderungen:

- 1) Der vom Labor zu erfüllende Auftrag muss so weit beschrieben sein, dass sich daraus die an die analytische Methode zu stellenden Leistungsforderungen klar und eindeutig ableiten lassen.
- 2) Die üblichen Leistungsmerkmalswerte der analytischen Methode müssen als Werte der benötigten charakteristischen Kenngrößen bekannt oder zu ermitteln sein. Die Methode muss schriftlich fixiert vorliegen; sie sollte neben Angaben wie Methoden- und Einstellparameter, Art und Güte der eingesetzten Chemikalien usw. bei Bedarf auch folgende Angaben enthalten: Probenahme, Probenkonservierung, Probentransport, Probenvorbereitung, Sequenzaufbau bei der Messung, Arbeitsbereich usw. Ist eine der beiden Forderungen nicht erfüllt, so ist die Durchführung einer Validierung nicht möglich.
- 3) In einem Labor mit einem Qualitätsmanagement-System sollte die Erfüllung der in den Punkten 1 und 2 genannten Voraussetzungen und die Überprüfung der Machbarkeit zwingender Bestandteil der Vertragsüberprüfung sein. Damit die obigen Forderungen erfüllt werden können, muss das Labor zumindest ein für die Auftragserfüllung genügend zahlreiches, fachlich qualifiziertes Personal zur Verfügung stellen, eine Leitung haben, welche die Führungsaufgaben verantwortlich wahrnimmt, über angemessene Räumlichkeiten, Infrastruktur und Hilfsmittel und über die benötigten Einrichtungen zur Messung, Analyse und/oder Prüfung verfügen. Weiterhin muss es die für den Auftrag erforderlichen Verfahren und Methoden so weit beherrschen, dass das dem Auftraggeber zugesicherte Qualitätsniveau der vereinbarten Dienstleistung sichergestellt ist.

Nach bisherigen Erfahrungen ist es überdies vorteilhaft, wenn das Labor ein zweckmäßiges(!) Qualitätsmanagement und ein angemessenes Qualitätssicherungs-System betreibt, welches gewährleistet, dass die Qualifikation des Personals, die Laborausrüstung und Verfahrensbeherrschung laufend den jeweiligen Bedingungen angepasst werden.

Fragen der ausreichenden Personalqualifikation und/oder der angemessenen und zweckmäßigen Ausrüstung von Laboratorien, die bei der Durchführung von Validierungen in jedem Fall bedeutsam sind, werden in diesem Buch weiter nicht behandelt (siehe dazu [3, 4]).

1.4

Die Unsicherheit der Ergebnisse von Messungen, Prüfungen und Analysen

Jeder Messwert ist mit einer *Messunsicherheit* behaftet. Obwohl trivial, werfen wir nun doch einen Blick auf den Unterschied zwischen physikalischen und chemischen Messungen. Bei physikalischen Messungen ist der Messwert unabhängig

vom Messobjekt: Ich messe eine Strecke von 2,5 m, egal ob es sich um eine Latte handelt, einen Baum oder die lichte Höhe in meinem Büro. Die Messunsicherheit beschränkt sich auf den Messvorgang/die Messung selbst. Bei chemischen Verfahren stellt die Probe die „Materialisierung“ des analytischen Problems dar. Sie selbst ist die große Unbekannte: Von der Probenahme bis zur Auswertung mit Hilfe von Referenzen können eine Reihe Messunsicherheiten das Ergebnis beeinflussen. Bereits jetzt können wir Folgendes festhalten:

- Je mehr „Chemie“ eine Methode enthält, um so aufwendiger ist die Validierung. Ist „Physik“ dominant, reicht oft eine Kalibrierung aus.
- Es ist eminent wichtig für ISK (in statistischer Kontrolle)-Prozesse zu sorgen, bei denen der unbekannt Anteil der Messunsicherheit zu vernachlässigen ist.

Nun zu den Definitionen.

Im ISO „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement“ (GUM) von 1993 sowie in der Revision von 1995 heißt es zur Unsicherheit:

„Die Unsicherheit des Ergebnisses einer Messung reflektiert den Mangel an einem genauen Wissen über den Wert der Messgröße. Das Ergebnis einer Messung ist auch nach der Korrektur einer erkannten systematischen Einwirkung (effect) immer noch eine Schätzung des Wertes der Messgröße infolge der Unsicherheit, die sich aus der Beeinflussung durch zufällige Einwirkungen und aus der unvollständigen Korrektur des Ergebnisses bezüglich der systematischen Einwirkung ergibt.“

- **Hinweis:** Das Ergebnis einer Messung kann (nach Korrektur) unwissentlich sehr nahe beim Wert der Messgröße liegen (und demzufolge einen vernachlässigbaren Fehler beinhalten) und dennoch kann es eine große Unsicherheit haben; daher sollte die Unsicherheit einer Messung nicht mit dem verbleibenden Fehler verwechselt werden.“

Mit „verbleibender Fehler“ ist wohl die verbleibende systematische Abweichung des Messergebnisses gemeint. Im GUM heißt es weiter:

„In der Praxis sind viele Ursachen der Messunsicherheit möglich, dazu gehören:

- a) Fehlerhafte Annahme des Analyten (solvatisiert, Dissoziationsgrad, als Hydrochlorid vorliegend? usw.)
- b) Cross-Kontamination oder kontaminierte Reagenzien bzw. kontaminierte Leerproben.
- c) Nichtrepräsentative Probenahme.
- d) Ungenügendes Wissen über die Auswirkungen der Umweltbedingungen auf die Messung oder eine ungenügende Messung der Umweltbedingungen.
- e) Ablesefehler einer analogen Anzeige durch die messende Person.
- f) Begrenzte Auflösung oder Nachweisgrenze des Instruments.

- g) Ungenaue Werte der Messstandards und des Referenzmaterials.
- h) Ungenaue Werte von Konstanten und anderen Parametern, die aus externen Quellen stammen und in den Algorithmen zur Messwert-Reduktion verwendet wurden.
- i) Annäherungen und Annahmen, die in die Messmethode bzw. -prozedur aufgenommen wurden.
- j) Schwankungen bei den wiederholten Beobachtungen der Messgröße bei scheinbar konstanten Bedingungen.

Diese Ursachen sind nicht unbedingt unabhängig von einander, einige der Ursachen von a) bis i) können die Ursache j) beeinflussen. Eine nicht erkannte systematische Einwirkung kann bei der Abschätzung der Unsicherheit des Messergebnisses natürlich nicht berücksichtigt werden, obwohl sie zu dessen Fehler beiträgt“.

Eine Reihe von Dokumenten (BIPM, IEC/IFCC/ISO/UPAC/IUPAP, OIML) definiert Messunsicherheit als:

„Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet, die eigentlich der Messgröße zugeordnet werden könnten.

Anmerkungen:

- 1) Der Parameter kann beispielsweise eine Standardabweichung (oder ein gegebenes Vielfaches davon), oder die halbe Weite eines Bereiches sein, der ein festgelegtes Vertrauensniveau hat.
- 2) Messunsicherheit enthält im Allgemeinen viele Komponenten. Einige dieser Komponenten können aus der statistischen Verteilung der Ergebnisse einer Messreihe ermittelt und durch empirische Standardabweichungen charakterisiert werden. Die anderen Komponenten, die ebenfalls durch Standardabweichungen charakterisiert werden können, werden aus angenommenen Wahrscheinlichkeitsverteilungen ermittelt, die sich auf Erfahrung oder andere Informationen gründen.
- 3) Es wird vorausgesetzt, dass das Messergebnis der beste Schätzwert für den Wert der Messgröße ist, und dass alle Komponenten der Unsicherheit zur Streuung beitragen, eingeschlossen diejenigen, welche von systematischen Einwirkungen herrühren, z. B. solche, die von Korrekturen und Bezugsnormen stammen“.

Näheres zur Mess- und Ergebnisunsicherheit findet sich in Abschnitt 5.3.

1.5

Methoden zur Charakterisierung von analytischen Methoden

Die Forderung, dass Laboratorien nur solche Verfahren anwenden dürfen, die für den vorgesehenen Gebrauch tatsächlich geeignet sind, bedeutet, dass der vorgese-

hene Gebrauch klar beschrieben sein muss und die sich aus der beabsichtigten Anwendung ergebenden besonderen Forderungen spezifiziert sind. Erst an solchen Spezifikationen lässt sich ermesen, wie weit die Eignungsprüfung (Validierung) gehen muss, damit der Aufwand in einer zweckmäßigen Relation zu den Bedürfnissen des Auftraggebers steht. Für die Laborpraxis ist dabei bedeutsam, dass es dem Labor freigestellt bleibt, die für einen bestimmten Anwendungsbereich typischen Forderungen und Spezifikationen auf Grund der eigenen Erkenntnisse und Erfahrungen nach bisherigen Kundenwünschen zu formulieren, womit eine *Validierung a priori* möglich wird, d. h. schon bevor ein neuer Kunde auftritt. Bei einem solchen Vorgehen bleibt dem Labor die Aufgabe zu überprüfen, ob das (vorvalidierte) Verfahren auch für den ganz konkreten Auftrag ebenfalls geeignet ist.

Die nachfolgenden Beispiele zeigen, wie die Charakterisierung eines Prüf- bzw. Kalibrierverfahrens durchgeführt werden kann, sofern die oben genannten Vorbedingungen erfüllt sind.

Die bei der Charakterisierung eines Prüf- bzw. Kalibrierverfahrens ermittelten Daten sind statistisch zu bearbeiten gemäß den Empfehlungen des ISO „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement“, second version, 1995. In dieser ISO-Richtlinie wird zwischen zwei Methoden zur Bestimmung der Unsicherheit von Prüfergebnissen wie folgt unterschieden:

- Methoden des Typs A stützen sich auf die Schätzung der Unsicherheit von Messungen mit Hilfe statistischer Verfahren auf der Grundlage experimentell ermittelter Daten.
- Methoden des Typs B sind Schätzverfahren auf der Grundlage anderweitiger Informationen, z. B. von Erfahrungswerten.

Die für die verschiedenen Verfahrensstufen geschätzten Messunsicherheiten werden gemäß den Regeln des Gesetzes über die Fehlerfortpflanzung als Varianzen kombiniert. Bei Prüfungen darf man erfahrungsgemäß in den meisten Fällen die individuellen Beiträge der einzelnen Verfahrensstufen an die Gesamtunsicherheit als unabhängig voneinander und als normalverteilt betrachten. Nur in Ausnahmefällen, wenn nämlich eine Korrelation zwischen zwei oder mehreren Verfahrensstufen vorliegen sollte, ist gemäß den Regeln der Kovarianzanalyse zu verfahren.

1.5.1

Die Charakterisierungsmethoden

Es lassen sich mehrere Methoden zur Charakterisierung von Prüf- bzw. Messverfahren anwenden. Sie unterscheiden sich durch die anzuwendende Verfahrensweise, durch die Art (zufällige Abweichungen, systematische Abweichungen, Gesamtabweichungen) und den Erfassungsgrad (Vollständigkeitsgrad mit dem das Verfahren bei der Schätzung erfasst wird) der geschätzten Unsicherheit der Ergebnisse. Alle hier vorgestellten Methoden der Charakterisierung haben ihren praktischen Wert und sollten dem gegebenen Sachverhalt und den Möglichkeiten entsprechend und unter Berücksichtigung der spezifischen Bedürfnisse gewählt werden.

1.5.1.1 Erste Charakterisierungsmethode: systematische Beurteilung der Faktoren, die das analytische Ergebnis beeinflussen können

Bei dieser Methode werden alle relevante Parameter (Einflussgrößen) der Methode systematisch variiert und deren Einfluss auf das Ergebnis quantifiziert.

Diese Charakterisierungsmethode ist immer dann zweckmäßig oder einzig möglich, wenn dem Messenden gesicherte Referenzen nicht zur Verfügung stehen. Dies ist oft bei der Analyse von unbekanntem Proben und bei der Anwendung von Prüfverfahren der Fall, die sich lediglich auf Messkonventionen („Kochrezepte“) stützen.

Zu typischen äußeren Einflüssen, welche analytischen Prüf- bzw. Messergebnisse beeinflussen können, gehören beispielsweise: Temperatur, Strahlungen, Luftfeuchte, Luftdruck, Luftfremdstoffe, Spannung des elektrischen Stroms, Magnetfelder oder mechanische Erschütterungen. Zu inneren Einflüssen gehören z. B. Inhomogenität, bzw. Verunreinigungen des Messobjekts oder Bestandteile einer untersuchten Substanz, die ein Gemisch aus verschiedenen Stoffen darstellt (Matrixeffekte).

Kommentar

Diese Charakterisierungsmethode kann praktisch unbegrenzt, d. h. in allen Bereichen des Prüfwesens, verwendet werden und hat insoweit eine nahezu universelle Anwendungsmöglichkeit.

Zu den Ergebnissen der ersten Charakterisierungsmethode

Die mit Hilfe der ersten Charakterisierungsmethode erhaltenen Ergebnisse sind Schätzwerte für die zufälligen Abweichungen der Unsicherheiten der Ergebnisse von Analysen bzw. Messungen. Sie sind für das untersuchte analytische Verfahren charakteristisch und sind bei Einhaltung gleichbleibender Wiederholbedingungen als eine Verfahrenskenngröße des validierenden Labors anzusehen. Die so ermittelten Kenngrößen besagen indessen nichts über die Richtigkeit der mit diesem analytischen Verfahren gewonnenen Ergebnisse, d. h. dass in diesem Fall die systematische Abweichung vom richtigen Ergebnis unbekannt bleibt.

1.5.1.2 Zweite Charakterisierungsmethode: Kalibrierung mit Referenznormalen/Referenzmaterialien und gleichzeitige Untersuchung der Einflussgrößen

Wird eine Kalibrierung zugleich zur Charakterisierung eines Messverfahrens verwendet, so muss sie durch eine systematische Untersuchung der Einflüsse auf das Kalibrier- bzw. Messergebnis – gemäß der oben geschilderte ersten Charakterisierungsmethode – ergänzt werden. Die zur Kalibrierung verwendeten *Referenzen*

müssen dabei bezüglich Art und Größe der durch sie dargestellten Merkmalswerte den zu messenden Prüfobjekten entsprechen. Außerdem sind die Werte jener Einflüsse systematisch zu untersuchen, welche das Kalibrier- bzw. Messergebnis merklich, d. h. über das zulässige Maß hinaus, beeinflussen können.

Kommentar

Wird beispielsweise der Einfluss der Außentemperatur für einen bestimmten Temperaturbereich untersucht, so sind Messergebnisse, die bei Temperaturen gewonnen wurden, die außerhalb dieses Bereichs liegen, als nicht gesichert bzw. nicht vertrauenswürdig zu betrachten. Aus diesem Grund sollten Ergebnisse von Messungen beispielsweise wie folgt präsentiert werden:

„Die charakteristischen Kenngrößen X, Y, Z dieses Messverfahrens wurden für den Temperaturbereich zwischen 18 °C und 24 °C ermittelt“.

Zu den Ergebnissen der zweiten Charakterisierungsmethode

Die mit der zweiten Charakterisierungsmethode erhaltenen Ergebnisse sind zunächst – ähnlich wie bei der ersten Charakterisierungsmethode – Schätzwerte für die zufälligen Abweichungen der Unsicherheiten von Messergebnissen. Bei Einhaltung gleichbleibender Wiederholbedingungen sind sie als eine Verfahrenskenngröße des untersuchten Messverfahrens anzusehen. Dank der Verwendung gesicherter Referenzen ermöglicht diese Charakterisierungsmethode zusätzlich eine Aussage über die systematische Abweichung der mit diesem Messverfahren gewonnenen Ergebnisse, also die Überprüfung der Richtigkeit. Die Unsicherheit dieser zweiten Aussage hängt im Wesentlichen nur noch von der Qualität der Referenz – oder genauer genommen von der Unsicherheit der durch die Referenz verkörperten Merkmalswerte ab.

Kommentar

Die Unsicherheit der verwendeten Referenzen muss den Spezifikationen des Messverfahrens entsprechen oder besser als die Forderungen sein. Die Unsicherheit der Referenz sollte dem Gebrauchszweck ebenso angemessen sein, wie der Kostenaufwand für die Referenz, welcher die Gesamtmessung nicht mehr belasten sollte als unbedingt nötig.

1.5.1.3 Dritte Charakterisierungsmethode: Vergleich der Ergebnisse, die mit einem weiteren Verfahren ermittelt wurden

In dieser Charakterisierungsmethode werden die mit dem zu charakterisierenden Messverfahren erhaltenen Ergebnisse mit den Ergebnissen eines (oder mehrerer) anderen unabhängigen Messverfahrens (Vergleichs- oder Referenzverfahren) ver-

glichen. Dabei werden in beiden Messverfahren die gleichen Messobjekte unter Wiederholbedingungen verwendet. Es kann vorkommen, dass das Vergleichsverfahren ein Referenzverfahren ist, d. h. dass die mit ihm ermittelten Ergebnisse auf gesicherte Referenzen zurückgeführt werden können.

Die dritte Charakterisierungsmethode ist dann nützlich, wenn einerseits keine gesicherten Referenzen unmittelbar verfügbar sind und andererseits der Aufwand für eine systematische Untersuchung der Einflüsse auf die Messgrößen mittels der ersten Charakterisierungsmethode aus zeitlichen und/oder aus Kostengründen nicht in Frage kommt.

Kommentar

Die Wahl des Vergleichsverfahrens sollte dem Verwendungszweck des untersuchten Messverfahrens entsprechen, insbesondere bezüglich der zulässigen Ergebnisunsicherheit, ebenso sollte bei dessen Wahl berücksichtigt werden, dass der mit dem Vergleichsverfahren verbundene Aufwand und die damit verbundenen Kosten in einem akzeptablen Verhältnis zu den Bedürfnissen des Auftraggebers stehen.

Zu den Ergebnissen der dritten Charakterisierungsmethode

Die Unsicherheit der mit dem zu charakterisierenden Messverfahren ermittelten Ergebnisse ist unmittelbar davon abhängig, wie groß die Unsicherheit der mit dem Vergleichsverfahren gefundenen Ergebnisse ist. Je kleiner der Unterschied zwischen den Ergebnissen der verglichenen Verfahren, um so stärker die Vermutung, dass sich die charakteristische Unsicherheit des untersuchten Messverfahrens nur geringfügig von jener des Vergleichsverfahrens unterscheidet. Wir schlagen vor, den Unterschied zwischen den mit zwei unabhängigen Messverfahren ermittelten Ergebnissen – bei Einhaltung von Wiederholbedingungen – der Ergebnisunsicherheit jedes der beiden Verfahren gleichzusetzen. Verwendet man bei dieser Untersuchung mehrere Messobjekte mit unterschiedlichen Werten des gleichen Merkmals, so erhält man im Resultat eine ganze Reihe von Unsicherheiten, die nach statistischen Regeln bearbeitet werden können.

Je nach Art des Vergleichsverfahrens sind die Unsicherheiten der mit der dritten Charakterisierungsmethode ermittelten Ergebnisse charakteristisch für:

- 1) die zufälligen Abweichungen der Unsicherheiten, wenn nämlich das Vergleichsverfahren auf eine Referenz nicht zurückgeführt werden kann;
- 2) die zufälligen Abweichungen der Unsicherheiten, zugleich aber auch für die systematischen Abweichungen der Unsicherheiten, wenn nämlich das Ver-

gleichsverfahren ein Referenzverfahren ist und auf eine gesicherte Referenz zurückgeführt werden kann.

Wurde das zum Vergleich verwendete Referenzverfahren gemäß der zweiten Methode bereits charakterisiert, so liegen Angaben über die charakteristische Ergebnisunsicherheit dieses Verfahrens schon vor. In diesem Fall ist auch eine Aussage über den Vertrauensgrad der Ergebnisunsicherheit des untersuchten Messverfahrens möglich.

Kommentar

Die Wahl des Vergleichsverfahrens sollte dem Verwendungszweck des untersuchten Messverfahrens entsprechen, insbesondere bezüglich der zulässigen Ergebnisunsicherheit, ebenso sollte bei dessen Wahl berücksichtigt werden, dass der mit dem Vergleichsverfahren verbundene Aufwand und die damit verbundenen Kosten in einem akzeptablen Verhältnis zu den Bedürfnissen des Auftraggebers stehen.

1.5.1.4 Vierte Charakterisierungsmethode: Vergleichsmessungen zwischen Laboratorien (Laborvergleichsversuche, Ringversuche)

In dieser Methode wird das untersuchte Messverfahren mittels der Ergebnisse von Vergleichsmessungen zwischen mehreren Laboratorien charakterisiert. Die am Vergleichsversuch teilnehmenden Laboratorien verwenden alle das gleiche Messverfahren und untersuchen alle die gleichen Prüfobjekte unter den für ihr Labor spezifischen Gegebenheiten (Vergleichsbedingungen). Das untersuchte Messverfahren wird charakterisiert, indem die Ergebnisse der Vergleichsmessungen mit statistischen Mitteln bearbeitet und dargestellt werden.

Kommentar

Zu Vergleichsmessungen zwischen mehreren Laboratorien, deren Zweck die Charakterisierung eines Messverfahrens ist¹⁾, sollten nur solche Laboratorien eingeladen werden, welche das zu charakterisierende Verfahren in vertrauenswürdiger Weise bezüglich Wissen, Erfahrung und Ausrüstung beherrschen. Vergleichsmessungen zwischen Laboratorien müssen gut geplant, kompetent begleitet und mit statistischen Mitteln ausgewertet und dargestellt werden. Die Teilnahmebedingungen und der Durchführungsmodus müssen schon im voraus bekannt sein. Das Verfahren selber ist bis ins Detail schriftlich niederzulegen; insbesondere bezüglich solcher Verfahrenselemente, die auf das Endergeb-

1) Vergleichsversuche zwischen Laboratorien werden für verschiedene Aufgaben eingesetzt, nämlich: „zur Charakterisierung von Messverfahren“ oder „zur Charakterisierung der Eigenschaften, d. h. der Merk-

malswerte von Stoffen“ (Materialzertifizierung) oder „zur Überprüfung der technischen Leistungsfähigkeit von Laboratorien“ (proficiency testing)

nis einen merklichen Einfluss haben können. Eine Vergleichsmessung muss von einem besonders kompetenten Labor (Referenzlabor), welches das untersuchte Verfahren hervorragend beherrscht, geleitet und betreut werden.

Zu den Ergebnissen der vierten Charakterisierungsmethode

Mit Hilfe dieser Charakterisierungsmethode wird pro Prüfobjekt von jedem der teilnehmenden Laboratorien ein (oder mehrere) Ergebnis(se) geliefert. Diese Reihe von Ergebnissen ist die Grundlage für die Schätzung der zufälligen Abweichung der Unsicherheit des Messergebnisses für das gegebene Messobjekt. Werden im Vergleichsversuch mehrere Prüfobjekte mit verschiedenen großen Werten des gleichen Merkmals untersucht, so ergibt sich eine Reihe von Ergebnissen, aus denen für das untersuchte Messverfahren die Unsicherheit der Ergebnisse unter Vergleichsbedingungen als eine charakteristische Verfahrenskenngröße, die „Standardunsicherheit“ berechnet werden kann. Sie gilt für jenen Bereich, welcher der Spanne der Merkmalswerte der untersuchten Prüfobjekte entspricht. Die so ermittelte Kenngröße besagt indessen nichts über die Richtigkeit der mit diesem Messverfahren gewonnenen Ergebnisse, d. h. dass die systematische Abweichung vom richtigen Ergebnis weiterhin unbekannt bleibt. Die Vertrauenswürdigkeit der Standardunsicherheit hängt im Wesentlichen von der Vertrauenswürdigkeit der teilnehmenden Laboratorien ab. Je kleiner die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Laboratorien, um so stärker die Vermutung, dass die mit dem untersuchten Verfahren erzielten Werte eine verhältnismäßig geringe Unsicherheit haben. Für eine detaillierte Auseinandersetzung mit dem Thema „Ringversuche“ siehe G. Görlitz in [3].

1.5.1.5 Fünfte Charakterisierungsmethode: Geordnete Schätzung der Ergebnisunsicherheit auf der Grundlage von Wissen und Erfahrung (Ein Schätzverfahren vom Typ B)

Das Vorgehen bei der „Schätzung“ von U_T sieht in kürzester Darstellung wie folgt aus:

- 1) Der gesamte Messvorgang wird Schritt um Schritt, d. h. von der Messplanung über die Festlegung der Probenahmeorte, Probenahmedauer, Probenzahl, der Messung der Hilfsparameter (Temperatur, Wasserdampfgehalt, Zusammensetzung der Gase usw.), der eigentlichen Probenahme und dem Probentransport usw. bis zur allerletzten Auswertung und Berechnung, ohne irgendeine Auslassung einer Verfahrensstufe, aufgelistet. Bei jeder Verfahrensstufe wird abgeschätzt, welchen Einfluss die Unsicherheit dieses Schritts (U_i) auf die Unsicherheit des Endergebnisses (U_T -Wert) haben könnte.

- 2) Die so aufgelisteten einzelnen Schritte werden nun zu größeren Verfahrensmodulen zusammengefasst, wie z. B. Probenahme, Probentransport, Probenvorbereitung, Anreicherung oder Verdünnung der Probe, Messung der gesuchten Merkmalswerte, Auswertung und Berechnung der Ergebnisse.
- 3) Für jedes Verfahrensmodul wird nun die Unsicherheit des Moduls U_M anhand der für die einzelnen Verfahrensstufe geschätzten Unsicherheiten U_i (gemäß der Regel für die Fehlerfortpflanzung nach Gauß) als prozentualer Beitrag des Moduls an die Gesamtunsicherheit U_T berechnet. Aufgrund einer breit abgestützten Erfahrung wird dabei angenommen, dass sich die Einzelunsicherheiten normal verteilen und dass sie in den allermeisten Fällen untereinander nicht korrelieren.
- 4) Aus den prozentualen Unsicherheiten der Module U_M wird schließlich die Gesamtunsicherheit U_T des Endergebnisses der Messung (ebenfalls nach Gauß) ermittelt. Alle soeben beschriebenen Schätzungen werden für zwei Situationen gemacht, nämlich für:
 - a) Unsicherheiten, die sich bei Standardsituationen (S-Fall) ergeben haben, d. h. bei Situationen, wie sie in der Praxis beim Schätzenden in etwa $2/3$ aller Fälle bei Anwendung des geschätzten Verfahrens vorgelegen haben; angegeben wird die obere Grenze dieses Streubereichs und
 - b) Unsicherheiten, welche bei Anwendung des geschätzten Verfahrens in ungünstigen Situationen (X-Fall) beim Schätzenden nur selten angefallen sind, d. h. mit einer Häufigkeit von einmal pro 20 Standardsituationen bis zu einmal pro 100 Standardsituationen (d. h. mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 bis 99 %). Nicht gemeint sind damit die denkbar schlimmsten Fälle überhaupt (worst cases), die in der Praxis selten Relevanz haben. Angegeben wird hier die obere Grenze dieses Streubereichs.

Das hier beschriebene „Verfahren zur geordneten Schätzung der U_T -Werte von Prüfungen“, das auf einen Vorschlag von J. S. Morkowski [5–7] zurück geht, wurde in die neue ISO Norm 17025 aufgenommen (s. Abschnitt 1.2.1). Die bisher mit diesem Schätzverfahren gesammelten Erfahrungen bestätigen ohne Ausnahme die Vermutung, dass es Ergebnisse (U_T -Werte) liefert, welche den Erwartungen versierter Praktiker sehr nahe kommen.

Vorbedingungen für die Teilnahme an der Schätzung sind:

- Ein gutes Verständnis des Messprinzips, insbesondere der wissenschaftlich-theoretischen Hintergründe, auf denen es aufbaut, und ein Verständnis für die Bedeutung der möglichen Einflussgrößen
- ein häufiger und schon länger dauernder Umgang mit dem betreffenden (oder mit einem sehr ähnlichen) Messverfahren einschließlich der Fähigkeit zur Beurteilung der Plausibilität der Ergebnisse von Messungen bzw. Analysen
- und *last but not least* der Mut, um die vorhandenen Unsicherheiten zu benennen und zu quantifizieren.

Infolge der Schätzung der Unsicherheiten für zwei verschiedene „Betriebsituationen“ bei der Anwendung des Verfahrens ergeben sich zwei Zahlenreihen, aus de-

nen zwei U_T -Werte berechnet werden. Der erste U_T -Wert (S-Fall) wird einer einfachen Standardunsicherheit gleichgesetzt. Der zweite Wert (X-Fall) beträgt in vielen Bereichen des Prüfwesens erfahrungsgemäß das zwei- bis dreifache dieser Standardunsicherheit (bei sehr unsicheren Verfahren allerdings noch mehr).

Die von einzelnen erfahrenen Messenden (u. U. bei mehreren Personen aus dem gleichen Labor) geschätzten U_T -Werte werden wie die Einzelergebnisse aus einer Vergleichsmessung zwischen Laboratorien (Ringversuch) behandelt.

Die Anwendung der fünften Charakterisierungsmethode bedeutet in der Praxis:

- Es ist möglich, die charakteristische Kenngröße U_T des Messverfahrens unter Vergleichsbedingungen zu schätzen. Diese wird ausgedrückt als Grenze des Vertrauensbereichs (mit $2/3$ und $1/20$ -Wahrscheinlichkeit) für die Unsicherheit der Einzelwerte.
- Die Schwachpunkte der Verfahrensstufen, die den größten Beitrag zur Gesamtunsicherheit des Gesamtverfahrens liefern, können identifiziert werden.
- Es ist dadurch möglich, das Verfahren hinsichtlich der Gesamtunsicherheit zu verbessern. Insbesondere durch gezielte Maßnahmen zur Verminderung der Unsicherheit jenes Verfahrensschrittes, welcher erkanntermaßen den größten Beitrag an die Gesamtunsicherheit liefert. Bei der Berechnung der Gesamtunsicherheit U_T des Verfahrens aus den Unsicherheiten der Verfahrensmodule U_M ist jeweils zu prüfen, ob die Module sich hinsichtlich der Unsicherheit gegenseitig beeinflussen, d. h. ob sie miteinander korrelieren.

Zu den Ergebnissen der fünften Charakterisierungsmethode

Das Ergebnis einer Schätzung mit der fünften Charakterisierungsmethode kann *beispielsweise* wie folgt angegeben werden:

Für $2/3$ aller Fälle beträgt im S-Fall die Standardunsicherheit des Gesamtergebnisses U_T dieses Prüfverfahrens rund ± 3 % (Schätzwert für Standardsituationen, d. h. bei Anwendung des Verfahrens unter günstigen bzw. normgerechten Bedingungen). Im X-Fall, d. h. in 95 % aller Fälle ist die Unsicherheit des Gesamtergebnisses U_T nicht größer als ± 7 % (Schätzwert für den Fall, dass das Verfahren unter ungünstigen Bedingungen durchgeführt werden muss). Diese Schätzwerte gelten für Raumtemperaturen zwischen 20 °C und 25 °C und Luftfeuchtigkeiten zwischen 45–55 % r. F. Die Nachweisgrenze dieses Prüfverfahrens liegt bei 2 mg Prüfsubstanz/kg Probe im Trockenzustand.

Die Güte der mittels der fünften Charakterisierungsmethode gefundenen Schätzergebnisse ist zunächst ein Spiegelbild des Wissens und der Erfahrung des Schätzers betreffend des geschätzten Verfahrens. Zugleich sind sie aber auch ein Ausdruck seines Könnens zur realistischen Darstellung jener Fehler, die (scheinbar nur) in seinem Labor schon aufgetreten sind und ein Zeichen seines kritischen Sinnes, der Unsicherheitsquellen erkennt, was den Schätzer überaus ehrt.

Man darf ohne zu zögern vermuten, dass die Ergebnisse solcher Schätzungen durch wissende, erfahrene und der Wahrheit mutig ins Auge schauende Praktiker nicht schlechter (und nicht schockierender!) sind, als die oft „unglaublichen“ Ergebnisse von Vergleichsversuchen zwischen Laboratorien (gemäß der vierten Charakterisierungsmethode), bei denen sich die Ergebnisse untereinander oft ganz wesentlich unterscheiden. In beiden Fällen werden die großen Streuungen der Ergebnisse durch die gleichen Ursachen bewirkt, nämlich durch die vielfältigen und oft bedeutsamen Einflüsse auf die einzelnen Schritte des Verfahrens, die in den Laboratorien in unterschiedlicher Weise wirksam werden, die aber in der Laborpraxis allzu oft aus Unwissenheit unbeachtet oder als untergeordnet unerwähnt bleiben.

Sind die Problematik und Tücken eines Verfahrensmoduls dem Schätzenden nicht gut geläufig, so kann er schwerlich dessen Unsicherheit U_M schätzen. Damit ist er auch außer Stand, die Gesamtunsicherheit U_T des Verfahrens zu schätzen.

Tut er es dennoch, darf dies nur unter dem Vorbehalt geschehen, dass die fehlende Erfahrung sobald wie möglich gewonnen und der provisorische Schätzwert allenfalls korrigiert wird. Dies bedeutet, dass das unbekannte Modul so schnell wie nur möglich nach einer der o.g. vier ersten Methoden charakterisiert wird oder, sofern dies experimentell nicht möglich ist, statt dessen erfahrene Praktiker befragt werden, mit deren Hilfe eine Schätzung der Unsicherheit des besagten Moduls U_T durchgeführt wird [8].

Die Vorteile und die Nützlichkeit der fünften Methode zur Charakterisierung der Unsicherheit der Ergebnisse sind evident. Oft stellt sie die einzige praktikable Möglichkeit dar, um eine erste Abschätzung der Gesamtunsicherheit U_T eines quasi neuen Verfahrens zu erlangen; z. B. dort, wo Prüf-, Mess- oder Analyseergebnisse schnellstens benötigt werden und wo das „neue“ Verfahren aus an sich wohl bekannten, erprobten und gut beherrschten Verfahrensmodulen ad hoc zusammengebaut wird. In einem solchen Fall wird die Gesamtunsicherheit U_T aus den schon von früher her bekannten Unsicherheiten U_M der verwendeten Verfahrensmodule abgeschätzt. Bei diesem Vorgehen sollte klar sein, dass die verwendeten U_M -Werte nach verschiedenen Charakterisierungsmethoden ermittelt wurden. Die einen können eine experimentelle Grundlage haben und andere auf der Basis von Erfahrung und dem wissenschaftlichen Verständnis des verwendeten Prinzips geschätzt worden sein. Die soeben geschilderte Situation kommt bei F+E-Arbeiten öfter vor. Nicht immer kann hier schon im voraus gesagt werden, aus welchen Verfahrensmodulen das jeweils benötigte Verfahren zusammengebaut werden wird. Eine schnelle Schätzung des U_T -Wertes ist nur ein Notbehelf, dem mit einer systematischen Untersuchung der Einflussgrößen oder durch Vergleich der Ergebnisse mit einem anderen unabhängigen Verfahren oder dem Vergleich mit anderen Laboratorien so bald wie möglich abgeholfen wird. Diese Charakterisierungsmethode, die quasi eine Alternative zur klassischen Validierung darstellt, gewinnt stets an Bedeutung. So ist sie bereits mehrfach Gegenstand von Publikationen gewesen. Gemäß ihrer wachsenden Bedeutung wird in Kapitel 3 und in Kapitel 30 ausführlich auf deren praktische Anwendung eingegangen.

Es kann vorkommen, dass die schon bestehende Charakterisierung eines Verfahrens oder eines Verfahrensmoduls, welche bereits nach einer Charakterisie-

rungsmethode vom Typ A (d. h. Methoden 1–4) erfolgte, um eine Charakterisierungsmethode vom Typ B erweitert werden muss. Am besten geeignet scheint hierfür die Charakterisierungsmethode 5.

1.5.1.6 Kombination der fünf Charakterisierungsmethoden

Das Wissen eines Labors um die Unsicherheiten der verschiedenen Verfahrensstufen basiert auf recht unterschiedlichen Erfahrungen. Die das Verfahren anwendende Person mag die eine Verfahrensstufe recht gut im Griff haben; über eine andere Verfahrensstufe würde sie gerne etwas mehr wissen; schließlich weiß sie über eine weitere Verfahrensstufe nur soviel, dass sie recht unzuverlässig ist und vermutlich erhebliche Unsicherheiten in sich birgt. Dieses ungenügende Wissen um die Unsicherheit bestimmter Verfahrensstufen spiegelt das realistische Problem wider, mit dem sich der Validierende oft konfrontiert sieht. Aus diesem Grund setzt sich in der Praxis die Charakterisierung eines komplexen Verfahrens oft aus mehreren Charakterisierungsmethoden zusammen, d. h. dass sie eine Kombination von mehreren der o. g. fünf Charakterisierungsmethoden ist. Unter dem „Validierenden“ verstehen wir eine Person, der es erstens um eine „wirkliche“ Prüfung der Eignung einer Methode geht und die zweitens die Entscheidungsbefugnis hat, dies auch so zu tun. Ein Anwender, der nach festen Vorgaben einen Validierungskatalog abarbeitet, wird sich hier sicherlich nicht angesprochen fühlen.

Beispiel

Basiert eine Verfahrensstufe auf einer Messung mit dem Ziel, physikalische Merkmalswerte eines Messobjekts festzustellen, so wird man zu dessen Charakterisierung die zweite Charakterisierungsmethode verwenden (Kalibrierung mit systematischer Untersuchung der wesentlichen Einflussgrößen). Für die Abschätzung der Unsicherheiten, die sich aus der Probenvorbereitung ergeben können, wird man oft die erste Charakterisierungsmethode nehmen (systematische Untersuchung der Einflussgrößen). Sollen indessen die Unsicherheiten abgeschätzt werden, die sich in einem bestimmten Verfahren bei der Probenahme und dem Probentransport ergeben können, so ist eine gute Kenntnis der wissenschaftlichen Zusammenhänge und eine ausgiebige praktische Erfahrung im Umgang mit diesem Verfahren die einzige realistische Grundlage für die Ermittlung realistischer Werte von U_M gemäß den Regeln der fünften Charakterisierungsmethode.

Die gesuchte Gesamtunsicherheit des Ergebnisses U_T kann in diesem Fall nur dank einer Kombination der o. g. drei Charakterisierungsmethoden (für die gesuchten drei U_M -Werte) ermittelt werden.

1.5.1.7 Weitere Methoden vom Typ B

In Fällen, da eine Verwendung einer der o. g. fünf Charakterisierungsmethoden nicht möglich oder nicht zweckmäßig ist, bleibt manchmal die Möglichkeit, eine weitere Charakterisierungsmethode vom Typ B einzusetzen, so z. B.:

- 1) Charakterisierung eines Verfahrens durch *Simulation*, d. h. Untersuchung analoger Prüfobjekte mit bekannten Merkmalswerten.

Diese Methode ermittelt die zur Charakterisierung des untersuchten Verfahrens benötigten Informationen (insbesondere den Wert von U_T) durch Messung von gut bekannten, d. h. kalibrierten Messobjekten, welche dem zu prüfenden Original bezüglich der maßgebenden Merkmalswerte sehr ähnlich sind. Zu beachten ist dabei, dass das durch Simulation charakterisierte Messverfahren den Bedürfnissen des Auftraggebers zu genügen vermag. Diese Simulationsmethode könnte man als eine Ableitung der zweiten Charakterisierungsmethode mit einer „Quasi-Kalibrierung“ bezeichnen.

- 2) Charakterisierung eines Verfahrens durch *Berechnungen*, die sich auf verifizierte Rechenmodelle stützen.

Diese Charakterisierungsmethode ermittelt die benötigten Informationen (insbesondere den Wert von U_T) durch Berechnungen, die von reellen Prüfergebnissen ausgehen und diese in ein verifiziertes Rechenmodell einbringen. Dies berücksichtigt zugleich die wissenschaftlichen Zusammenhänge des untersuchten Verfahrens ebenso wie die anderwärts untersuchten Einflüsse auf das Gesamtergebnis. Bedingung für die Verwendung dieser Methode ist einerseits, dass das verwendete Rechenmodell durch plausible Rechenergebnisse verifiziert wurden und dem neuesten Stand der Erkenntnisse/der Technik entspricht und dass es andererseits den Bedürfnissen des Auftraggebers genügt.

1.6

Charakterisierung (Qualifizierung) von Methoden als letzter Schritt einer Validierungsprozedur

Letzter Schritt der Validierungsprozedur ist der *Vergleich* der gefundenen charakteristischen Merkmalswerte der untersuchten Methode mit den Forderungen, wie sie sich aus einem Auftrag oder aus Spezifikationen ergeben, um eine bestimmte Aufgabe angemessen lösen zu können. Ist das Ergebnis des Vergleichs positiv, d. h. dass die für den Auftrag vorgesehene Methode geeignet ist, so hat das Labor dies formell durch eine schriftliche Erklärung festzustellen. In der Praxis wird man sagen: die Methode ist validiert und für einen bestimmten Verwendungszweck qualifiziert.

Für Akkreditierstellen stellt sich die Frage, wie diese Forderungen der ISO 17025 praxisnah zu überprüfen sind. Im Sinne des Qualitätsmanagements (ISO-9000 ff.) fordert die Norm vom Labor eine Dienstleistung, die der Aufgabe des Kunden angemessen ist und eine dementsprechende Prüfung des Vertrages erfordert. Die für die Aufgabe vorgesehene Methode ist daraufhin zu überprüfen, ob sie für die Lösung des konkreten Kundenproblems tatsächlich geeignet ist, d. h. dass, die Methode zu validieren ist. Ist die Eignung überprüft und gewährleistet, so hat das Labor diese Tatsache zu bestätigen. Gemäß den vorausgegangenen Ausführungen wird die vorgesehene Methode für den konkreten Kundenauftrag qualifiziert.

Es kann vorkommen, dass das Labor im Vertrag einschränkend feststellen muss, dass es einige Forderungen nicht oder nur teilweise erfüllen kann (weil es z. B. für die Messung eines bestimmten Merkmalswertes nicht eingerichtet ist). Schließlich ist zu beachten, dass die vollständige Vertragsprüfung nicht nur die Beherrschung des Messverfahrens behandelt (d. h. Personalqualifikation, Merkmalswerte der Methode, angemessene Einrichtungen u. ä. m.) sondern auch andere Aspekte wie z. B. rechtliche Gesichtspunkte, Terminfragen, die Verfügbarkeit von geeignetem Personal und Einrichtungen und nicht zuletzt die Kostenfrage.

1.7

Freigabe von Methoden, Dokumentation

Der Laborleiter ist dafür verantwortlich, dass alle in seinem Labor verwendeten Methoden (vorrangig die nicht genormten) charakterisiert werden in einem Umfang, welcher dem beabsichtigten Verwendungszweck angemessen ist. Bevor eine Methode in einem Labor routinemäßig eingesetzt wird, muss sie vom Laborleiter für den Gebrauch ausdrücklich freigegeben werden. Aus Erfahrung wissen wir, dass genormte Verfahren oft ohne eine kritische Überprüfung in die laufende Laborpraxis übernommen werden. Das kann sich rächen, geht es bei der Methode tatsächlich um Wahrheitsfindung und nicht nur um eine formale Konformitätsprüfung. Der Zeitpunkt der Freigabe einer Methode sollte aus deren Dokumentation klar ersichtlich sein. Die mit der Anwendung einer Methode betraute Person sollte den Laborleiter darauf aufmerksam machen, wenn bei deren Anwendung Bedingungen von jenen abweichen, die gemäß Dokumentation für ihre Charakterisierung maßgebend waren (definierter Anwendungsbereich).

Die Durchführung und die Ergebnisse der Charakterisierung einer Methode müssen ausreichend dokumentiert und anschließend archiviert werden, siehe Abschnitt 2.2.

1.8

Schlussbemerkungen

Die ISO-Definition aus dem Jahre 1994 und der nahezu wortgleiche Text der ISO 17025:2000 schafften Klarheit bezüglich des Begriffes Validierung. Es sind gute Definitionen: Der Analytiker bewahrt weiterhin seine Freiheit – jedenfalls laut Definition. Die Verwirrung, was Validierung sein sollte, dürfte somit spürbar nachlassen. Es geht jetzt in der Validierungspraxis um Inhalte, Durchführungsmodus und den Umgang mit Zahlen. Damit werden wir uns in den nächsten Kapiteln beschäftigen.

Abhängig von der konkreten Fragestellung aber auch von den aktuellen Möglichkeiten gibt es unterschiedliche Wege, eine Validierung durchzuführen.

Einen Ansatz stellen die vorgestellten Charakterisierungsmethoden dar. Deren Anwendungsbereich erstreckt sich über alle zu validierenden Verfahren. Diese

Methoden zeigen dem Labor einen Weg, wie es den Nachweis führen kann, dass eine bestimmte Methode für den vorgesehenen Verwendungszweck geeignet ist, bzw. ob es den Forderungen eines Auftraggebers entspricht.

Dem Fachbegutachter einer Akkreditierstelle können sie helfen, auf die Frage zu antworten, ob das Labor die Fähigkeit besitzt, geeignete Verfahren einzusetzen, d. h. solche, die geeignet sind, die vom Auftraggeber gestellten Aufgaben in angemessener Weise zu lösen.

In der Praxis könnte die Anwendung der einzelnen Charakterisierungsmethoden wie folgt aussehen:

- Die erste Charakterisierungsmethode ist für Konventionenmethoden geeignet. Hier ist die Untersuchung der Einflussparameter wichtig, es geht um Vergleichbarkeit von Ergebnissen.
- Kalibrierung ist eine hervorragende Möglichkeit (zweite Charakterisierungsmethode) wenn Normale, zertifizierte Referenzmaterialien oder sehr gut charakterisierte Standards vorhanden sind. Ergebnisvalidierung durch Vergleich ist sicher und schnell.

Ist eine der genannten Möglichkeiten nicht gegeben, und ist weiterhin das Wissen um Richtigkeit wichtig, kann man sich der dritten Charakterisierungsmethode bedienen, nämlich des Methodenvergleichs.

In der Praxis werden diese drei Methoden oft kombiniert: Kalibrierung mit Standards, gefolgt von der Untersuchung der spezifischen Einflussparameter auf das Ergebnis oder Prüfung auf Richtigkeit durch Methodenvergleich und parallele Untersuchung der Einflussparameter. Die dritte Charakterisierungsmethode sollte nur bei Mangel an Referenzsubstanzen eingesetzt werden.

- Die vierte Charakterisierungsmethode (Ringversuche) wird immer seltener zu Validierungszwecken von Methoden eingesetzt.
- Das Schätzen der Messunsicherheit, fünfte Charakterisierungsmethode, sollte in F+E-Bereichen künftig mehr eingesetzt werden. Tatsächlich erfreut sie sich einer wachsenden Beliebtheit.

Eine weitere Charakterisierungsmethode ist die Überprüfung der *Methodenstabilität*, d. h. die Verfolgung eines Ergebnisses/Wertes in Abhängigkeit von der Zeit mit Hilfe der statistischen Prozesskontrolle, SPC (s. Kapitel 27). Die unbestrittenen Erfolge der SPC in der Produktion verschaffte ihr Gehör auch in der Analytik. Ein erster Hinweis dafür: Neuerdings verlangen immer mehr FDA-Inspektoren den Beweis, dass die Prozesse in statistischer Kontrolle, ISK, sind [8]. Die Beweisführung, dass die zu untersuchende Methode einen ISK-Prozess darstellt, wird bereits als eigenständiger Punkt im Rahmen der Validierung angesehen [9]. Auch die in letzter Zeit häufige Verwendung von Termini wie „Matrixed Based Validation“, „Quality of Design“, „Tailor-made Validation“ usw. bestätigen folgenden Trend: Praxistauglichkeit von Methoden und ein pragmatischer zweckgebundener Ansatz weichen immer mehr formalen, „sauberen“, aber analytikfremden Anforderungen.

