

# **Die Eignung von Analysenverfahren**

**Ein Leitfaden für Laboratorien zur Verfahrensvalidierung und zu  
verwandten Themen**

**Zweite Ausgabe 2014 - Deutsche Übersetzung 2017**

## Die Eignung von Analysenverfahren

Ein Leitfaden für Laboratorien zur Verfahrensvalidierung und zu verwandten Themen

Zweite Ausgabe

---

### Würdigungen

Dieses Dokument wurde von Mitgliedern der Eurachem Working Group Method Validation und anderen für diese Aufgabe kooptierten Personen erarbeitet. Die an dieser Ausgabe Mitwirkenden sind unten aufgeführt.

### Projektgruppe

Vicki Barwick	LGC (UK)
Pedro P. Morillas Bravo	Canal de Isabel II Gestión (ES)
Stephen L. R. Ellison	LGC (UK)
Joakim Engman	National Food Agency (SE)
Elin L. F. Gjengedal	Norwegian University of Life Sciences (NO)
Ulla Oxenbøll Lund	Eurofins Miljø A/S (DK)
Bertil Magnusson (editor)	SP Technical Research Institute of Sweden (SE)
Hans-Thomas Müller	Mersin (TR)
Marina Patriarca	Istituto Superiore di Sanità (IT)
Barbara Pohl	Merck KGaA (DE)
Piotr Robouch	European Commission (EU)
Lorens P. Sibbesen (chairman)	Labquality International (DK)
Elvar Theodorsson	University Hospital in Linköping (SE)
Florent Vanstapel	University Hospital Leuven, Leuven (BE)
Isabelle Vercurysse	BELAB (BE)
Aysun Yilmaz	Cevre Food and Industrial Analysis Laboratory (TR)
Perihan Yolci Ömeroglu	Okan University (TR)
Ulf Örnemark (editor)	Emendo Dokumentgranskning (SE)

### Copyright ©

Das Urheberrecht für dieses Dokument liegt bei den mitwirkenden Autoren. Alle Anfragen zur Wiedergabe und Reproduktion in jedem Medium, einschließlich Übersetzungen, sollten direkt an das Sekretariat von Eurachem gerichtet werden. Der Text darf zwecks Weiterverkaufs nicht kopiert werden.

### Deutsche Übersetzung

Die Übersetzung ins Deutsche erfolgte durch Dr. G. Dudek, BAM, S. Stobbe, BAM unter Mitwirkung von Dr. M. Koch, Universität Stuttgart, im Auftrag von Eurolab-D.

### Zitierempfehlung

Diese Publikation sollte wie folgt zitiert werden\*: "B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2<sup>nd</sup> ed. 2014).

ISBN 978-91-87461-59-0. Bezug über [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)."

\* Vorbehaltlich der Anforderungen von Zeitschriften



## Inhalt

<i>Vorwort zur zweiten Ausgabe</i>	<i>1</i>
<i>Vorwort zur ersten Ausgabe</i>	<i>2</i>
<i>Abkürzungen und Symbole</i>	<i>3</i>
<b>1 Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Grundgedanken dieses Leitfadens und Anwendungsbereich</b>	<b>5</b>
<b>1.2 Hinweise zur Verwendung dieses Leitfadens</b>	<b>6</b>
1.2.1 Terminologie	6
1.2.2 Kurzanleitungen	6
<b>2 Was ist Verfahrensvalidierung</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Definitionen</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Was ist der Unterschied zwischen Validierung und Verifizierung?</b>	<b>7</b>
<b>3 Warum ist Verfahrensvalidierung erforderlich?</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Bedeutung analytischer Messungen</b>	<b>9</b>
<b>3.2 Die berufliche Sorgfaltspflicht des analytischen Chemikers</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Verfahrensentwicklung</b>	<b>10</b>
<b>4 Wann sollten Verfahren validiert oder verifiziert werden?</b>	<b>11</b>
<b>4.1 Verfahrensvalidierung</b>	<b>11</b>
<b>4.2 Verfahrensverifizierung</b>	<b>11</b>
<b>5 Wie sollten Verfahren validiert werden?</b>	<b>12</b>
<b>5.1 Wer führt die Verfahrensvalidierung durch?</b>	<b>12</b>
5.1.1 Ansätze zur Verfahrensvalidierung	12
5.1.2 Ringversuchs-Ansatz	12
5.1.3 Einzellabor-Ansatz	12
<b>5.2 Umfang von Validierungsstudien</b>	<b>12</b>
<b>5.3 Validierungsplan und Validierungsbericht</b>	<b>13</b>
<b>5.4 Validierungstechniken</b>	<b>14</b>
5.4.1 Blindproben/Leerproben	14
5.4.2 Routinekontrollproben	14
5.4.3 Aufgestockte Materialien/Lösungen	14
5.4.4 Künstlich angereicherte Materialien/Lösungen	14
5.4.5 Messnormale	15
5.4.6 Statistik	15
<b>5.5 Validierungsanforderungen</b>	<b>15</b>
<b>5.6 Prozess der Verfahrensvalidierung</b>	<b>16</b>
<b>6 Leistungsmerkmale des Verfahrens</b>	<b>19</b>
<b>6.1 Selektivität</b>	<b>19</b>
6.1.1 Begriffe und Definitionen	19
6.1.2 Der Einfluss von Störungen	19
6.1.3 Bewertung der Selektivität	19

<b>6.2</b>	<b>Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze</b>	<b>20</b>
6.2.1	Begriffe und Definitionen	20
6.2.2	Ermitteln der Standardabweichung bei niedrigen Gehalten	21
6.2.3	Schätzen der Nachweisgrenze	25
6.2.4	Schätzen der Bestimmungsgrenze	25
6.2.5	Alternative Verfahren	26
6.2.6	Nachweisfähigkeit für qualitative Analysen	27
<b>6.3</b>	<b>Arbeitsbereich</b>	<b>28</b>
6.3.1	Definition	28
6.3.2	Überlegungen zur Validierungsstudie	28
6.3.3	Arbeitsbereich von Verfahren und Geräten	28
6.3.4	Bewerten des Arbeitsbereichs von Geräten	28
6.3.5	Bewerten des Arbeitsbereichs von Verfahren	29
<b>6.4</b>	<b>Analytische Empfindlichkeit</b>	<b>31</b>
6.4.1	Definition	31
6.4.2	Anwendungen	31
<b>6.5</b>	<b>Richtigkeit</b>	<b>31</b>
6.5.1	Terminologie zur Beschreibung der Qualität von Messungen	31
6.5.2	Bestimmung des Bias	32
6.5.3	Interpretation von Bias-Messungen	35
<b>6.6</b>	<b>Präzision</b>	<b>36</b>
6.6.1	Wiederholung	36
6.6.2	Präzisionsbedingungen	36
6.6.3	Präzisionsgrenzen	37
6.6.4	Gleichzeitige Bestimmung der Wiederholpräzision und der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen)	37
<b>6.7</b>	<b>Messunsicherheit</b>	<b>39</b>
<b>6.8</b>	<b>Robustheit</b>	<b>39</b>
6.8.1	Definition	39
6.8.2	Robustheitstest	39
<b>7</b>	<b><i>Einsatz validierter Verfahren</i></b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b><i>Verwendung von Validierungsdaten zur Gestaltung der Qualitätskontrolle</i></b>	<b>43</b>
8.1	<b>Einführung</b>	<b>43</b>
8.2	<b>Interne Qualitätskontrolle</b>	<b>43</b>
8.3	<b>Externe Qualitätskontrolle</b>	<b>44</b>
<b>9</b>	<b><i>Dokumentation validierter Verfahren</i></b>	<b>46</b>
9.1	<b>Vom Entwurf bis zur endgültigen Version</b>	<b>46</b>
9.2	<b>Empfehlungen</b>	<b>46</b>
9.2.1	Prüfen der Anweisungen	46
9.2.2	Empfehlungen in Normen	46
9.2.3	Dokumentenlenkung	46
<b>10</b>	<b><i>Auswirkungen von Validierungsdaten auf die Berechnung und Angabe von Ergebnissen</i></b>	<b>48</b>
<b>Anhang A – Protokoll zur Verfahrensdokumentation</b>		<b>49</b>
<b>Anhang B – Statistische Grundlage für Berechnungen der Nachweisgrenze</b>		<b>53</b>
<b>Anhang C – Varianzanalyse (ANOVA)</b>		<b>54</b>
<b>Anhang D – Hinweise zur qualitativen Analyse</b>		<b>56</b>
<b>Quellennachweis</b>		<b>59</b>

## Vorwort zur zweiten Ausgabe

Seit der ersten Ausgabe dieses Leitfadens im Jahre 1998 haben wichtige Entwicklungen im Hinblick auf die Qualität in der Analytik stattgefunden. Zunächst ist die Normenreihe der ISO 9000, die breite Anwendung als Grundlage für das Qualitätsmanagementsystem findet, überarbeitet worden. Ihre Philosophie ist integraler Bestandteil von Normen und Leitfäden zur Konformitätsbewertung, die die Kompetenzanforderungen an Laboratorien, Anbieter von Eignungsprüfungen (EP) und Hersteller von Referenzmaterialien (RM) untersetzen. In all diesen Dokumenten wird die Bedeutung der Verwendung validierter Verfahren hervorgehoben.

Zweitens sind mehrere allgemeine bzw. sektorspezifische Leitfäden zur Verfahrensvalidierung überarbeitet bzw. erarbeitet worden. Die EU-Gesetzgebung enthält in vielen Branchen verbindliche Anforderungen an analytische Messungen.

Drittens ist seitens der Analytiker viel Aufwand bei der Umsetzung des Unsicherheitsbegriffs betrieben worden. Z. B. in den *Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis* (2002) sagte IUPAC voraus, dass „...mit einer zunehmenden Verlässlichkeit der Messunsicherheit als ein Schlüsselindikator sowohl für die Zweckmäßigkeit als auch die Zuverlässigkeit von Ergebnissen die analytischen Chemiker in zunehmendem Maße die Validierung von Messungen zur Unterstützung der Messunsicherheitsabschätzung vornehmen werden, ...“. In den Folgejahren haben Akkreditierungsstellen Richtlinien und Leitfäden herausgegeben, die die Verwendung von Daten aus der Verfahrensvalidierung im Prozess zur Messunsicherheitsabschätzung klar anerkennen.

Darüber hinaus ist der *International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)* unter Berücksichtigung chemischer und biologischer Messungen grundlegend überarbeitet worden. Obwohl die Terminologie zur Verfahrensvalidierung noch längst nicht harmonisiert ist, hat die Situation sich verbessert. VIM ist auch ein normatives Dokument für Laboratorien, die z. B. nach ISO/IEC 17025 und ISO 15189 akkreditiert sind.

Ziel der zweiten Ausgabe dieses Leitfadens ist es, Veränderungen in den internationalen Normen und Leitfäden widerzuspiegeln und weniger Wert auf Begriffe und Definitionen zu legen. Stattdessen nimmt der Leitfaden Bezug auf den VIM und andere zur Verfügung stehende Quellen. In Konsequenz dessen sind Begriffe und Definitionen im Anhang nicht mehr aufgeführt worden. Die in dieser Ausgabe des Leitfadens zitierte Literatur ist im Quellenverzeichnis am Ende der Publikation aufgelistet. Weitere Quellen und Literaturangaben zur Entwicklung und Validierung von Verfahren findet man als ‚Reading List‘ (Literaturliste) unter dem Menüpunkt ‚Publications‘ (Veröffentlichungen) auf der Webseite von Eurachem unter [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org). Als Folge von Änderungen an ISO 78-2 wird Anhang A überarbeitet. Diese Ausgabe wurde ebenfalls erweitert, um Informationen über statistische Grundlagen zur Berechnung von Nachweisgrenzen (Anhang B), zur Varianzanalyse (Anhang C) und zur qualitativen Analyse (Anhang D) bereitzustellen.

Bei Routinelaboratorien, insbesondere im klinischen Bereich, wird es zunehmend üblich, kommerziell verfügbare Messsysteme zu verwenden. Dies bedeutet, dass die Verantwortung für die Validierung hauptsächlich beim Hersteller liegt. Die Arbeiten des Laboratoriums werden sich auf die Verifizierung der vom Hersteller publizierten Leistungsdaten konzentrieren und nachweisen, dass das Verfahren in den Räumlichkeiten des Endverbrauchers (Anwenders) funktioniert.

Rückblickend auf das Vorwort zur ersten Ausgabe lässt sich schlussfolgern, dass die dort aufgeführten sechs Grundsätze immer noch Geltung haben und im Einklang mit den Anforderungen internationaler Normen, wie z. B. ISO/IEC 17025, stehen.

**Hinweis zur deutschen Übersetzung:** In der deutschen Fassung wurde das englische „method“ konsequent mit „Verfahren“ übersetzt, da auch die deutsche Fassung der ISO/IEC 17025 die Validierung von „Prüfverfahren“ verlangt. Dies ist auch in Übereinstimmung mit der Definition im Internationalen Wörterbuch der Metrologie, wo auch die Validierung von „Messverfahren“ erwähnt wird.

## Vorwort zur ersten Ausgabe\*

Eine Initiative in Großbritannien zur Förderung der guten Praxis bei analytischen Messungen hat sechs Grundsätze in der analytischen Praxis identifiziert, die – zusammengefasst –, als Best Practice angesehen werden. Die sechs Grundsätze, die ausführlich in einem separaten Leitfaden<sup>†</sup> beschrieben werden, sind folgende:

1. “Analytische Messungen sollten vorgenommen werden, um eine vereinbarte Anforderung zu erfüllen.” (d. h. ein definiertes Ziel).
2. “Analytische Messungen sollten unter Verwendung von Verfahren und Ausrüstungen vorgenommen werden, die geprüft wurden, um zu gewährleisten, dass sie für den beabsichtigten Zweck geeignet sind.”
3. “Mitarbeiter, die die analytischen Messungen vornehmen, sollten sowohl qualifiziert als auch kompetent sein, diese Aufgabe auszuführen.” (und nachweisen, dass sie die Analyse richtig durchführen können).
4. “Die technische Leistungsfähigkeit eines Laboratoriums sollte regelmäßig unabhängig bewertet werden.”
5. “Analytische Messungen, die an einem Ort vorgenommen werden, sollten mit denen, die an einem anderen Ort durchgeführt werden, übereinstimmen.”
6. “Organisationen, die analytische Messungen vornehmen, sollten genau definierte Verfahren zur Qualitätskontrolle und Qualitätssicherung haben.”

Diese Grundsätze gelten in gleichem Maße für Laboratorien, die isoliert arbeiten oder die Ergebnisse erzeugen, die mit denen anderer Laboratorien verglichen werden müssen.

Dieses Dokument beabsichtigt, Laboratorien bei der Umsetzung von Grundsatz 2 zu unterstützen, indem es Anleitungen zur Überprüfung von Prüfverfahren bereitstellt, um nachzuweisen, dass diese für ihren Zweck geeignet sind.

---

\* Die erste Ausgabe (1998) dieses Leitfadens wurde aus einem ursprünglich von LGC erarbeiteten Entwurf heraus von einer Eurachem Arbeitsgruppe entwickelt. Die folgenden Personen waren zu dem damaligen Zeitpunkt Mitglied der Eurachem Arbeitsgruppe:

D. Holcombe, P. De Bièvre, D. Böttger, C. Eastwood, J. Hlavay, M. Holmgren, W. Horwitz, M. Lauwaars, B. Lundgren, L. Massart, J. Miller, J. Morkowski, B. te Nijenhuis, B. Nyeland, R. Philipp, P. Radvila, J. Smeyers-Verbeke, R. Stephany, M. Suchanek, C. Vandervorst, H. Verplaetse, H. Wallien, M. Walsh, W. Wegscheider, D. Westwood, H. J. van de Wiel.

<sup>†</sup> The manager’s guide to VAM, UK Department of Trade and Industry, Valid Analytical Measurement Programme. Veröffentlicht als VAM Principles M. Sargent. Anal. Proc., 1995, 32, 201-202.

## Abkürzungen und Symbole

Die folgenden Abkürzungen, Akronyme und Symbole kommen in diesem Leitfaden vor.

AMC	Analytical Methods Committee
ANOVA	Analysis of variance ( <i>Varianzanalyse</i> )
AOAC International	a globally recognized standards developing organization
ASTM International	a globally recognized standards developing organization
BIPM	International Bureau of Weights and Measures
CCQM	Consultative Committee for Amount of Substance – Metrology in Chemistry
CEN	European Committee for Standardization
CITAC	Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CRM	certified reference material ( <i>zertifiziertes Referenzmaterial</i> )
EA	European co-operation for Accreditation
EC	European Commission
EPA	Environmental Protection Agency
EQA	external quality assessment ( <i>externe Qualitätsbewertung</i> )
EU	European Union
GUM	Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
IEC	International Electrotechnical Commission
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
JCGM	Joint Committee for Guides in Metrology
LOD	limit of detection ( <i>Nachweisgrenze - NWG</i> )
LOQ	limit of quantification ( <i>Bestimmungsgrenze - BG</i> )
NATA	National Association of Testing Authorities
QA	quality assurance ( <i>Qualitätssicherung</i> )
QC	quality control ( <i>Qualitätskontrolle</i> )
RSC	Royal Society of Chemistry
SANCO	European Commission's Directorate-General for Health and Consumers
SOP	standard operating procedure ( <i>Standardarbeitsanweisungen</i> )
PT	proficiency testing ( <i>Eignungsprüfung</i> )
RM	reference material ( <i>Referenzmaterial</i> )
RSD	relative standard deviation ( <i>relative Standardabweichung</i> )
UV/VIS	ultraviolet/visible ( <i>ultraviolett/sichtbar</i> )
VIM	International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms

$b$	absolute bias ( <i>absoluter Bias</i> )
$b(\%)$	relative bias in % ( <i>relativer Bias in %</i> )
$k_Q$	multiplier used in calculating limit of quantification ( <i>Multiplikator zur Berechnung der Bestimmungsgrenze</i> )
$m$	number of measurements ( <i>Anzahl der Messungen</i> )
$n$	number of replicate observations averaged when reporting results ( <i>Anzahl der gemittelten Wiederholungsbeobachtungen bei der Ergebnisberichterstattung</i> )
$n_b$	number of blank observations averaged when calculating the blank correction ( <i>Anzahl der gemittelten Blindwertmessungen bei der Berechnung der Blindwertkorrektur</i> )
$r$	repeatability limit ( <i>Wiederholgrenze</i> )
$R$	reproducibility limit ( <i>Vergleichgrenze</i> )
$R(\%)$	relative recovery (apparent recovery) in per cent ( <i>relative Wiederfindung (scheinbare Wiederfindung) in %</i> )
$R'(\%)$	relative spike recovery in per cent ( <i>relative Wiederfindung von Aufstockungen in %</i> )
$s$	standard deviation ( <i>Standardabweichung</i> )
$s_0$	estimated standard deviation of single results at or near zero concentration ( <i>geschätzte Standardabweichung einzelner Ergebnisse an oder nahe der Null-Konzentration</i> )
$s'_0$	standard deviation used for calculating an LOD or LOQ ( <i>Standardabweichung zur Berechnung einer NWG oder BG</i> )
$s_I$	intermediate precision standard deviation ( <i>Standardabweichung der Vergleichpräzision (unter Zwischenbedingungen)</i> ) <sup>1</sup>
$s_r$	repeatability standard deviation ( <i>Wiederholstandardabweichung</i> )
$s_R$	reproducibility standard deviation ( <i>Standardabweichung der erweiterten Vergleichpräzision (zwischen Laboratorien)</i> )
$u$	standard uncertainty ( <i>Standardunsicherheit</i> )
$\bar{x}$	mean value (arithmetic average) ( <i>Mittelwert / arithmetisches Mittel</i> )
$X_{ref}$	reference value ( <i>Referenzwert</i> )
$\bar{x}_{ref}$	mean value of measurements with an alternative method, e. g. a reference method ( <i>Mittelwert von Messungen mittels alternativem Verfahren, z. B. ein Referenzverfahren</i> )
$\bar{x}'$	mean value of spiked sample in a recovery experiment ( <i>Mittelwert einer aufgestockten Probe in einem Wiederfindungsexperiment</i> )
$X_{spike}$	added concentration in a recovery experiment ( <i>zugesetzte Konzentration in einem Wiederfindungsexperiment</i> )
—	

<sup>1</sup> Anm. d. Übers: In der offiziellen deutschen Übersetzung des Wörterbuchs der Metrologie wird der Begriff „Vergleichpräzision“ für die „intermediate precision“ verwendet. Da dies vom häufig verwendeten Begriff der „Präzision unter Zwischenbedingungen“ abweicht, wird dies im Interesse der Klarheit in diesem Leitfadens stets zusätzlich genannt.

## 1 Einleitung

### 1.1 Grundgedanken dieses Leitfadens und Anwendungsbereich

Verfahrensvalidierung ist in der Praxis der chemischen Analytik eine wichtige Voraussetzung. Die meisten analytischen Chemiker sind sich der Bedeutung der Verfahrensvalidierung bewusst; allerdings ist ihnen nicht immer klar, warum und wann die Verfahrensvalidierung erfolgen sollte und was genau zu tun ist. Einige Analytiker pflegten die Verfahrensvalidierung als etwas zu sehen, das nur in Zusammenarbeit mit anderen Laboratorien durchgeführt werden kann und verzichteten aus diesem Grund darauf. Anforderungen in Normen wie z. B. ISO/IEC 17025 [1], ISO 15189 [2] und ISO 15195 [3] haben bei der Klärung dieser Frage geholfen. Zum Beispiel wird in Abschnitt 5.4.2 von ISO/IEC 17025 die Notwendigkeit betont nachzuweisen, dass Verfahren für einen bestimmten Zweck geeignet sind:

*“Das Laboratorium muss Prüf- und/oder Kalibrierverfahren einschließlich Probenahmeverfahren verwenden, die die Erfordernisse des Kunden erfüllen und die für die durchzuführenden Prüfungen und/oder Kalibrierungen zweckmäßig sind...” und weiter: “Wenn der Kunde das anzuwendende Verfahren nicht vorschreibt, muss das Laboratorium zweckmäßige Verfahren auswählen...”.*

Ziel dieses Leitfadens ist es, Probleme im Zusammenhang mit der Verfahrensvalidierung zu diskutieren und dem Leser besser verständlich zu machen, worum es geht, warum Verfahrensvalidierung wichtig ist sowie eine Vorstellung davon zu geben, wie dies erreicht werden kann.

Der Leitfaden ist in erster Linie gedacht für: a) Laborleiter, die verantwortlich sind sicherzustellen, dass die Verfahren unter ihrer Aufsicht ausreichend validiert sind und b) Analytiker, die für die Planung und Durchführung von Studien zur Verfahrensvalidierung verantwortlich sind. Für anderes Personal könnte der Leitfaden als Hintergrundinformation hilfreich sein, z. B. für leitende Angestellte unter Managementgesichtspunkten und für Nachwuchskräfte unter technischen oder Ausbildungsgesichtspunkten.

Der Leitfaden konzentriert sich auf die Validierung in einzelnen Laboratorien. Ziel ist es, den Leser zu eingeführten Regelwerken, sofern diese existieren, hin zu führen, und, wo diese nicht existieren, eine einfache Einführung in Validierungsprozesse und

einige grundlegende Ansätze zu geben, die den Leser befähigen, seine eigenen Validierungsstrategien zu entwerfen. Der Leitfaden enthält Verweise auf weiteres Material zu bestimmten technischen Aspekten bei der Validierung.

Dieser Leitfaden ist auf die Validierung quantitativer Verfahren ausgerichtet. Jedoch sind einige der hier beschriebenen Grundsätze auch relevant für qualitative Verfahren zur Bestimmung des Vorhandenseins einer oder mehrerer Analyten, z. B. die Begriffe Selektivität und Nachweisgrenze.

Der Leitfaden legt keinen Schwerpunkt auf die Verwendung statistischer Verfahren, wenngleich es zweifellos denjenigen mit grundlegenden Kenntnissen in elementarer Statistik leichter fallen wird, den Prozess der Verfahrensvalidierung zu verstehen und umzusetzen. Auf mehrere Publikationen zu Grundlagen der Statistik für Chemiker wird verwiesen [4, 5, 6].

Das Verständnis der Verfahrensvalidierung durch Analytiker wird dadurch beeinträchtigt, dass sich viele der metrologischen und technischen Fachbegriffe, die zur Beschreibung der Prozesse zur Überprüfung von Verfahren verwendet werden, in den verschiedenen Bereichen der analytischen Messung unterscheiden, sowohl in deren Bedeutung als auch in der Art und Weise, wie sie festgelegt werden. Dieser Leitfaden kann nicht angeben, wo ein Begriff richtig oder falsch verwendet wird, obwohl er darauf ausgelegt ist, zur Klarstellung beizutragen. Es ist das Beste, bei der Verwendung eines Begriffes, der missverstanden werden kann, die Quelle und die verwendeten Konventionen anzugeben.

Der Prozess der Verfahrensvalidierung impliziert, dass die Studien zur Bestimmung der Leistungsmerkmale<sup>2</sup> des Verfahrens unter Verwendung von Geräten durchgeführt werden, die innerhalb der Spezifikationen liegen, ordnungsgemäß funktionieren und ausreichend kalibriert sind. Daher geht dieser Leitfaden nicht ausdrücklich auf die Begriffe ‚Ausrüstungsqualifizierung‘ bzw. ‚Gerätequalifizierung‘ ein. Auch muss der Analytiker, der die Studien durchführt, in dem von der Studie erfassten Bereich kompetent sein und über ausreichende Kenntnisse im Zusammenhang mit diesen Arbeiten verfügen, um die richtigen Entscheidungen aus den Beobachtungen im Zuge des Fortgangs der Studie zu treffen.

<sup>2</sup> Die am häufigsten verwendeten Synonyme für Leistungsmerkmale

des Verfahrens sind „Leistungsparameter des Verfahrens“, „messtechnische Merkmale/Eigenschaften“ und „Leistungsseigenschaften“

## 1.2 Hinweise zur Verwendung dieses Leitfadens

### 1.2.1 Terminologie

Um den Entwicklungen seit der ersten Veröffentlichung dieses Leitfadens vor fünfzehn Jahren Rechnung zu tragen, ist bei der Überarbeitung der Schwerpunkt auf die Aktualisierung der Terminologie und der Literaturhinweise gelegt worden. Im Hinblick auf die Terminologie sind wir, soweit möglich, der 3. Ausgabe des VIM, die erstmals in 2007 [7, 8] veröffentlicht wurde, gefolgt. Um besser den Begriffen, die in analytischen Laboratorien verwendet werden, gerecht zu werden, sind diese, soweit erforderlich, durch Terminologie aus ISO/IEC 17025:2005 [1], anderen ISO-Dokumenten [9, 10, 11] und aus IUPAC Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation aus 2002 ergänzt worden.

Wenn mehrere ähnliche Begriffe zum Einsatz kommen, kann es in einigen Fällen schwierig sein zu entscheiden, welcher Begriff zu verwenden ist. Der Klarheit wegen wurde darauf Wert gelegt, im gesamten Leitfaden konsistent einen Begriff zu verwenden. Ein Beispiel dafür ist der Begriff, der verwendet wird, um das Dokument zu beschreiben, das detaillierte Erläuterungen des zu validierenden Verfahrens enthält, unter Verwendung von Personal und Ausrüstungen in einem bestimmten Laboratorium. In Bezug auf die quantitative Analyse bezieht sich der VIM auf den Begriff *Messverfahren*, ISO/IEC 17025 auf *Prüfverfahren*, ISO 15189 [2] auf *Untersuchungsverfahren* und viele Laboratorien auf ihr *Standardarbeitsverfahren (SOP)*. *Anm. des Übersetzers: An dieser Stelle wird in der englischen Fassung begründet, warum, basierend auf der Terminologie der ISO/IEC 17025 in diesem Guide der Begriff „method validation“ verwendet wird. Da die deutsche DIN EN ISO/IEC 17025 stattdessen den Begriff „Prüfverfahren“ benutzt, wird auch in der deutschen Fassung dieses Guide durchgängig der Begriff „Verfahrensvalidierung“ verwendet. Dies ist auch im Einklang mit der deutschen Übersetzung des VIM.*

Der Begriff ‚Selektivität‘ wird dem Begriff der ‚Spezifität‘ [13] vorgezogen, da ersterer von IUPAC [12] verwendet wird.

Zur Beschreibung der Arbeiten in einem Laboratorium werden verschiedene Begriffe verwendet,

z. B. ‚Kalibrierung‘, ‚Messung‘, ‚Prüfung‘, ‚Analyse‘ und ‚Untersuchung‘. Dieser Leitfaden verwendet ‚Analyse‘ im allgemeinen Sinne und spezifiziert, falls erforderlich, die Umstände. In ähnlicher Weise bezieht sich dieser Leitfaden oft auf eine gemessene Konzentration, obwohl mehrere andere Größen im chemischen Laboratorium [14] regelmäßig untersucht werden.

Bei den Verfahren zur Probenahme, Probenvorbereitung und -analyse können Begriffe wie ‚Gegenstand der Probenahme‘, ‚Primärprobe (Ausgangsprobe)‘, ‚Inkrement‘, ‚Compositprobe‘ (Mischprobe), ‚Teilprobe‘, ‚Laborprobe‘, ‚Prüfprobe‘, ‚Prüfmenge‘ und ‚Probenlösung‘ verwendet werden [15, 16]. In diesem Leitfaden nutzen wir üblicherweise den Begriff ‚Probe‘ oder ‚Prüfprobe‘ [17].<sup>3</sup> Die wichtigsten Begriffe, die in diesem Leitfaden verwendet werden, sind im Text definiert. Wo immer möglich, sind Definitionen aus dem VIM, der ISO 9000 [9] und aus IUPAC [17, 18] verwendet worden. Diejenigen Begriffe aus dem VIM, die sich auf die analytische Chemie beziehen, sind näher im EURACHEM Guide „Terminologie in Analytical Measurement / Terminologie bei analytischen Messungen“ [8] erläutert. Die Nutzer seien darauf hingewiesen, dass es für einige Begriffe, die in der Verfahrensvalidierung verwendet werden, noch keine Einigung für eine Definition gibt.

### 1.2.2 Kurzanleitungen

In Abschnitt 6 geben grau schattierte Kästchen in einer ‚Kurzanleitung‘ Empfehlungen im Zusammenhang mit den spezifischen Leistungsmerkmalen eines Verfahrens. Es ist jedoch bekannt, dass Laboratorien in vielen Fällen nicht über die Zeit und die Ressourcen verfügen, um Experimente so detailliert durchzuführen, wie es hier beschrieben wird. Wenn die in den Kästchen beschriebenen Vorgänge mit weniger Wiederholungen als vorgeschlagen durchgeführt werden, werden immer noch nützliche Informationen gewonnen, und dies ist auf jeden Fall besser als überhaupt nichts zu tun. Allerdings werden die bereitgestellten Angaben weniger zuverlässig sein, als wenn eine vollständige Wiederholung durchgeführt worden wäre.

<sup>3</sup> Prüfprobe: Probe, die aus der Laborprobe vorbereitet wird, aus welcher Teilproben für die Prüfung bzw. Analyse entnommen werden.

## 2 Was ist Verfahrensvalidierung?

### 2.1 Definitionen

Definitionen des Begriffs *Validierung* aus drei internationalen Dokumenten sind in Tabelle 1 dargestellt. *Verfahrensvalidierung* ist im Grunde genommen der Prozess der Definition einer analytischen Anforderung und die Bestätigung, dass das betrachtete Verfahren Fähigkeiten besitzt, die die Anwendung fordert. Damit einher geht die Notwendigkeit, die Leistungsfähigkeit des Verfahrens zu bewerten. Die Beurteilung der Eignung des Verfahrens ist wichtig; in der Vergangenheit konzentrierte sich die Verfahrensvalidierung tendenziell nur auf die Bewertung der Leistungsmerkmale.

Die Verfahrensvalidierung wird gewöhnlich als sehr eng verbunden mit der Verfahrensentwicklung angesehen. Viele Leistungsmerkmale des Verfahrens (Tabelle 2), die mit der Verfahrensvalidierung im Zusammenhang stehen, werden in der Regel im Rahmen der Verfahrensentwicklung, zumindest annähernd, überprüft. Es ist jedoch anzumerken, dass die endgültige Version des Verfahrens (das dokumentierte Verfahren) formal validiert werden sollte.

Einige Bereiche verwenden die Begriffe 'Primärvalidierung' und 'Sekundärvalidierung', letztere im Sinne der Verifizierung [19]. Die Begriffe 'Qualifizierung' und 'Bestätigung im metrologischen Sinne' [20] scheinen auch die Verifizierung (Tabelle 1) mit abzudecken.

### 2.2 Was ist der Unterschied zwischen Validierung und Verifizierung?

ISO 9000 [9] definiert Verifizierung als "Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass festgelegte Anforderungen erfüllt worden sind". Dies ähnelt stark der Definition des Begriffes Validierung in Tabelle 1. Im VIM [7] heißt es, dass Verifizierung die "Erbringung eines objektiven Nachweises ist, dass eine Betrachtungseinheit die spezifischen Anforderungen erfüllt" und dass Validierung eine "Verifizierung ist, wobei die spezifizierten Anforderungen für den beabsichtigten Zweck angemessen sind".

Ein Laboratorium kann ein validiertes Verfahren einsetzen, das z. B. als Norm veröffentlicht wurde, oder ein komplettes Messsystem, das für eine bestimmte Anwendung eingesetzt wird, von einem kommerziellen Hersteller käuflich erwerben. In beiden Fällen sind bereits grundlegende Validierungsarbeiten durchgeführt worden; das Laboratorium muss allerdings noch seine Fähigkeit, das Verfahren anzuwenden, nachweisen. Dies ist die **Verifizierung**. Es bedeutet, dass durch experimentelle Arbeit nachgewiesen werden muss, dass das Verfahren im Laboratorium des Endnutzers funktioniert. Allerdings ist die Arbeitsbelastung wahrscheinlich deutlich geringer im Vergleich zur Validierung eines hausintern entwickelten Verfahrens.

Die Begriffe Validierung und Verifizierung werden weiter im *Eurachem Guide zur Terminologie bei analytischen Messungen* erläutert [8].

**Tabelle 1 – Definitionen des Begriffes 'Validierung' in ISO 9000, ISO/IEC 17025 und VIM**

Definition	Bezug
Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass festgelegte Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Zweck oder eine Anwendung erfüllt worden sind	ISO 9000 [9] <sup>a</sup>
Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden	ISO/IEC 17025 [1]
Verifizierung, dass die spezifizierten Anforderungen für den beabsichtigten Zweck geeignet sind	VIM [7] <sup>b</sup>
<sup>a</sup> ISO 9000 definiert 'Qualifizierungsprozess' als "Prozess zum Nachweis der Eignung zur Erfüllung festgelegter Anforderungen". <sup>b</sup> VIM definiert 'Verifizierung' als Erbringung eines objektiven Nachweises, dass eine Betrachtungseinheit die spezifischen Anforderungen erfüllt"	

**Tabelle 2 – Überblick über Leistungsmerkmale, die im Allgemeinen während der Verfahrensvalidierung bewertet werden**

<b>Leistungsmerkmal</b>
Selektivität
Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze
Arbeitsbereich
Analytische Empfindlichkeit
Richtigkeit <ul style="list-style-type: none"><li>• Bias, Wiederfindung</li></ul>
Präzision <ul style="list-style-type: none"><li>• Wiederholpräzision, Vergleichpräzision und erweiterte Vergleichpräzision</li></ul>
Messunsicherheit <sup>a</sup>
Robustheit
<sup>a</sup> Genau genommen ist Messunsicherheit kein Leistungsmerkmal eines bestimmten Messverfahrens, sondern eine Eigenschaft der Ergebnisse, die bei der Verwendung des Messverfahrens erhalten wurden.

### 3 Warum ist Verfahrensvalidierung erforderlich?

#### 3.1 Bedeutung analytischer Messungen

Millionen von Prüfungen, Messungen und Untersuchungen erfolgen täglich in Tausenden von Laboratorien auf der ganzen Welt. Es gibt unzählige Gründe, die dem zugrunde liegen, zum Beispiel: als eine Möglichkeit, Waren für Handelszwecke zu bewerten; zur Unterstützung von Gesundheitsleistungen; zur Überprüfung der Qualität von Trinkwasser, Lebensmitteln und Futtermitteln; zum Analysieren der elementaren Zusammensetzung einer Legierung, um deren Eignung zur Verwendung im Flugzeugbau zu bestätigen; zur forensischen Analyse von Körperflüssigkeiten bei strafrechtlichen Ermittlungen. Nahezu jeder Aspekt in der Gesellschaft wird in irgendeiner Weise durch analytische Arbeit unterstützt.

Die Kosten zur Durchführung der Messungen sind hoch und zusätzliche Kosten können durch Entscheidungen entstehen, die basierend auf den Ergebnissen getroffen wurden. Zum Beispiel können Prüfungen, die nachweisen, dass Lebensmittel zum Verzehr ungeeignet sind, Schadenersatzansprüche zur Folge haben; Prüfungen, die das Vorhandensein verbotener Drogen bestätigen, könnten Geldstrafen, Gefängnis oder in einigen Ländern sogar eine Hinrichtung zur Folge haben. Selbstverständlich ist es wichtig, eine korrekte Messung durchzuführen und nachweisen zu können, dass das Ergebnis korrekt ist.

#### 3.2 Die berufliche Sorgfaltspflicht des analytischen Chemikers

Wenn man dem Ergebnis einer Analyse nicht trauen kann, dann hat dieses wenig Wert und die Analyse hätte genauso gut nicht durchgeführt werden müssen. Wenn Kunden ein Laboratorium mit analytischer Arbeit beauftragen, wird davon ausgegangen, dass das Laboratorium über einen Grad an Fachwissen verfügt, welches die Kunden selbst nicht haben. Der Kunde erwartet, berichteten Ergebnissen vertrauen zu können und hinterfragt diese gewöhnlich nur, wenn es zum Streit kommt. So tragen das Laboratorium und dessen Mitarbeiter eine offensichtliche Verantwortung dafür, das Vertrauen des Kunden durch das Geben der richtigen Antwort auf den analytischen Teil des Problems zu rechtfertigen, mit anderen Worten: durch Ergebnisse, die nachweisbar 'für den vorgesehenen Zweck geeignet' sind.

Dies impliziert auch, dass die durchgeführten Prüfungen für den analytischen Teil des Problems, das der Kunde zu beheben wünscht, angemessen sind und dass der Abschlussbericht die analytischen Daten in einer Weise darlegt, dass der Kunde diese ohne Weiteres verstehen und entsprechende Schlussfolgerungen ziehen kann. Durch die Verfahrensvalidierung können Chemiker nachweisen, dass ein Verfahren für den Zweck 'geeignet' ist.

Damit ein Analysenergebnis zweckdienlich ist, muss es hinreichend zuverlässig sein, damit basierend darauf verlässliche Entscheidungen getroffen werden können. So muss die Leistungsfähigkeit des Verfahrens validiert und die Ergebnisunsicherheit bei einem gegebenen Vertrauensniveau geschätzt werden. Die Unsicherheit sollte so abgeschätzt und angegeben werden, dass sie allgemein anerkannt wird, in sich konsistent ist und leicht interpretiert werden kann [21]. Die meisten Informationen, die zur Abschätzung der Unsicherheit erforderlich sind, können während der Validierung des Verfahrens erhalten werden. Dieses Thema wird kurz in Abschnitt 6.7 und eingehender im Eurachem/CITAC Guide *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* [22] behandelt.

Unabhängig davon, wie gut ein Verfahren ist und wie gekonnt es eingesetzt wird, kann ein Analysenproblem durch die Analyse von Proben nur gelöst werden, wenn diese Proben für das Problem geeignet sind. Geeignete Proben zu nehmen ist eine qualifizierte Tätigkeit, die ein Verständnis des Problems und der damit verbundenen Chemie erfordert. Ein Laboratorium sollte, wo immer möglich, als Teil seiner Kundenbetreuung dem Kunden Beratung über die Entnahme von Proben anbieten. Es wird immer Fälle geben, in denen das Laboratorium die Proben nicht selbst entnehmen oder diesen Vorgang nicht beeinflussen kann. In diesen Fällen muss über die Ergebnisse der Analyse ein Bericht angefertigt werden, und zwar auf der Grundlage der Proben, wie diese erhalten wurden; und der Bericht sollte diesen Unterschied deutlich ausweisen.

Wir haben uns zumeist (und zu Recht) auf das übergeordnete Ziel der Durchführung der Verfahrensvalidierung konzentriert, d. h. nachzuweisen, dass Verfahren 'geeignet' sind. Es sollte jedoch klar sein, dass eine Studie zur Verfahrensvalidierung dem Laboratorium, das die Validierung vornimmt, zusätzliche Vorteile bringt.

Sie stellt solides Wissen und Erfahrungen zu praktischen Einzelheiten bei der Durchführung des Verfahrens bereit, einschließlich des Bewusstseins für kritische Prozessschritte. Die Validierung gibt dem Laboratorium und seinen Mitarbeitern größeres Vertrauen in ihre eigenen Ergebnisse.

### 3.3 Verfahrensentwicklung

Der Validierungstätigkeit geht eine Entwicklungsphase voraus, in der unterschiedliches Personal involviert sein kann und die eine Reihe von Formen annehmen kann.

In dem einen Extrem kann sie die Anpassung eines bestehenden Verfahrens durch geringfügige Änderungen umfassen, sodass sie für eine neue Anwendung geeignet ist. Zum Beispiel kann ein Verfahren zur Toluolbestimmung in Wasser durch Anpassung eines etablierten Verfahrens zur Benzolbestimmung in Wasser entwickelt werden. Die Matrix ist die gleiche und die beiden Analyten haben im Großen und Ganzen ähnliche Eigenschaften. Es ist wahrscheinlich, dass die gleichen Prinzipien der Isolierung, Identifizierung und Quantifizierung, die auf Benzol angewandt werden, auch auf Toluol angewandt werden können. Wenn andererseits ein Verfahren zur Bestimmung von Benzol im Boden benötigt wird, kann eine Anpassung des Verfahrens zur Bestimmung von Benzol in Wasser möglicherweise nicht

die beste Option sein. Die Anpassung eines anderen Verfahrens zur Bestimmung von organischen Materialien im Boden kann möglicherweise ein besserer Ausgangspunkt sein.

Im anderen Extrem kann der analytische Chemiker mit ein paar vagen Ideen beginnen und Fachkompetenz und Erfahrung anwenden, um ein geeignetes Verfahren zu entwickeln. Dies bedeutet natürlich auch sehr viel mehr Arbeit und eine gewisse Unsicherheit, ob das endgültige Verfahren erfolgreich sein wird. Bei der Entwicklung von Verfahren ist es nicht ungewöhnlich, eine Reihe verschiedener Ideen gleichzeitig einzubeziehen, bevor letztendlich ein „Gewinner“ ausgewählt wird.

Unabhängig davon, wieviel Mühe bei der Verfahrensentwicklung aufgewandt worden ist, gibt es keine Garantie, dass das Verfahren während der Validierung (oder unter Routinebedingungen in einem bestimmten Laboratorium) angemessen durchgeführt werden kann. Wenn verschiedene Mitarbeiter in die Entwicklungs- und Validierungsphase einbezogen sind, bietet dies die Möglichkeit zu prüfen, ob die Anweisungen (das Messverfahren) verstanden und umgesetzt werden können.

## 4 Wann sollten Verfahren validiert oder verifiziert werden?

### 4.1 Verfahrensvalidierung

Ein Verfahren sollte validiert werden, wenn die Notwendigkeit besteht nachzuweisen, dass seine Leistungsmerkmale bei Verwendung für einen bestimmten Zweck geeignet sind. Zum Beispiel wird in Abschnitt 5.4.5.2 von ISO/IEC 17025 [1] festgestellt, dass das Laboratorium Folgendes validieren muss:

- Nicht genormte Verfahren;
- im Laboratorium entwickelte Verfahren;
- Normverfahren, die außerhalb ihres beabsichtigten Anwendungsbereichs eingesetzt werden;
- Erweiterungen und Modifizierungen von Normverfahren.

Damit die Anforderungen in Verbindung mit einem bestimmten Verwendungszweck oder einer bestimmten Anwendung [23] erfüllt werden können, muss die Validierung so umfangreich wie möglich sein. Der Umfang der Validierung hängt von der Anwendung ab, von der Art der Änderungen, die vorgenommen wurden, und von den Umständen, unter denen das Verfahren eingesetzt werden soll.

Validierung ist auch notwendig, wenn es gilt, die Gleichwertigkeit von Ergebnissen, die durch zwei verschiedene Verfahren erhalten wurden, nachzuweisen, z. B. eines neu entwickelten Verfahrens und eines Norm- bzw. behördlich vorgeschriebenen Verfahrens.

### 4.2 Verfahrensverifizierung

Bei Normverfahren, wie z. B. solchen von ISO oder ASTM, ist eine Validierung durch das Laboratorium, das dieses Verfahren verwendet, nicht notwendig. Jedoch muss das Laboratorium die Leistungsfähigkeit des Verfahrens gemäß Abschnitt 5.4.2 von ISO/IEC 17025 verifizieren:

*...Das Laboratorium muss bestätigen, dass es Verfahren nach normativen Dokumenten richtig anwenden kann, bevor es diese für Prüfungen und Kalibrierungen einführt.*

Verifizierung ist auch bei wesentlichen Änderungen vorgeschrieben, wie z. B. bei einem neuen, aber ähnlichen Gerät, bei Verlagerung der Ausrüstung an einen anderen Platz usw.

In der Labormedizin wird die Mehrzahl der Messungen und Prüfungen mit handelsüblichen Verfahren durchgeführt, die bereits vom Hersteller validiert worden sind, aber vom Endnutzer verifiziert werden müssen [24]. ISO 15189 [2] betont, dass *Untersuchungsverfahren, die ohne Veränderung benutzt werden, vor der Einführung in den routinemäßigen Gebrauch einer Verifizierung zu unterziehen sind*. Hierzu zählt auch, wenn ein Gerät mit neuer Software aktualisiert wird oder wenn die Qualitätskontrolle anzeigt, dass sich die Leistungsfähigkeit eines etablierten Verfahrens mit der Zeit ändert.

## 5 Wie sollten Verfahren validiert werden?

### 5.1 Wer führt die Verfahrensvalidierung durch?

#### 5.1.1 Ansätze zur Verfahrensvalidierung

Nachdem die Entwicklungsphase des Verfahrens abgeschlossen ist, sollte das Laboratorium das Messverfahren detailliert dokumentieren (siehe Anhang A). Es ist dann dieses dokumentierte Verfahren, das der formalen Validierung unterzogen wird.

Bei der Verfahrensvalidierung gibt es zwei Hauptansätze; den Ringversuchs-Ansatz und den Einzellabor-Ansatz. Ungeachtet des Ansatzes ist es das Laboratorium, welches das Verfahren anwendet, das die Verantwortung trägt sicherzustellen, dass das Verfahren für die beabsichtigte Verwendung geeignet ist und, falls erforderlich, weitere Arbeiten zur Ergänzung der vorhandenen Validierungsdaten durchgeführt werden.

#### 5.1.2 Ringversuchs-Ansatz

Über Verfahrensvalidierung ist hinsichtlich Vergleichsversuchen zwischen Laboratorien, oft als 'Ringversuche' bezeichnet, viel publiziert worden. Es gibt eine Reihe von Regelwerken für diese Art von Validierung [25, 26, 27, 28] sowie die ISO 5725 Normen [29], die als die am breitesten anwendbaren gelten. Wenn ein Verfahren mit einer breiten Anwendung entwickelt wird, vielleicht als veröffentlichtes standardisiertes Verfahren, dann ist der Ringversuch unter Beteiligung einer Gruppe von Laboratorien wahrscheinlich die bevorzugte Art, eine Validierung durchzuführen. Ein veröffentlichtes Verfahren, das auf diese Art validiert wurde, ist nachweislich robust. Die veröffentlichten Informationen enthalten in der Regel Daten zur Präzision (Wiederholpräzision, erweiterte Vergleichpräzision und/oder die entsprechenden Präzisionsgrenzen) und manchmal auch Bias-Schätzungen. Wenn ein Verfahren von einer Organisation validiert worden ist, die Normen herausgibt, wie z. B. ISO, CEN oder AOAC International, muss der Nutzer in der Regel nur die veröffentlichten Leistungskenndaten verifizieren und/oder die Leistungskenngrößen zum Zwecke der eigenen Nutzung des Verfahrens festlegen. Daher wird durch diesen Ansatz die Arbeitsbelastung für das Laboratorium, das dieses Verfahren verwendet, vermindert.

#### 5.1.3 Einzellabor-Ansatz

Von Zeit zu Zeit werden Laboratorien feststellen, dass ein Verfahren benötigt wird, das nicht als veröffentlichte Norm verfügbar ist. Wird das Verfahren zur Verwendung in einem einzigen Laboratorium entwickelt, zum Beispiel, weil es kein allgemeines Interesse an dem Verfahren gibt oder weil andere Laboratorien Konkurrenten sind, dann ist der Einzellabor-Ansatz geeignet [12].

Ob Verfahren, die in einem einzigen Laboratorium validiert wurden, für regulatorische Zwecke akzeptabel sind, hängt von eventuellen Richtlinien ab, die das entsprechende Messgebiet betreffen. In der Regel sollte es möglich sein, von der zuständigen Aufsichtsbehörde dazu eine klare Grundsatz-erklärung zu erhalten.

### 5.2 Umfang von Validierungsstudien

Das Laboratorium hat zu entscheiden, welche Leistungsmerkmale (siehe Tabelle 2 und Abschnitt 6) für die Validierung des Verfahrens untersucht werden müssen und in einigen Fällen, wie eingehend die Untersuchung eines einzelnen Leistungsmerkmals sein sollte. Das IUPAC-Protokoll [12] listet eine Reihe von Situationen auf, die unter anderem den Status des Verfahrens und die Kompetenz des Laboratoriums berücksichtigen.

Dort wo der Umfang der analytischen Untersuchungen gut definiert ist und die Anwendungen über die Zeit ähnlich sind, kann ein Unternehmen oder eine Branche möglicherweise allgemeine Richtlinien für den Umfang der Validierungsstudien herausgeben. Tabelle 3 zeigt ein Beispiel aus der Pharmabranche.

Von einer wohlüberlegten analytischen Spezifikation im Anwendungsbereich eines dokumentierten Verfahrens (siehe A.5 in Anhang A) auszugehen, ist eine gute Basis für die Planung des Validierungsprozesses. Es muss aber zugestanden werden, dass dies in der Praxis nicht immer möglich ist. Die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des Verfahrens kann eingeschränkt sein. Dies wird in Abschnitt 5.4.5.3 von ISO/IEC 17025 wie folgt bestätigt: *Bei der Validierung sind immer die Kosten, Risiken und technischen Möglichkeiten abzuwägen.*

Das Laboratorium sollte im Rahmen von Einschränkungen immer sein Bestes geben, unter Berücksichtigung der Kunden- und regulatorischen Anforderungen, der bisherigen Erfahrungen mit dem Verfahren, der zur Verfügung stehenden Hilfsmittel (Abschnitt 5.4) und der Notwendigkeit der messtechnischen Kompatibilität [7] mit ähnlichen Verfahren, die im Laboratorium selbst oder in anderen Laboratorien verwendet werden.

Einige der Leistungsmerkmale sind möglicherweise während der Verfahrensentwicklung oder der Phase der Einführung des Verfahrens bestimmt worden. Oft liefert ein bestimmter Satz von Untersuchungen Informationen über verschiedene Leistungseigenschaften, sodass bei sorgfältiger Planung der Aufwand, die benötigten Informationen zu bekommen, minimiert werden kann.

**Tabelle 3 – Umfang der Validierungsarbeiten für vier Arten analytischer Anwendungen. Beispiel aus der Pharmabranche [13]. ‘x’ kennzeichnet ein Leistungsmerkmal, welches üblicherweise validiert wird.**

Leistungsmerkmal	Art der analytischen Anwendung			
	Identitätsprüfung	Quantitative Prüfung zum Nachweis von Verunreinigungen	Grenzwertprüfung für Verunreinigungen	Quantifizierung der Hauptkomponenten
Selektivität	x	x	x	x
Nachweisgrenze			x	
Bestimmungsgrenze		x		
Arbeitsbereich einschl. Linearität		x		x
Richtigkeit (Bias)		x		x
Präzision (Wiederholpräzision und Vergleichpräzision)		x		x
ANMERKUNG Die Tabelle ist vereinfacht und hinsichtlich der in diesem Leitfaden verwendeten Struktur und Terminologie angepasst worden.				

Die Auswirkungen der o. g. genannten Einschränkungen sind besonders kritisch, wenn das Verfahren nicht routinemäßig angewandt werden soll. Der Prozess zur Validierung von Verfahren, die routinemäßig eingesetzt werden sollen, ist vergleichsweise klar festgelegt. Eindeutig gelten für eine Ad-hoc-Analyse die gleichen Grundsätze wie für routinemäßige Prüfungen. Es ist erforderlich, ein angemessenes Maß an Vertrauen in die erzeugten Ergebnisse zu haben. Das Gleichgewicht herzustellen zwischen Zeit- und Kostendruck und der Notwendigkeit, das Verfahren zu validieren, ist schwierig. In einigen Fällen kann es sinnvoller sein, ein anderes Laboratorium mit den Analysen im Unterauftrag zu beauftragen, wo diese routinemäßig durchgeführt werden können.

### 5.3 Validierungsplan und Validierungsbericht

Die Validierungstätigkeiten und die Erstellung des Validierungsberichts müssen nach einem dokumentierten Verfahren erfolgen.

Die Gliederung eines Validierungsplans (‘Validierungsprotokoll’) und eines Validierungsberichts können in sektoralen Richtlinien festgelegt sein

(siehe Abschnitt 5.5). Nationale Akkreditierungsstellen können auf Mindestanforderungen an diese Dokumentation hinweisen [23]. Eine einfache Dokumentenvorlage für eine Kombination aus Validierungsplan und Validierungsbericht könnte z. B. die folgenden Abschnitte enthalten.

- **Titel:** Dieser Abschnitt sollte das Verfahren kennzeichnen sowie wann die Arbeiten durchgeführt werden und wer diese durchführt. Kurzinformationen zum Anwendungsbereich des Verfahrens und eine Kurzbeschreibung des Verfahrens sollten hier gegeben werden sowie Angaben zum Status des Verfahrens (z. B. eine internationale Norm, ein hausintern entwickeltes Verfahren etc.), zum Analyten, zur Messgröße, Maßeinheit, zu den Probearten und zum vorgesehenen Verwendungszweck. Probenahme und die Entnahme von Teilproben können Teil des Messverfahrens sein und müssen in solchen Fällen validiert werden. Selbst wenn diese Schritte an anderer Stelle durchgeführt werden, ist es sinnvoll, darüber Informationen in den Validierungsplan/Validierungsbericht aufzunehmen.

- **Planung:** In diesem Abschnitt sollte auf den Zweck eingegangen werden, z. B. vollständige Validierung eines neuen Verfahrens, Verifizierung der Leistungsfähigkeit eines Normverfahrens, Erweiterung des Anwendungsbereichs des Verfahrens, usw. Der Umfang der Validierungstätigkeiten sollte angegeben werden, d. h. die Leistungsmerkmale, die untersucht werden, und alle damit verbundenen Anforderungen.
- **Leistungsmerkmale:** Dieser Abschnitt sollte eine kurze Erläuterung des Leistungsmerkmals geben, etwaige spezifische Anforderungen wiederholen, die durchzuführenden Experimente aufführen und wie die Ergebnisse bewertet werden sollen. Ergebnisse und Schlussfolgerungen aus den Experimenten sollten angegeben werden. Jedem Leistungsmerkmal wird ein gesondertes Kapitel gewidmet.
- **Zusammenfassung:** Im letzten Abschnitt sollten die Validierungsarbeiten und die Ergebnisse zusammengefasst werden. Auswirkungen hinsichtlich des Routineeinsatzes sowie interne und externe Qualitätskontrolle können angeführt werden. Vor allem ist eine abschließende Aussage darüber zu treffen, ob das Verfahren für den beabsichtigten Zweck geeignet ist. Beachten Sie, dass dies eine Anforderung in der ISO/IEC 17025 [1] ist.

## 5.4 Validierungstechniken

### 5.4.1 Blindproben/Leerproben

Die Verwendung verschiedener Arten von Blindproben ermöglicht eine Bewertung darüber, wieviel von dem gemessenen Signal auf den Analyten zurückzuführen ist und wieviel auf andere Ursachen. Dem Analytiker stehen verschiedene Arten von Blindproben zur Verfügung:

- **Reagenzien-Blindproben**<sup>4</sup>: Reagenzien, die während des Analysenprozesses (einschließlich Lösungsmittel zur Extraktion oder Auflösung) verwendet werden, werden analysiert, um zu ermitteln, ob sie zum Messsignal beitragen.
- **Leerproben:** Dies sind im Wesentlichen Probenmatrices, ohne dass Analyten vorhanden sind, z. B. eine menschliche Urinprobe ohne eine bestimmte Droge oder eine Fleischprobe ohne Hormonrückstände. Es ist möglicherweise schwierig, Leerproben zu erhalten; aber solche Materialien sind notwendig, um Störungen, zu denen es bei der Analyse von Prüfproben kommen könnte, realistisch einzuschätzen.

### 5.4.2 Routinekontrollproben

Routinekontrollproben sind nützlich, weil sie Informationen über Präzision, Störungen usw. bereitstellen, die realistischerweise bei der täglichen Arbeit vorkommen können. Wenn der Analytgehalt der Kontrollprobe genau bekannt ist, kann er zur Beurteilung des Bias (der systematischen Abweichung) verwendet werden. Der genaue Analytgehalt kann unter Verwendung eines Referenzverfahrens ermittelt werden, wengleich solche Verfahren nicht immer verfügbar sind.

### 5.4.3 Aufgestockte Materialien/Lösungen

Hierbei handelt es sich um Materialien oder Lösungen, denen ein oder mehrere interessierende Analyte absichtlich hinzugefügt wurden. Diese Materialien oder Lösungen können bereits vorab den gewünschten Analyten enthalten. Deshalb ist sicherzustellen, dass das Aufstocken nicht zu Analysekonzentrationen außerhalb des Arbeitsbereichs des Verfahrens führt. Das Aufstocken mit einer bekannten Analytmenge erlaubt es, den Anstieg des mit dem Analyten verbundenen Messsignals zu messen und als zugefügte Menge zu berechnen, auch wenn der absolute Gehalt des Analyten vor und nach dem Aufstocken nicht bekannt ist. Man beachte, dass die meisten Aufstockverfahren den Analyten so zugeben, dass er nicht so stark an die Probenmatrix gebunden ist, wie wenn er natürlicherweise vorhanden wäre. Aus diesem Grund können durch das Aufstocken Bias-Schätzungen erwartet werden, die sich als zu optimistisch erweisen.

Das Aufstocken muss nicht notwendigerweise auf den interessierenden Analyten beschränkt werden. Es kann alles einschließen, was der Probe hinzugefügt wird, um die Wirkung des Zusatzes zu bestimmen. Zum Beispiel könnte die Probe mit unterschiedlichen Mengen einer bestimmten Störsubstanz aufgestockt werden, um die Konzentration der Störsubstanz zu bestimmen, ab der die Bestimmung des Analyten nachteilig beeinflusst wird. Die Eigenschaften des zugegebenen Materials müssen natürlich auch ermittelt werden.

### 5.4.4 Künstlich angereicherte Materialien

Dabei handelt es sich um Materialien, in denen der gewünschte Analyt eigentlich nicht vorkommt, aber in das Material einige Zeit, bevor eine Probe davon entnommen wurde, eingebracht wurde. So ist der Analyt enger an die Matrix gebunden, als wenn er durch Aufstocken hinzugefügt worden wäre.

<sup>4</sup> Eine Reagenzien-Blindprobe, die durch das gesamte Analysenverfahren läuft, wird manchmal 'Verfahrens-Blindprobe' genannt.

Der analysierte Wert hängt von der Menge des Analyten ab, die mit dem Material in Kontakt kam, von der Aufnahme- sowie dem Verlust durch die Matrix und von allen anderen Verlusten, hervorgerufen durch Metabolismus, spontanen Zerfall bzw. andere chemische oder physikalische Prozesse. Der Nutzen der behandelten Proben für Validierungszwecke hängt davon ab, wie gut der Gehalt des Analyten charakterisiert werden kann. Im Folgenden sind Beispiele künstlich angereicherter Materialien aufgeführt:

1. Herbizide in Mehl aus Getreide, das während des Wachstums mit Herbiziden besprüht wurde;
2. Wirkstoffe in pharmazeutischen Formulierungen, die während der Formulierungsphase zugegeben wurden.
3. Eiweißpulver (bekanntem Proteingehalt), das zwecks Prüfung allergener Stoffe einem Plätzchenteig vor dem Backen hinzugefügt wurde.

#### 5.4.5 Messnormale

Vorsicht ist bei der Verwendung des Begriffs ‚Standard‘ geboten, da dieser Begriff auch für schriftliche Dokumente, wie z. B. ISO Normen, verwendet werden kann (*Anm. d. Übers.: dies ist hauptsächlich in der englischen Sprache ein Problem*). Wenn sich der Begriff auf Substanzen bezieht, die Kalibrierungs- oder Identifizierungszwecken dienen, ist es günstig, auf diese als Messnormale oder Kalibrierproben [7] zu verweisen. Als solche gelten traditionell Lösungen von Einzelsubstanzen; in der Praxis können es aber alle möglichen Substanzen sein, sofern darin ein bestimmter Parameter oder eine bestimmte Eigenschaft in einem Maße bestimmt worden ist, dass sie als metrologische Referenz dienen können.

Aufgrund des signifikanten Unterschiedes bei der Verwendung im Prozess der Verfahrenvalidierung (6.5.2) ist es wichtig, zwischen Referenzmaterialien (RM) und zertifizierten Referenzmaterialien (ZRM) [7, 30] zu unterscheiden. RM kann nahezu jedes Material sein, das als Bezugsgröße verwendet wird. Dies könnte Laborreagenzien mit bekanntem Reinheitsgrad, Industriechemikalien oder andere Artefakte mit einbeziehen. Die interessierende Eigenschaft bzw. der interessierende Analyt muss

stabil und homogen sein; aber das Material braucht nicht das hohe Maß an Charakterisierung, messtechnischer Rückführung, Unsicherheit und Dokumentation, das man mit ZRM assoziiert.

Die Bestimmung des gewünschten Parameters in einem ZRM unterliegt in der Regel einer strengeren Kontrolle als bei einem RM. Außerdem wird der charakterisierte Wert mit einer dokumentierten messtechnischen Rückführung und Unsicherheit zertifiziert. Die Charakterisierung erfolgt üblicherweise unter Verwendung verschiedener Verfahren oder eines einzigen primären Messverfahrens, sodass jedes Bias bei der Charakterisierung soweit wie möglich reduziert oder sogar eliminiert wird.

Die Bewertung des Bias erfordert einen zuverlässigen Referenzwert, vorzugsweise ein ZRM mit der gleichen Matrix und den gleichen Analytkonzentrationen wie bei den Prüfproben.

#### 5.4.6 Statistik

Statistische Methoden sind für die Zusammenfassung von Daten und für die Bildung objektiver Urteile im Hinblick auf Abweichungen zwischen Datensätzen (Signifikanztest) unerlässlich. Analytiker sollten sich zumindest mit den Grundelementen der statistischen Theorie vertraut machen, insbesondere als Hilfsmittel bei der Bewertung der Präzision, des Bias, des linearen Bereichs, der Nachweisgrenze, der Bestimmungsgrenze und der Messunsicherheit. Es wird auf eine Reihe nützlicher Bücher zur Einführung in die Statistik in der analytischen Chemie verwiesen [5, 6, 31, 32, 33, 34].

### 5.5 Validierungsanforderungen

Die Anforderungen an die Durchführung der Verfahrenvalidierung können in Richtlinien innerhalb einer bestimmten Branche, für die das Verfahren relevant ist, festgelegt werden [13, 25, 35 zum Beispiel]. Dort, wo solche Anforderungen existieren, ist es empfehlenswert, ihnen zu folgen. Dies stellt sicher, dass eine bestimmte Validierungsterminologie, zusammen mit der verwendeten Statistik, branchenüblich interpretiert wird. Die offizielle Anerkennung eines Verfahrens kann eine Charakterisierung mittels Ringversuch erforderlich machen.

### 5.6 Prozess der Verfahrensvalidierung

Wenn das Laboratorium mit einem bestimmten Kundenproblem konfrontiert wird, muss es zuerst die analytische Anforderung festlegen, die wiederum die Leistungsmerkmale eines Verfahrens bestimmt, die dieses zur Lösung des entsprechenden Problems aufweisen muss (Abbildung 1).

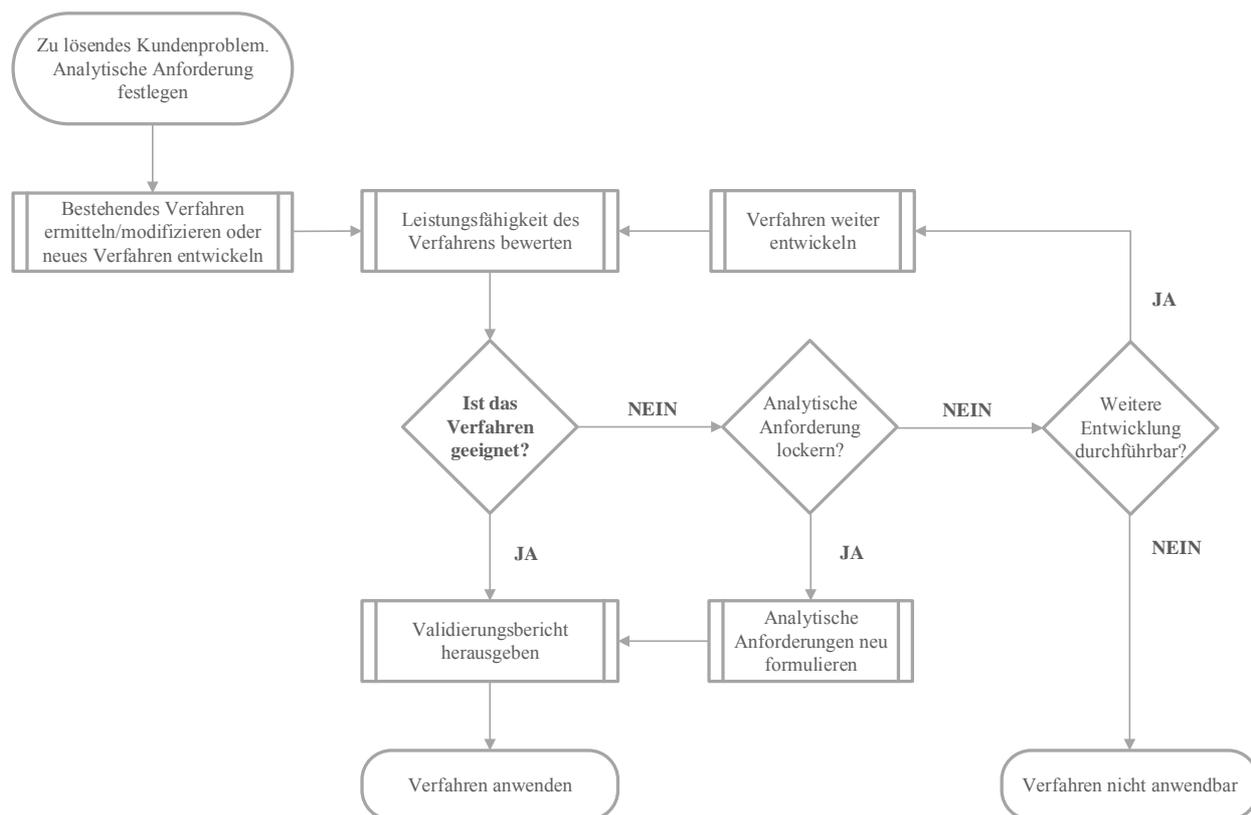
Als Reaktion auf diese Anforderungen muss das Laboratorium ein bereits vorhandenes, geeignetes Verfahren festlegen oder, wenn notwendig, ein Verfahren entwickeln/modifizieren. Es ist zu beachten, dass bestimmte Vorschriften die Anwendung eines bestimmten Verfahrens erfordern können. Tabelle 4 zeigt die Art von Fragen, die sich bei der Festschreibung einer analytischen Anforderung stellen könnten (Spalte 1) und die entsprechenden Leistungsmerkmale des Verfahrens, die bewertet werden müssen (Spalte 2). Das Laboratorium bestimmt dann die relevanten Leistungsmerkmale, bewertet diese und prüft sie hinsichtlich der analytischen Anforderung. Der Validierungsprozess endet mit einer Schlussfolgerung und einer Feststellung darüber, ob die analytische Anforderung erfüllt ist oder nicht. Wird die analytische Anforderung nicht erfüllt, ist eine weitere Verfahrensentwicklung erforderlich. Dieser Vorgang der Entwicklung und Bewertung wird fortgesetzt, bis das Verfahren in der Lage ist, die Anforderung zu erfüllen.

In der Realität wird eine analytische Anforderung nur selten mit dem Kunden vorab formal vereinbart. Kunden definieren in der Regel ihre Anforderungen

hinsichtlich Kosten und/oder Zeit und wissen nur selten, wie gut Verfahren funktionieren müssen, obwohl die Anforderungen an die Leistungsfähigkeit für Verfahren dort vorgegeben sein können, wo die Verfahren gesetzliche Bestimmungen oder die Einhaltung einer gegebenen Spezifikation unterstützen. Beispielsweise hat die Europäische Union (EU) Anforderungen veröffentlicht, z. B. zur Analyse von Trinkwasser [36], für Analysen innerhalb der Wasserrahmenrichtlinie [37], für die Bestimmung des Gehalts von Tierarzneimittelrückständen in Lebensmitteln [38] und Pestizidrückständen in Lebens- und Futtermitteln [39].

In der Regel wird aber die Entscheidung hinsichtlich der Anforderungen an die Leistungsfähigkeit dem Analytiker überlassen. Sehr oft bedeutet dies, dass die analytische Anforderung an die bekannte Leistungsfähigkeit des Verfahrens (z. B. veröffentlicht in Normverfahren, beobachtet in Eignungsprüfungsringversuchen oder abgeschätzt aus mathematischen Modellen, wie z. B. der Horwitz-Funktion [40])) angepasst wird.

Finanzielle Zwänge können dazu führen, dass die Entwicklung eines Verfahrens zur Erfüllung einer bestimmten analytischen Anforderung wirtschaftlich nicht sinnvoll ist. In diesem Fall muss entschieden werden, ob die Anforderung bis auf ein leichter zu erreichendes Niveau gesenkt wird oder die Berechtigung der Analyse an sich zu überdenken ist.



**Abbildung 1 – Prozess der Validierung: vom Problem des Kunden bis zur Entscheidung des Laboratoriums, ob der Kundenwunsch mit einem identifizierten Verfahren durchgeführt werden kann oder nicht.**

**Anmerkung:** Die Validierung besteht aus einer Phase, in der Leistungsmerkmale bewertet und dann mit analytischen Anforderungen verglichen werden. Unabhängig davon, welche bestehenden Leistungsdaten für das Verfahren zur Verfügung stehen, wird deren Eignung dadurch bestimmt, wie das Verfahren funktioniert, wenn sie vom zuständigen Analytiker mit den zur Verfügung stehenden Ausrüstungen/Einrichtungen verwendet wird.

**Tabelle 4 – Fragen, die bei der Formulierung einer analytischen Anforderung gestellt werden könnten, und damit verbundene Leistungsmerkmale mit Verweisen auf die entsprechenden Abschnitte in diesem Leitfa-**  
**den**

Frage	Leistungsmerkmal	Abschnitt	Anmerkung
Gibt es Einschränkungen bei Ressourcen, wenn ja, welche – Menschen, Zeit, Geld, Ausrüstung und Reagenzien, Laboreinrichtungen?	-	-	a)
Wird die Probenahme und Unterteilung der Proben notwendig (und wird dies im Laboratorium durchgeführt)?			
Gibt es irgendwelche Einschränkungen bezüglich Probengröße/Verfügbarkeit?			
Was sind die chemischen, biologischen und physikalischen Merkmale der Matrix?			
Liegt der Analyt fein verteilt oder lokalisiert vor?			
Wird eine qualitative oder quantitative Antwort gefordert?	Selektivität Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze	6.1 6.2	
Welches sind die interessierenden Analyten und die wahrscheinlichen Gehalte (% , µg/g, ng/g, etc.)? Liegen die Analyten in mehr als einer chemischen Form vor (z. B. Oxidationsstufen, Stereoisomere), und ist es notwendig, zwischen verschiedenen Formen unterscheiden zu können?	Selektivität Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze Arbeits- und lineare Bereiche	6.1 6.2 6.3	
Welche Größe soll gemessen werden ('die Messgröße')? Ist es die 'Gesamt'-Konzentration des vorhandenen Analyten, die von Interesse ist, oder die 'extrahierte Menge' unter bestimmten Bedingungen?	Wiederfindung	6.5	
Welche Richtigkeit und Präzision werden gefordert? Was ist der Höchstwert der Unsicherheit und wie wird er ausgedrückt?	Richtigkeit und Wiederfindung Wiederholpräzision, Vergleichpräzision, erweiterte Vergleichpräzision Unsicherheit	6.5 6.6 6.7 6.1	b)
Welche wahrscheinlichen Störungen des Analyten gibt es?	Selektivität	6.1	
Sind für alle Parameter, die für die Durchführung der Analyse kritisch sind, Toleranzgrenzen festgelegt worden (z. B. Extraktionszeitpunkt, Inkubationstemperatur)?	Robustheit	6.8	c)
Müssen die Ergebnisse mit Ergebnissen anderer Laboren verglichen werden?	Unsicherheit	6.7	b)
Müssen die Ergebnisse mit externen Spezifikationen verglichen werden?	Unsicherheit	6.7	b)
<p>a) Nicht alle Elemente der analytischen Anforderung stehen in unmittelbarem Zusammenhang mit den Anforderungen an die Verfahrensvalidierung, aber geben in allgemeiner Form vor, ob bestimmte Verfahren tatsächlich anwendbar sind. Zum Beispiel kommen verschiedene Verfahren zur Anwendung, je nachdem, ob der Analyt in der Probe verteilt vorliegt oder an der Oberfläche isoliert ist.</p> <p>b) Ein wesentlicher Aspekt der analytischen Anforderung ist es, dass es möglich sein sollte zu beurteilen, ob ein Verfahren für den vorgesehenen Zweck geeignet ist oder nicht und deshalb muss sie die geforderte Unsicherheit, die entweder als Standardunsicherheit oder als eine erweiterte Unsicherheit ausgedrückt wird, einschließen.</p> <p>c) Veröffentlichte genormte Verfahren haben sich normalerweise im Rahmen des Anwendungsbereichs des Verfahrens, d. h. Matrixtypen und Arbeitsbereich, als robust erwiesen. Daher schließt die Verifizierung eines Normverfahrens in einem Einzellaboratorium die Robustheit normalerweise nicht ein.</p>			

## 6 Leistungsmerkmale des Verfahrens

### 6.1 Selektivität

#### 6.1.1 Begriffe und Definitionen

Die analytische Selektivität bezieht sich auf *“das Ausmaß, bis zu welchem ein Verfahren geeignet ist, einen bestimmten Analyten in einer Mischung oder Matrix ohne Störungen durch andere Komponenten mit ähnlichen Eigenschaften zu bestimmen”* [41].

Definitionen in verschiedenen Dokumenten [7, 18, 42] stimmen mit dieser Interpretation mehr oder weniger überein. Während IUPAC den Begriff ‘Selektivität’ empfiehlt, verwenden einige Bereiche, z. B. die Pharmabranche [13], die Bezeichnung ‘Spezifität’ bzw. ‘analytische Spezifität’. Letztere wird empfohlen, um Verwechslungen mit ‘diagnostischer Spezifität’, die in der Labormedizin verwendet wird [43], zu vermeiden.

#### 6.1.2 Der Einfluss von Störungen

In der Regel kann man sagen, dass Analysenverfahren aus einem Messschritt bestehen, dem ein Isolierungsschritt vorausgehen kann oder auch nicht. Im Messschritt wird die Konzentration eines Analyten normalerweise nicht direkt gemessen. Stattdessen wird eine bestimmte Eigenschaft (z. B. die Lichtintensität) quantifiziert. Es ist daher von entscheidender Bedeutung festzustellen, dass die gemessene Eigenschaft nur auf den Analyten zurückzuführen ist und nicht etwa auf etwas, das chemisch oder physikalisch ähnlich ist, oder etwas, das zufällig auftritt und damit zu einem Bias im Messergebnis führt. Um die Selektivität des Messsystems zu verbessern, muss dem Messschritt möglicherweise ein Isolierungsschritt vorausgehen.

Störungen können durch Erhöhung oder Abnahme des der Messgröße zugeordneten Signals einen Bias verursachen. Die Größe des Effekts für eine gegebene Matrix ist in der Regel proportional zum Signal und wird deshalb manchmal als ‘Proportional’-Effekt bezeichnet. Sie ändert die Steigung der Kalibrierfunktion, jedoch nicht deren Achsenabschnitt. Dieser Effekt wird auch als ‘Rotations’-Effekt bezeichnet [44].

Eine ‘Translations’- oder ‘Parallelverschiebung’ entsteht aus einem Signal, das durch in der Testlösung befindliche Störsubstanzen erzeugt wird. Sie ist daher unabhängig von der Konzentration des Analyten. Sie wird oft als ‘Hintergrund-Störung’ oder ‘Grundlinien’-Störung bezeichnet. Sie wirkt auf den Achsenabschnitt einer Kalibrierfunktion, aber nicht auf deren Steigung.

Es ist nicht ungewöhnlich, dass sowohl Proportional- als auch Translationseffekte gleichzeitig vorhanden sind. Das Standardadditionsverfahren kann nur Proportionaleffekte korrigieren.

#### 6.1.3 Bewertung der Selektivität

Die Selektivität eines Verfahrens muss bestimmt werden für hausintern entwickelte Verfahren, für Verfahren, die aus der wissenschaftlichen Literatur angepasst wurden, und für von Normungsgremien veröffentlichte Verfahren, die außerhalb des im Normverfahren angegebenen Geltungsbereichs angewandt werden. Wenn von Normungsgremien veröffentlichte Verfahren im Rahmen ihres Geltungsbereichs eingesetzt werden, ist die Selektivität in der Regel im Rahmen der Normung untersucht worden.

Die Selektivität eines Verfahrens wird in der Regel untersucht, indem geprüft wird, ob es den gewünschten Analyten in Proben messen kann, in die absichtlich spezifische Störsubstanzen (solche, von denen vermutet wird, dass sie in Proben vorkommen) eingeführt wurden. Wenn unklar ist, ob Störsubstanzen bereits vorhanden sind oder nicht, kann die Selektivität eines Verfahrens untersucht werden, indem die Messfähigkeit für den Analyten im Vergleich zu anderen unabhängigen Verfahren untersucht wird. Die Beispiele 1 und 2 (siehe unten) sowie Kurzanleitung 1 veranschaulichen praktische Überlegungen im Hinblick auf die Selektivität.

Bestätigungsverfahren können als Mittel zur Verifizierung von Identifizierungen nützlich sein. Je mehr Nachweise gesammelt werden können, umso besser. Es gibt zwangsläufig einen Kompromiss zwischen Kosten und Zeit, die für die Identifizierung eines Analyten aufgewandt werden, und dem Vertrauen, auf dessen Basis man entscheiden kann, ob der Analyt korrekt identifiziert worden ist.

Während die Bewertung der Wiederholpräzision erfordert, dass die Messung mit einem Verfahren mehrmals wiederholt wird, erfordert die Bestätigung der Identität des Analyten eine Messung durch verschiedene, vorzugsweise unabhängige Verfahren. Diese Bestätigung erhöht das Vertrauen in das zu überprüfende Verfahren und ist insbesondere dann nützlich, wenn die Bestätigungsverfahren mit deutlich unterschiedlichen Prinzipien arbeiten.

Bei einigen Anwendungen, beispielsweise der Analyse unbekannter organischer Stoffe mittels Gas-Chromatographie, ist der Einsatz bestätigender Verfahren unverzichtbar. Wenn das zu überprüfende Messverfahren äußerst selektiv ist, dürften andere bestätigende Verfahren entbehrlich sein.

Ein wichtiger zu berücksichtigender Aspekt bei der Selektivität ist, wenn ein Analyt in einer Probe in mehr als einer Form vorliegt, z. B.: gebunden oder ungebunden, anorganisch oder organometallisch, oder in verschiedenen Oxidationsstufen. Zur Vermeidung von Missverständnissen ist die Definition der Messgröße daher entscheidend.

**Beispiel 1 – Chromatographie.** Ein Peak in einem Chromatogramm kann dem gewünschten Analyten zurückgeordnet werden, wenn ein RM, das den Analyten enthält, an der gleichen Stelle auf dem Chromatogramm ein Signal erzeugt. Aber ist das Signal wirklich auf den Analyten zurückzuführen oder auf etwas Anderes, das zufällig ko-eluiert, d. h. ein fixer Effekt? Es könnte eins von beiden sein oder beides. Die Identifizierung des Analyten nur auf diese Weise ist unzuverlässig, und irgendeine Form von Nachweis ist erforderlich. Beispielsweise könnte die Chromatographie unter Verwendung einer Säule mit anderer Polarität und damit einem anderen Trennprinzip wiederholt werden, um festzustellen, ob das Signal und das vom RM erzeugte Signal noch zur gleichen Zeit auftreten. Wenn ein Peak auf mehr als eine Verbindung zurückzuführen ist, kann eine andere Polarität eine gute Möglichkeit sein, die Verbindungen zu trennen. In vielen Fällen können moderne Massenspektrometer eine hohe Selektivität bieten, z. B. Gas- oder Flüssigchromatographie mit massenspektrometrischer Detektion.

**Beispiel 2 – Spektroskopie.** In der Infrarot-Spektroskopie können unbekannte Verbindungen identifiziert werden durch Abgleichen von Absorptionssignalen (d. h. 'Peaks') im Spektrum des Analyten mit denen aus Referenzspektren, die in einer Spektrenbibliothek gespeichert sind. Sobald angenommen werden kann, dass eine korrekte Identifizierung erfolgt ist, sollte ein Spektrum eines RM des Analyten unter exakt den gleichen Bedingungen aufgenommen werden wie für die Probe. Je höher die Anzahl der Peaks, die zwischen dem Analyten und dem RM übereinstimmen, ist, umso höher ist das Vertrauen darin, dass die Identifizierung korrekt ist. Es wäre auch sinnvoll zu untersuchen, wie abhängig die Form des Spektrums davon war, wie der Analyt isoliert und für die Infrarot-Analyse vorbereitet wurde. Wenn beispielsweise das Spektrum von einem Pressling erfasst wurde, kann die Partikelgrößenverteilung der Prüfmenge im Pressling die Form des Spektrums beeinflussen.

### Kurzanleitung 1 – Selektivität

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/zu ermitteln	Anmerkungen
Proben und RM durch das zu überprüfende Verfahren und anderen unabhängigen Verfahren analysieren.	1	Ergebnisse aus den bestätigenden Verfahren verwenden, um zu bewerten, ob das Verfahren die Identität des Analyten bestätigen und den Analyten isoliert von anderen Störsubstanzen messen kann.	Entscheiden, wie viele zusätzliche Nachweise für eine hinreichende Zuverlässigkeit erforderlich sind.
Proben analysieren, in denen verschiedene Störsubstanzen in Gegenwart des interessierenden Analyten vermutet werden.	1	Auswirkung von Störsubstanzen untersuchen. Hemmt das Vorhandensein von Störsubstanzen den Nachweis oder die Quantifizierung der Analyten?	Wenn der Nachweis oder die Quantifizierung durch die Störsubstanzen behindert werden, ist eine weitere Verfahrensentwicklung erforderlich.

## 6.2 Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze

### 6.2.1 Begriffe und Definitionen

Erfolgen Messungen bei niedrigen Konzentrationen, sind drei allgemeine Konzepte zu berücksichtigen. Erstens kann es notwendig sein, einen Analysenwert

zu bestimmen, der einem Analytgehalt entspricht, der signifikant verschieden von Null ist. Oft sind bei diesem Niveau einige Maßnahmen erforderlich, wie z. B. ein Material als kontaminiert zu erklären. Dieses Niveau ist bekannt als 'kritischer Wert', 'Entscheidungsgrenze' oder in EU-Richtlinien als CC $\alpha$  [38].

(Anm. d. Übers.: in der deutschen Fassung dieses Guides wird die Terminologie aus der deutschen Fassung des VIM verwendet. Dies ist nicht in Übereinstimmung mit der DIN 32645 und der DIN ISO 11843. Der kritische Wert ist in DIN 32645 die Nachweisgrenze, in der DIN ISO 11843 wird dieses Niveau Erfassungsgrenze genannt.).

Zweitens ist es wichtig, die niedrigste Konzentration des Analyten zu kennen, die bei einem vorgegebenen Vertrauensniveau durch das Verfahren nachgewiesen werden kann. D. h., bei welcher tatsächlichen Konzentration werden wir den oben beschriebenen kritischen Wert sicher überschreiten? Für dieses Konzept werden Begriffe wie 'Nachweisgrenze', 'kleinster nachweisbarer Wert' oder in EU-Richtlinien CCβ [38] verwendet (Anm. d. Übers.: in der DIN 32645 ist dies die Erfassungsgrenze, in DIN ISO 11843 das Erfassungsvermögen.).

Drittens ist es auch wichtig, die Untergrenze festzulegen, bei welcher die Leistungsfähigkeit bei einer typischen Anwendung noch akzeptabel ist. Dieses dritte Konzept wird in der Regel als Bestimmungsgrenze bezeichnet.

Die Terminologie all dieser Begriffe ist sehr vielfältig und variiert innerhalb der Bereiche. So wurde zum Beispiel der Begriff 'Nachweisgrenze' früher nicht überall anerkannt, obwohl er in einigen branchenspezifischen Dokumenten verwendet wurde [13, 38]. Er ist jetzt allerdings in den VIM [7] sowie in das IUPAC Gold Book [17] aufgenommen worden. ISO verwendet als einen allgemeinen Begriff den 'kleinsten nachweisbaren Wert der Nettokonzentration des Analyten', der im Bereich Chemie übersetzt wird mit 'kleinste nachweisbare Nettokonzentration' [45, 46, 47, 48]. In diesem Leitfadens werden die Begriffe 'kritischer Wert', 'Nachweisgrenze' und 'Bestimmungsgrenze' für die drei o. g. Begriffe verwendet. In der Verfahrensvalidierung sind Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze die Werte, die am häufigsten bestimmt werden.

Es ist auch notwendig, zwischen der Nachweisgrenze von Geräten und der Nachweisgrenze von Verfahren zu unterscheiden. Die Nachweisgrenze für Geräte kann sich auf die Analyse einer Probe stützen, häufig einer Reagenzien-Blindprobe, die direkt ins Messgerät gegeben wird (d. h. unter Weglassen jeglicher probenvorbereitenden Schritte), oder auf das Signal-Rausch-Verhältnis, z. B. in einem Chromatogramm.

Um eine Nachweisgrenze für das Verfahren zu erhalten, muss sich die Nachweisgrenze auf die Analyse von Proben stützen, die das gesamte Messverfahren durchlaufen haben, unter Verwendung von Ergebnissen, die mit derselben Gleichung wie für die Prüfproben berechnet werden. Es ist die Nachweisgrenze des Verfahrens, die für die Verfahrensvalidierung am nützlichsten ist und die deshalb im Mittelpunkt dieses Leitfadens steht.

Die folgenden Abschnitte beschreiben die experimentelle Schätzung der Nachweisgrenze und der Bestimmungsgrenze. Die statistische Grundlage zur Berechnung der Nachweisgrenze ist in Anhang B gegeben. Da sowohl Nachweis- als auch Bestimmungsgrenze von der Genauigkeit bei oder nahe Null abhängen, beschreibt Abschnitt 6.2.2 zunächst die experimentelle Schätzung der Standardabweichung von Ergebnissen nahe Null.

### 6.2.2 Ermitteln der Standardabweichung bei niedrigen Gehalten

Sowohl Nachweisgrenze als auch Bestimmungsgrenze werden in der Regel durch Multiplizieren einer Standardabweichung ( $s'_0$ ) mit einem geeigneten Faktor berechnet. Es ist wichtig, dass diese Standardabweichung repräsentativ ist für die Präzision, die für typische Prüfproben erhalten wird, und dass für eine verlässliche Schätzung die Messungen ausreichend häufig wiederholt werden. In diesem Abschnitt basiert die Standardabweichung  $s'_0$  auf einer Standardabweichung  $s_0$  für Einzelergebnisse nahe Null, angepasst an etwaige Mittelung oder Blindwertkorrektur, die in der Praxis genutzt werden (siehe unten). Alternative Ansätze werden in Abschnitt 6.2.5 diskutiert.

Die folgenden Gesichtspunkte sollten bei der Ermittlung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze durch ein Experiment mit einfacher Wiederholung berücksichtigt werden.

**Geeignete Proben zur Schätzung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze:** Die verwendeten Proben sollten vorzugsweise entweder a) Leerproben sein, d. h. Matrices, die keinen nachweisbaren Analyten enthalten, oder b) Prüfproben mit Konzentrationen des Analyten nahe oder unterhalb der zu erwartenden Nachweisgrenze. Leerproben eignen sich gut für Verfahren, wo ein messbares Signal für einen Leerwert erhalten wird, wie z. B.

Spektrophotometrie und Atomspektroskopie. Jedoch werden für Verfahren, wie z. B. der Chromatographie, die auf dem Nachweis eines Peaks oberhalb des Rauschens basieren, Proben mit Konzentrationen nahe oder oberhalb der Nachweisgrenze benötigt. Diese können beispielsweise durch Aufstocken einer Leerprobe hergestellt werden (siehe Abschnitt 5.4).

Wenn Leerproben oder Proben in geringen Konzentrationen nicht verfügbar sind, können oft Reagenzien-Blindproben<sup>5</sup> genutzt werden. Wenn diese Reagenzien-Blindproben nicht dem gesamten Messverfahren unterzogen werden können und direkt ins Messgerät gegeben werden, ergibt die Berechnung, die auf diesen Messungen aufbaut, die Bestimmungsgrenze/Nachweisgrenze für das Gerät.

**Abdeckung des Anwendungsbereichs des Verfahrens:** Für Verfahren, die sehr verschiedene Matrices abdecken, kann eine Ermittlung der Standardabweichung für jede Matrix getrennt notwendig sein.

**Sicherstellung einer repräsentativen Wiederholung:** Die Standardabweichung sollte für die Durchführung des Verfahrens, wie es im Laboratorium benutzt wird, repräsentativ sein, d. h. die Standardabweichung ist auf der Grundlage von Prüfergebnissen zu berechnen, wenn Analysen genau nach dem gesamten dokumentierten Messverfahren durchgeführt werden, einschließlich aller Probenvorbereitungsschritte. Die für die Berechnung der Standardabweichung  $s_0$  verwendeten Werte sollten in den Maßeinheiten angegeben werden, die im Verfahren angegeben sind.

**Messbedingungen:** Die Standardabweichung wird in der Regel unter Wiederholbedingungen erhalten und dies ist auch das in diesem Abschnitt beschriebene Verfahren. Jedoch kann unter Vergleichbedingungen (Zwischenbedingungen) eine zuverlässigere Schätzung erhalten werden. Dieser Ansatz wird weiter in Abschnitt 6.2.5 diskutiert.

**Anzahl von Beobachtungen:** Die Anzahl der Wiederholungen ( $m$ ) sollte ausreichend sein, um eine angemessene Schätzung der Standardabweichung zu erhalten. Als notwendig erachtet werden

typischerweise zwischen 6 und 15 Wiederholungen; in Validierungsverfahren/Validierungsregelwerken werden oft 10 Wiederholungen empfohlen (siehe Abschnitt 6.2.5.1).

**Mittelwerte berücksichtigen:** In vielen Messverfahren wird bei Routineeinsatz des Verfahrens der Mittelwert von Wiederholungen angegeben, wobei in jeder Wiederholung das gesamte Messverfahren durchlaufen wird. In diesem Fall sollte die Standardabweichung der Einzelergebnisse  $s_0$  durch Dividieren mit der Quadratwurzel von  $n$  korrigiert werden, wobei  $n$  die Anzahl der im Routineeinsatz gemittelten Wiederholungen ist.

**Berücksichtigung des Effekts von Blindwertkorrekturen:** Wenn im Messverfahren Blindwertkorrekturen angegeben werden, ist bei der Ermittlung der Standardabweichung, die zur Berechnung der Nachweisgrenze bzw. Bestimmungsgrenze verwendet wird, Vorsicht geboten. Wenn die während der Validierungsstudie erhaltenen Ergebnisse alle mit dem gleichen Blindwert korrigiert werden würden – der Einfachheit halber wird dieser Ansatz hier empfohlen –, wäre die Standardabweichung der Ergebnisse kleiner als diejenige, die in der Praxis zu sehen ist, wenn Ergebnisse mittels unterschiedlicher Blindwerte, die in verschiedenen Tests erzielt wurden, korrigiert werden.

In diesem Fall sollte  $s_0$  durch Multiplikation mit  $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$  korrigiert werden, wobei  $n$  die Anzahl der Wiederholungsbegutachtungen ist, über die gemittelt wird, wenn über Ergebnisse berichtet wird, wobei jede Wiederholung durch das Durchlaufen des gesamten Messverfahrens erreicht wird, und  $n_b$  die Anzahl der Blindbeobachtungen ist, die zur Berechnung der Blindkorrektur verwendet werden.

Zu beachten ist, dass unter Vergleichbedingungen (Zwischenbedingungen) Ergebnisse durch unterschiedliche Blindwerte korrigiert werden, sodass keine Korrektur der Standardabweichung erforderlich ist (siehe Abschnitt 6.2.5).

Beispiel 3 veranschaulicht diese Berechnungen und das Flussdiagramm in Abbildung 2 fasst die erforderlichen Korrekturen zur Mittelwertbildung und zur Blindwertkorrektur zusammen.

<sup>5</sup> Bezüglich der Terminologie zu Blindproben bestehen Unklarheiten – weitere

Diskussion dazu siehe Abschnitt 5.4.1.

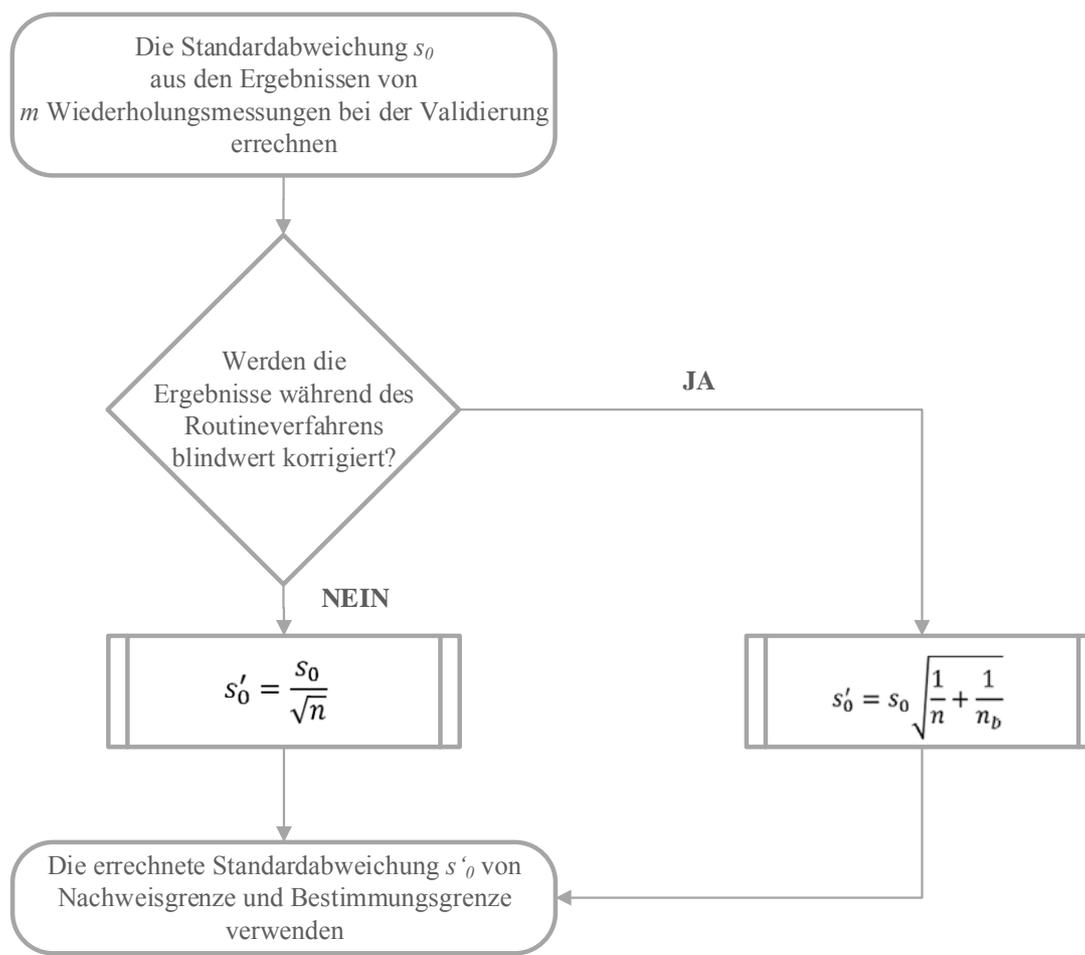
**Beispiel 3** – Eine vorgenommene Validierung beruht auf der Analyse eines Leerwerts. Zehn ( $m$ ) unabhängige Messungen des Leerwerts erfolgen unter Wiederholbedingungen. Die Ergebnisse sind Mittelwerte mit einem Wert von 2 mg/kg und einer Standardabweichung  $s_0$  von 1 mg/kg.

Fall 1 – Das Messverfahren sieht vor, dass die Prüfproben einmal gemessen ( $n=1$ ) und die Ergebnisse mit dem Ergebnis einer einzelnen Leerprobe korrigiert werden sollten ( $n_b=1$ ). In einer Messreihe besteht jeder Messdurchgang aus einzelnen Wiederholungsmessungen der Routineproben und einer ( $n_b$ ) Leerprobe. Dann ist nach Abbildung 2 die Standardabweichung zur Berechnung von Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze:

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{1}} = 1\sqrt{2} = 1,4 \text{ mg/kg}$$

Fall 2 – Das Messverfahren sieht vor, dass die Prüfproben wie auch die Leerproben doppelt ( $n=2$ ) analysiert werden sollten. In einer Messreihe besteht jeder Messdurchgang aus Doppelmessungen ( $n=2$ ) von Routineproben und zwei ( $n_b$ ) Leerproben. Die für Routineproben erhaltene Konzentration wird durch Subtrahieren des Mittelwerts aus den zwei Leerproben korrigiert. Dann ist nach Abbildung 2 die Standardabweichung zur Berechnung von Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze:

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} = 1 \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} = 1 \text{ mg/kg}$$



$s_0$  ist die geschätzte Standardabweichung von  $m$  Einzelergebnissen an oder nahe der Nullkonzentration.

$s'_0$  ist die zur Berechnung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze verwendete Standardabweichung.

$n$  ist die Anzahl der Wiederholungsbeobachtungen, die gemittelt werden, wenn über Ergebnisse berichtet wird, wobei jede Wiederholung dadurch erreicht wird, dass das gesamte Messverfahren durchlaufen wird.

$n_b$  ist die Anzahl der Blindbeobachtungen, die gemittelt werden, wenn die Blindkorrektur bezogen auf das Messverfahren berechnet wird.

**Abbildung 2 – Berechnung der Standardabweichung,  $s'_0$ , die zur Schätzung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze verwendet wird.** Das Flussdiagramm beginnt mit einer experimentellen Standardabweichung,  $s_0$ , berechnet aus den Ergebnissen von Wiederholungsmessungen unter Wiederholbedingungen an einer Probe nahe der Nullkonzentration, entweder ohne Blindwertkorrektur oder mit einer Blindwertkorrektur, angewandt auf alle Ergebnisse, wie durch das Verfahren festgelegt. Diese Blindwertkorrektur kann auf einer einzelnen Blindwertbeobachtung basieren oder auf einem Mittelwert mehrerer Blindwertbeobachtungen.

### 6.2.3 Schätzen der Nachweisgrenze

Für Validierungszwecke ist es in der Regel ausreichend, für die Nachweisgrenze einen Näherungswert anzugeben, d. h. den Wert, bei dem der Nachweis des Analyten problematisch wird. Dazu reicht der in der Kurzanleitung 2 dargelegte '3s' Ansatz in der Regel aus.

Immer dann, wenn die Arbeiten zur Unterstützung regulativer Vorgaben oder Einhaltung von Spezifikationen dienen, ist eine genauere Herangehensweise erforderlich, insbesondere die Berücksichtigung von Freiheitsgraden, die mit  $s_0$  verbunden sind. Dies wird detailliert durch IUPAC [49] und andere [50, 51] beschrieben. Wenn der kritische Wert und/oder die Nachweisgrenze zur Entscheidungsfindung verwendet werden, sollte die Präzision überwacht werden, und die Grenzen müssen möglicherweise von Zeit zu Zeit erneut berechnet werden. Verschiedene Branchen und/oder Regelungen nutzen ggf. verschiedene Ansätze zur Schätzung der Nachweisgrenze. Bei der Angabe einer Nachweisgrenze wird empfohlen, die verwendete Konvention anzugeben. In Ermangelung einer branchenbezogenen Anleitung können zur

Schätzung der Nachweisgrenze die in der Kurzanleitung 2 dargestellten Herangehensweisen als allgemeine Anleitung verwendet werden.

### 6.2.4 Schätzen der Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze ist der niedrigste Wert des Analyten, der mit einer akzeptablen Leistungsfähigkeit bestimmt werden kann. 'Akzeptable Leistungsfähigkeit' wird in verschiedenen Richtlinien in Bezug auf den Einschluss von Präzision, Präzision und Richtigkeit oder Messunsicherheit [52] unterschiedlich betrachtet. In der Praxis jedoch wird die Bestimmungsgrenze meist als die Analytkonzentration berechnet, die einer Standardabweichung ( $s'_0$ ) an der Untergrenze, multipliziert mit einem Faktor  $k_Q$ , entspricht. Der IUPAC Standardwert für  $k_Q$  ist 10 [49], und wenn die Standardabweichung bei niedrigen Konzentrationen etwa konstant ist, entspricht dieser Multiplikator einer relativen Standardabweichung (RSD) von 10 %. Manchmal werden auch Multiplikatoren von 5 und 6 verwendet, die RSD-Werten von 20 % und 17 % entsprechen [53, 54]. Weitere Informationen siehe Literaturnachweis [8] und Kurzanleitung 3.

#### Kurzanleitung 2 – Nachweisgrenze

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen	Anmerkungen
a) Wiederholungsmessungen von Leerproben, d. h. Matrices, die keinen detektierbaren Analyten enthalten. oder Wiederholungsmessungen von Prüfproben mit niedrigen Analytkonzentrationen.	10	Standardabweichung $s_0$ aus den Ergebnissen berechnen. $s'_0$ aus $s_0$ in Anlehnung an das Flussdiagramm in Abbildung 2 berechnen. Nachweisgrenze berechnen nach $NWG = 3 \times s'_0$	
b) Wiederholungsmessungen von Reagenzien-Blindproben. oder Wiederholungsmessungen von Reagenzien-Blindproben, aufgestockt mit niedrigen Analytkonzentrationen.	10	Standardabweichung $s_0$ aus den Ergebnissen berechnen $s'_0$ aus $s_0$ in Anlehnung an das Flussdiagramm in Abbildung 2 berechnen. Nachweisgrenze berechnen nach $NWG = 3 \times s'_0$	Ansatz b) ist akzeptabel, wenn keine Leerproben oder Prüfproben in niedrigen Konzentrationen erhalten werden können. Wenn diese Reagenzien-Blindproben nicht das gesamte Messverfahren durchlaufen und direkt in das Messgerät gegeben werden, liefert die Berechnung die Gerätenachweisgrenze.
<b>ANMERKUNGEN</b>			
1) Um eine Standardabweichung ungleich Null zu erreichen, muss bei einigen Analysemethoden, z. B. Chromatographie, eine Prüfprobe mit zu niedriger Konzentration oder eine Reagenzien-Blindprobe möglicherweise aufgestockt werden. 2) Das gesamte Messverfahren sollte für jede Bestimmung wiederholt werden. 3) Die Standardabweichung wird in Konzentrationseinheiten ausgedrückt. Wird die Standardabweichung als Signal ausgedrückt, dann ist die Nachweisgrenze die Konzentration, die dem Blindsignal $y_b + 3 \times s'_0$ entspricht. Ein kurzes Beispiel für Berechnungen der Nachweisgrenze als Signal wird auch im Literaturnachweis [5] gegeben.			

## Kurzanleitung 3 – Bestimmungsgrenze

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen	Anmerkungen
a) Wiederholungsmessungen von Leerproben, d. h. Matrices, die keinen detektierbaren Analyten enthalten.  oder  Wiederholungsmessungen von Prüfproben mit niedrigen Analytkonzentrationen.	10	Standardabweichung $s_0$ aus den Ergebnissen berechnen.  $s'_0$ aus $s_0$ in Anlehnung an das Flussdiagramm in Abbildung 2 berechnen.  Bestimmungsgrenze berechnen nach $BG = k_Q \times s'_0$ .	Der Wert für den Multiplikator $k_Q$ beträgt üblicherweise 10, aber auch andere Werte, wie beispielsweise 5 oder 6, werden häufig verwendet (basierend auf den 'Eignungs'-Kriterien).
b) Wiederholungsmessungen von Reagenzien-Blindproben.  oder  Wiederholungsmessungen von Reagenzien-Blindproben, aufgestockt mit niedrigen Analytkonzentrationen.	10	Standardabweichung $s_0$ aus den Ergebnissen berechnen.  $s'_0$ aus $s_0$ in Anlehnung an das Flussdiagramm in Abbildung 2 berechnen.  Bestimmungsgrenze berechnen nach $BG = k_Q \times s'_0$ .	Ansatz b) ist akzeptabel, wenn keine Leerproben oder Prüfproben in niedrigen Konzentrationen erhalten werden können.  Wenn diese Reagenzien-Blindproben nicht das gesamte Messverfahren durchlaufen und direkt in das Messgerät gegeben werden, liefert die Berechnung die Geräte-Bestimmungsgrenze.
ANMERKUNGEN			
<ol style="list-style-type: none"> <li>Um eine Standardabweichung ungleich Null zu erreichen, muss bei einigen Analysenmethoden, z. B. Chromatographie, eine Prüfprobe mit zu niedriger Konzentration oder eine Leerprobe möglicherweise aufgestockt werden.</li> <li>Das gesamte Messverfahren sollte für jede Bestimmung wiederholt werden.</li> <li>Die Standardabweichung wird in Konzentrationseinheiten ausgedrückt.</li> </ol>			

### 6.2.5 Alternative Verfahren

In den vorangegangenen Abschnitten ist ein allgemeiner Ansatz zur Schätzung der Nachweisgrenze und der Bestimmungsgrenze beschrieben worden, basierend auf der Standardabweichung der Ergebnisse bei Konzentrationen nahe Null, erhalten unter Wiederholbedingungen. Dieser Ansatz findet breite Anwendung, aber in anderen Standards und Regelwerken werden alternative Verfahren beschrieben.

In einigen Fällen, z. B. wenn sich Blindwerte von Tag zu Tag erheblich unterscheiden, werden Präzisionen unter Vergleichbedingungen (Zwischenbedingungen) Präzisionen unter Wiederholbedingungen vorgezogen. Wenn beispielsweise aus der Qualitätskontrolle Ergebnisse für Prüfproben in niedrigen Konzentrationen verfügbar sind, kann die Standardabweichung aus diesen Ergebnissen zur Schätzung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze genutzt werden. Wenn die zur Berechnung der

Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze verwendete Standardabweichung unter Vergleich-(Zwischenpräzisions-)bedingungen erhalten wurde, dann ist die Anpassung der Blindkorrektur, wie in Abbildung 2 dargestellt, nicht erforderlich. Somit ist die aus der internen Qualitätskontrolle erhaltene experimentelle Standardabweichung gleich der Standardabweichung  $s'_0$ , die zur Berechnung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze herangezogen wird. ISO 11843-2 [46] beschreibt, wie man die Geräte-Nachweisgrenze direkt aus einer Kalibrierkurve erhalten kann.

#### 6.2.5.1 Zuverlässigkeit der Schätzungen von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze

Es sollte beachtet werden, dass selbst bei den 10 Wiederholungen, wie sie in den Kurzanleitungen 2 und 3 genannt werden, Schätzungen einer Standardabweichung von Natur aus variabel sind. Deshalb sollte die bei der Validierung erhaltene Schätzung von Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze als Richtwert angesetzt werden. Dies wird ausreichend sein, wenn eine

Schätzung von Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze nur dazu erforderlich ist, um nachzuweisen, dass die Konzentrationen der Proben deutlich über der Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze liegen. Wenn Laborproben erwartbar niedrige Konzentrationen des Analyten enthalten, sollte die Nachweisgrenze/Bestimmungsgrenze in regelmäßigen Abständen überwacht werden.

### 6.2.6 Nachweisfähigkeit für qualitative Analysen

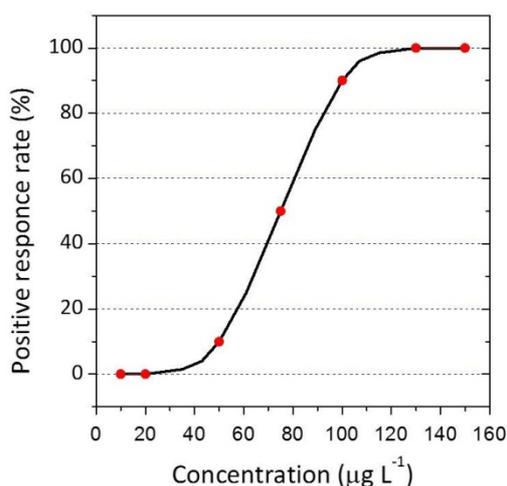
Eine qualitative Analyse (Anhang D) beinhaltet die Identifizierung und Klassifizierung von Substanzen und ist damit eine 'Ja'/'Nein'-Antwort bei einer bestimmten Schwellenkonzentration

eines Analyten [55]. Bei qualitativen Verfahren kann die Präzision nicht als eine Standardabweichung oder relative Standardabweichung ausgedrückt werden, aber als Anteile an Wahr- und Falsch-Positiv- und -Negativ-Werten.

In einer Validierungsstudie kann die Schwellenkonzentration durch Festlegung der Falsch-Positiv- und Negativ-Werte auf mehreren Stufen unterhalb und oberhalb der Schwellenkonzentration bestimmt werden. Die Grenze ist dort, wo Falsch-Negativ-Werte bei Konzentrationen oberhalb dem Grenzwert gering sind – mit einer angegebenen Wahrscheinlichkeit von z. B. 5 %. Während der Validierung wird die im dokumentierten Verfahren vorgeschlagene Grenze bewertet. (Siehe Beispiel 4 und Kurzanleitung 4).

**Beispiel 4** – Bestimmung der Schwellenkonzentration bei einem qualitativen Verfahren mit einer angegebenen Schwellenkonzentration von  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Auf jedem Niveau wurden zehn Beobachtungen aufgezeichnet. Es wurde eine Ansprechkurve mit dem Anteil (in %) von positiven Ergebnissen über der Konzentration erstellt, aus der man den Konzentrationsschwellenwert bestimmen kann, bei dem der Test unzuverlässig wird. Mit einem Kriterium von  $< 5\%$  Falsch-Negativ-Ergebnissen liegt die Schwellenkonzentration zwischen  $100$  und  $130 \mu\text{g L}^{-1}$ .

C ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Anzahl positiver/negativer Ergebnisse
150	10/0
130	10/0
100	9/1
75	5/5
50	1/9
20	0/10
10	0/10



#### Kurzanleitung 4 – Nachweisgrenze bei der qualitativen Analyse

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/ermitteln
Leerproben messen - in zufälliger Reihenfolge -, die mit dem Analyten in unterschiedlichen Konzentrationen im Konzentrationsbereich aufgestockt wurden.	10	Eine Ansprechkurve (in %) mit positiven bzw. negativen Ergebnissen über die Konzentration erstellen, aus der man den Konzentrationsschwellenwert, bei dem der Test unzuverlässig wird, bestimmen kann.

## 6.3 Arbeitsbereich

### 6.3.1 Definition

Der 'Arbeitsbereich'<sup>6</sup> ist der Bereich, innerhalb dessen das Verfahren Ergebnisse mit einem akzeptablen Unsicherheitsniveau liefert. Das untere Ende des Arbeitsbereichs wird von der Bestimmungsgrenze begrenzt. Der obere Arbeitsbereich wird durch Konzentrationen bestimmt, bei denen in der analytischen Sensitivität signifikante Anomalien beobachtet werden. Ein Beispiel hierfür ist der Plateau-effekt bei hohen Absorptionswerten in der UV/VIS-Spektroskopie.

### 6.3.2 Überlegungen zur Validierungsstudie

Der Arbeitsbereich des zu validierenden Verfahrens sollte im Anwendungsbereich des dokumentierten Verfahrens angegeben werden (siehe A.5 in Anhang A). Während der Validierung ist es erforderlich zu bestätigen, dass das Verfahren innerhalb des angegebenen Bereichs verwendet werden kann. Um den Arbeitsbereich bewerten zu können, muss das Laboratorium sowohl die Linearität des Verfahrens als auch das in dem Verfahren vorgeschlagene Kalibrierverfahren berücksichtigen.

### 6.3.3 Arbeitsbereich von Verfahren und Geräten

Viele Verfahren basieren darauf, dass die im Laboratorium erhaltene Prüfprobe (die Laborprobe) zunächst vorbereitet (aufgeschlossen, extrahiert, verdünnt) wird, bevor sie in das Messgerät gegeben und ein Signal aufgezeichnet werden kann. In diesen Fällen gibt es zwei Arbeitsbereiche. Der Arbeitsbereich des Verfahrens, der im Anwendungsbereich des Verfahrens angegeben ist (z. B. Abschnitt A.5 in Anhang A), bezieht sich auf die Konzentration in der Laborprobe. Für eine feste Prüfprobe wird er beispielsweise in  $\text{mg kg}^{-1}$  ausgedrückt. Der Arbeitsbereich des Messgeräts wird in Bezug auf die Konzentration in einer vorbereiteten Prüfprobe, die zwecks Messung in das Messgerät gegeben wird (z. B.  $\text{mg L}^{-1}$  in einer Lösung, nachdem die Probe extrahiert wurde), festgelegt. Ein Beispiel für den Arbeitsbereich eines Messgeräts ist in Abbildung 3A gegeben, wo die Konzentrationen in den Kalibriernormalen gegen das Messgerätesignal aufgetragen werden. Ein Beispiel für den Arbeitsbereich eines Verfahrens gibt Abbildung 3B, wo die bekannten Konzentrationen der Prüfproben gegen die gemessene Konzentration aufgetragen werden. Die gemessene Konzentration ist das Ergebnis, das durch Anwendung des Messverfahrens (einschließlich der Probenvorbereitung) unter Einsatz des Messgeräts, das

wie im Verfahren beschrieben kalibriert wurde.

Im Laufe der Validierung sollten sowohl der Arbeitsbereich des Messgeräts als auch der Arbeitsbereich des Verfahrens bewertet werden. Die Daten zum Arbeitsbereich werden häufig während der Verfahrensentwicklung erzeugt. In solchen Fällen ist es ausreichend, diese Daten in den Validierungsbericht aufzunehmen.

### 6.3.4 Bewerten des Arbeitsbereichs von Geräten

Zwischen der Bestimmungsgrenze und dem oberen Arbeitsbereich des Messgeräts gehorcht die Antwort des Messgeräts einer bekannten Beziehung, z. B. linear, gekrümmt usw. Während der Validierung ist es erforderlich *i)* diese Beziehung zu bestätigen, *ii)* nachzuweisen, dass der Arbeitsbereich des Messgeräts kompatibel mit dem im Anwendungsbereich des Verfahrens angegebenen Intervall ist, und *iii)* zu verifizieren, ob das vorgeschlagene Kalibrierverfahren für das Messgerät (Einzelpunkt-Kalibrier-, Bracketing- oder Mehrpunkt-Kalibrierverfahren) angemessen ist.

Um den Arbeitsbereich des Messgeräts zu bewerten und dessen Eignung zu bestätigen, sollten Kalibriernormale mit einer Konzentrationsspanne, die den erwarteten Konzentrationsbereich um  $\pm 10\%$  oder sogar  $\pm 20\%$  übersteigt, untersucht und die Signale aufgetragen werden (siehe Kurzanleitung 5 Schritt 1). Für einen Bereich von 1 bis  $100 \text{ mg L}^{-1}$  bedeuten  $\pm 20\%$  einen Bereich von 0.8 bis  $120 \text{ mg L}^{-1}$ . Die ausgewählten Konzentrationen sollten gleichmäßig über den gesamten Bereich verteilt sein. Die erste Bewertung des Arbeitsbereichs erfolgt durch eine visuelle Prüfung der Responsekurve. Im nächsten Schritt erfolgt die Bestätigung der Beziehung zwischen Konzentration und Antwort des Messgeräts durch Überprüfung der Regressionsstatistik und der Darstellung der Reststreuung (Residuen-Plot) für das gewählte Modell (z. B. linear, quadratisch) (siehe Kurzanleitung 5 Schritt 2). Die Bewertung kann auch spezielle statistische Maßnahmen umfassen, wie zum Beispiel Tests zur 'Güte der Anpassung' (*Goodness of Fit Tests*) [56, 57]. Aus der Responsekurve und der unterstützenden Statistik, die über den Arbeitsbereich des Messgeräts erhalten werden, kann der Analytiker beurteilen, ob das im Verfahren angeführte vorgeschlagene Kalibrierverfahren angemessen ist. Dies wird durch die weiterführende Überprüfung des Arbeitsbereichs des Verfahrens bewertet.

<sup>6</sup> Im VIM wird der Begriff [7] 'measuring interval' oder 'working interval' [im

Deutschen Messbereich] verwendet

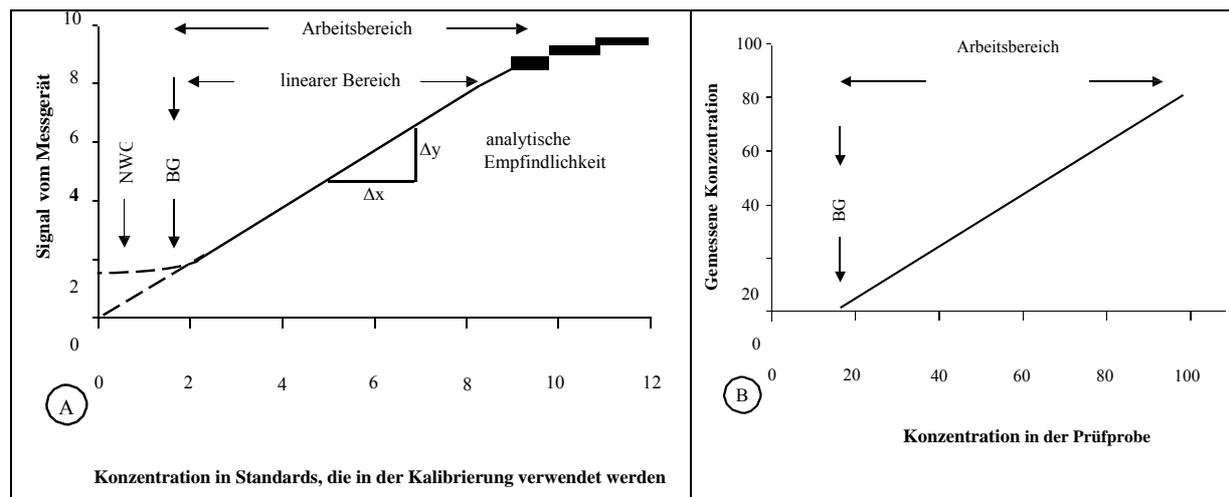


Abbildung 3 – A) Typisches Beispiel einer Responsekurve, die man mit einer instrumentellen Methode erhält. Die Leistungsparameter ‘Arbeitsbereich’, ‘linearer Bereich’, ‘analytische Sensitivität’, ‘Nachweisgrenze’ (NWG) und ‘Bestimmungsgrenze’ (BG) werden angegeben. B) Typisches Beispiel einer Kurve, die man mit einem Messverfahren erhält, bei welchem die Prüfprobenkonzentration gegen die gemessene Konzentration aufgetragen wird.

### 6.3.5 Bewerten des Arbeitsbereichs von Verfahren

Um den Arbeitsbereich des Verfahrens bewerten zu können, sollten 1) Proben mit bekannten Konzentrationen und Leerproben zur Verfügung stehen; 2) die verwendeten Proben das gesamte Messverfahren durchlaufen; 3) die Konzentrationen aus unterschiedlichen Proben vorzugsweise den gesamten interessierenden Bereich abdecken und 4) das Messgerät entsprechend dem vorgeschlagenen Kalibrierverfahren kalibriert worden sein. Das Messergebnis für jede Prüfprobe wird nach dem dokumentierten Verfahren berechnet (siehe Schritt 3 in der Kurzanleitung 5). Diese Werte werden auf der y-Achse gegen die bekannten Probenkonzentrationen (x-Achse) aufgetragen, wie in Abbildung 3B dargestellt.

Die Bewertung des Arbeitsbereichs des Verfahrens und der Linearität erfolgt durch visuelle Kontrolle der graphischen Darstellung, unterstützt durch Statistik und eine graphische Darstellung der Residuen aus einer linearen Regression.

Die Bewertung des Arbeitsbereichs wird durch Daten aus Studien zu Präzision und Bias (siehe Abschnitte 6.5.2 und 6.6.2.1) untermauert, vorausgesetzt, dass diese Studien Konzentrationen über den gesamten Arbeitsbereich des Verfahrens abdecken.

Der Arbeitsbereich des Verfahrens muss für jede Matrix, die vom Anwendungsbereich des Verfahrens erfasst wird, nachgewiesen werden. Dies ist so, weil Störungen nichtlineares Verhalten hervorrufen können, und die Fähigkeit des Verfahrens den Analyten zu extrahieren/wiederzufinden je nach Probenmatrix schwanken kann.

**Kurzanleitung 5 – Arbeitsbereich und linearer Bereich**

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/ermitteln	Anmerkungen
1) Blindprobe plus Kalibrierstandards messen, bei 6-10 Konzentrationen, gleichmäßig über den <i>interessierenden Bereich</i> verteilt.	1	Response (y-Achse) gegen Konzentration (x-Achse) auftragen.  Visuell prüfen, um den annähernd linearen Bereich sowie die obere und untere Grenze des Messbereichs des Gerätes zu bestimmen.  Dann weiter zu Punkt 2) gehen.	Dies zeigt an, ob der Arbeitsbereich des Messgerätes linear ist oder nicht.  Hinweis: Wenn das Signal nicht direkt proportional zur Konzentration ist, z. B. wenn mit pH- oder anderen ionenselektiven Elektroden oder immunometrischen Methoden gearbeitet wird, wird eine Transformation der Messwerte benötigt, bevor die Linearität bewertet werden kann.
2) Blindprobe plus Kalibrierstandards messen, 2-3 mal bei 6-10 Konzentrationen, gleichmäßig über den <i>linearen Bereich</i> verteilt.	1	Response (y-Achse) gegen Konzentration (x-Achse) graphisch darstellen. Ausreißer, die möglicherweise in der Regression nicht abgebildet werden, visuell ermitteln.  Geeignete Regressionsstatistik erstellen. Residuen (Differenz zwischen dem beobachteten y-Wert und dem berechneten y-Wert, vorhergesagt durch die Gerade für jeden x-Wert) berechnen und graphisch darstellen. Eine zufällige Verteilung von Residuen um Null bestätigt die Linearität. Systematische Trends zeigen Nicht-Linearität an oder eine Änderung der Varianz mit dem Gehalt.	Diese Stufe ist erforderlich, um einen Arbeitsbereich zu testen, der linear zu sein schien, und insbesondere dann, wenn in dem Verfahren eine Zwei-Punkt-Kalibrierung genutzt wird.  Ist die Standardabweichung proportional zur Konzentration, dann sollte erwogen werden, anstelle einer einfachen nicht-gewichteten linearen Regression eher eine gewichtete Regressionsberechnung zu verwenden. Es ist bedenklich, einen Ausreißer zu entfernen ohne vorherige Überprüfung mit weiteren Messungen bei nahegelegenen Konzentrationen. Unter bestimmten Umständen kann es für die Gerätekalibrierung besser sein zu versuchen, eine nichtlineare Kurve an die Daten anzupassen. Die Anzahl der Proben muss dann erhöht werden. Funktionen, die höher als quadratisch sind, werden in der Regel

3) Gerät gemäß dem vorgeschlagenen Kalibrierverfahren kalibrieren. Blindprobe plus Referenzmaterialien oder aufgestockte Leerproben messen - gemäß dem dokumentierten Verfahren – , 2-3 mal bei 6-10 Konzentrationen, gleichmäßig über den interessierenden Bereich verteilt.	1	Die gemessene Konzentration (y- Achse) gegen die Konzentration der Prüfproben (x-Achse) graphisch darstellen. Visuell auf den annähernd linearen Bereich prüfen sowie die obere und untere Grenze des Arbeitsbereichs identifizieren. Geeignete Regressionsstatistik erstellen. Residuen (Differenz zwischen beobachtetem y-Wert und errechnetem y-Wert, vorhergesagt durch die Gerade für jeden x-Wert) berechnen und graphisch darstellen. Die zufällige Verteilung der Residuen um Null bestätigt die Linearität. Systematische Trends zeigen Nicht-Linearität.	Dieser Schritt ist erforderlich, um zu beurteilen, ob der vorgeschlagene Gerätebereich und das vorgeschlagene Kalibrierverfahren geeignet sind.  Wenn Daten aus Studien zu Richtigkeit und Präzision, die den interessierenden Bereich abdecken, zur Verfügung stehen, dann kann eine separate Studie zum Arbeitsbereich eines Verfahren entfallen.
---	---	--	---

## 6.4 Analytische Empfindlichkeit

### 6.4.1 Definition

Die analytische Empfindlichkeit ist die Änderung des Geräte-Response, die mit der Änderung der Messgröße einhergeht (zum Beispiel eine Analytkonzentration), d. h. die Steigung der Response-Kurve [7, 18]. Die Voranstellung von 'analytisch' wird empfohlen, um Verwechslungen mit 'diagnostischer Empfindlichkeit' zu vermeiden, die in der Labormedizin verwendet wird [43]. Der Begriff 'Empfindlichkeit' wird manchmal verwendet, um auf die Nachweisgrenze zu verweisen; der VIM rät allerdings von dieser Verwendung ab.

### 6.4.2 Anwendungen

Die analytische Empfindlichkeit ist kein besonders wichtiges Leistungsmerkmal. Allerdings gibt es mindestens zwei sinnvolle Anwendungen:

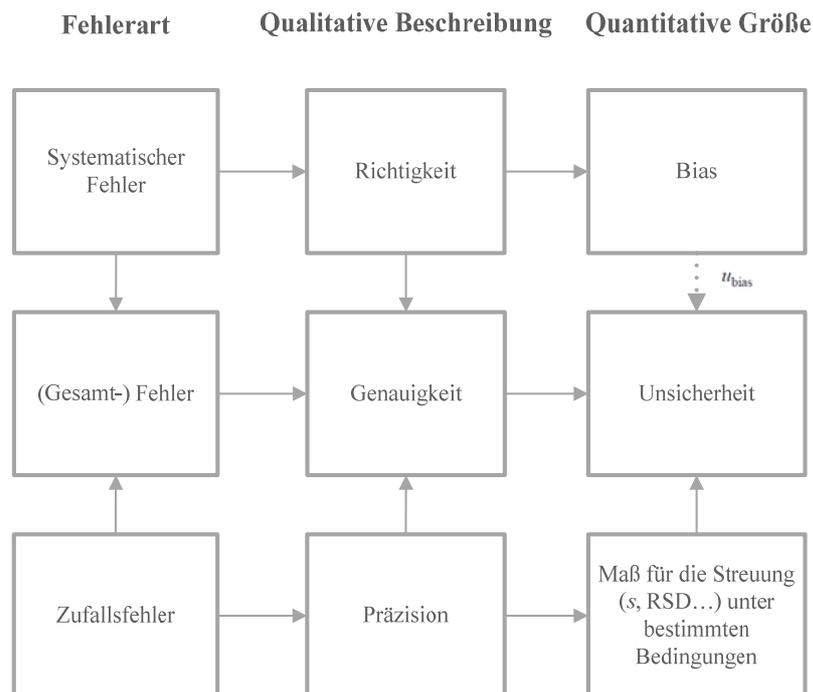
1. Die theoretische analytische Empfindlichkeit ist manchmal bekannt. Viele ionenselektive Elektroden zeigen ein Nernst-Verhalten, z. B. verändert sich das Signal einer gut funktionierenden Glaselektrode voraussichtlich mit 59 mV/pH.
2. In spektrophotometrischen Messsystemen kann die Absorption aus dem Lambert-Beer-Gesetz vorhergesagt werden.

Dies kann auch zur Prüfung der Leistungsfähigkeit des Gerätes genutzt werden, und Normen fordern manchmal die Durchführung einer solchen Prüfung [58].

## 6.5 Richtigkeit

### 6.5.1 Terminologie zur Beschreibung der Qualität von Messungen

In diesem Leitfaden werden die drei miteinander in Beziehung stehende Leistungsmerkmale *Richtigkeit*, *Präzision* und *Unsicherheit* verwendet, um die Qualität der mit einem Verfahren erzielten Ergebnisse zu beschreiben. Wissenschaftler verwenden jedoch häufig unterschiedliche Begriffe, wie zum Beispiel Fehlerarten (zufällige, systematische und grobe Fehler), Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) sowie Unsicherheit. Einige dieser Begriffe haben eine qualitative Bedeutung und andere sind quantitativ. Im Laufe der Jahre haben sich Begriffe sowie auch Definitionen geändert und neue Begriffe sind eingeführt worden. Darüber hinaus bevorzugen verschiedene Wirtschaftsbereiche noch unterschiedliche Begriffe, was zu viel Verwirrung führt. Abbildung 4 veranschaulicht die Verbindungen zwischen den Begriffen; weitere Einzelheiten finden sich im VIM [7] sowie im Eurachem Guide on Terminology [8].



**Abbildung 4 – Darstellung der Beziehungen zwischen einigen grundlegenden Begriffen zur Beschreibung der Qualität von Messergebnissen (basierend auf den Arbeiten von Menditto et al. [59]). Eine Unsicherheitsabschätzung nach GUM [21] setzt für ein bekanntes Bias eine Korrektur voraus und dass die Unsicherheit der Bias-Korrektur  $u_{\text{bias}}$  in der endgültigen Angabe der Unsicherheit enthalten ist. Dies wird durch den gestrichelten Pfeil unterhalb des Kastens 'Bias' angedeutet. Sowohl der Genauigkeitsbegriff als auch der Unsicherheitsbegriff gehen davon aus, dass die Messungen nach dem dokumentierten Verfahren durchgeführt werden und dass die Auswirkungen 'grober Fehler' nicht einbezogen sind.**

Die Mess-‘Genauigkeit’ drückt die Annäherung eines einzelnen Ergebnisses an einen Referenzwert aus [29, 48]. (genaue Definition siehe VIM 2.13). Die Verfahrensvalidierung soll die Genauigkeit der Ergebnisse untersuchen, indem sowohl systematische als auch zufällige Auswirkungen auf Einzelergebnisse bewertet werden. Die Genauigkeit wird daher in der Regel im Sinne zweier Komponenten untersucht: ‘Richtigkeit’ und ‘Präzision’. Darüber hinaus ist ein zunehmend verbreiteter Ausdruck für die Genauigkeit die ‘Messunsicherheit’, die einen einzigen Wert liefert. Die Bewertung der Richtigkeit wird weiter unten beschrieben, während Präzision in Abschnitt 6.6 und Unsicherheit in Abschnitt 6.7 erörtert werden.

Mess-‘Richtigkeit’ ist ein Ausdruck dafür, wie nahe der Mittelwert aus einer unendlichen Anzahl von (mit dem Verfahren erzielten) Ergebnissen einem Referenzwert ist. Da es nicht möglich ist, eine unendliche Anzahl von Messungen vorzunehmen, kann die Richtigkeit nicht gemessen werden. Man kann jedoch eine praktische Bewertung der Richtigkeit vornehmen. Diese Bewertung wird in der Regel quantitativ durch den ‘Bias’ ausgedrückt.

### 6.5.2 Bestimmung des Bias

Eine praktische Bestimmung des Bias erfolgt durch den Vergleich des Mittelwerts der Ergebnisse ( $\bar{x}$ ) aus dem zu überprüfenden Verfahren mit einem geeigneten Referenzwert ( $x_{\text{ref}}$ ). Es gibt drei allgemeine Ansätze: a) Analyse von Referenzmaterialien, b) Experimente zur Wiederfindung unter Verwendung aufgestockter Proben und c) Vergleich mit Ergebnissen, die mit anderen Verfahren erzielt wurden – siehe Kurzanleitung 6. Bias-Studien sollten den Anwendungsbereich des Verfahrens abdecken und können daher die Analyse verschiedener Probenarten und/oder unterschiedlicher Analytkonzentrationen erfordern. Um dies zu erreichen, kann eine Kombination dieser unterschiedlichen Ansätze erforderlich sein.

Der Bias kann in absoluten Zahlen ausgedrückt werden

$$b = \bar{x} - x_{\text{ref}} \quad (1)$$

oder relativ in Prozent

$$b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{\text{ref}}}{x_{\text{ref}}} \times 100 \quad (2)$$

oder als eine relative Wiederfindung

$$R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{\text{spike}}} \times 100 \quad (3)$$

<sup>7</sup> Der Referenzwert wird manchmal als ‚wahrer Wert‘ oder als ,

konventionell richtiger Wert‘ bezeichnet.

wobei  $\bar{x}'$  der Mittelwert der aufgestockten Probe und  $x_{spike}$  die zugesetzte Konzentration ist.

Jedoch kann in einigen Bereichen der analytischen Messungen auch die relative Wiederfindung ('scheinbare Wiederfindung') in Prozent verwendet werden [60].

$$R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} x \cdot 100 \quad (4)$$

Um den Bias unter Verwendung eines RM zu bestimmen, werden der Mittelwert und die Standardabweichung aus einer Reihe von Wiederholungsmessungen bestimmt und die Ergebnisse mit dem zugeordneten Eigenschaftswert des RM verglichen. Das ideale RM ist ein zertifiziertes Matrix-Referenzmaterial (ZRM) mit Eigenschaftswerten, die denen der interessierenden Prüfproben sehr nahekommen. ZRM werden üblicherweise zur Bereitstellung rückführbarer Werte [61, 62] anerkannt. Ferner ist es auch wichtig, im Auge zu behalten, dass ein bestimmtes RM während einer Validierungsstudie nur für einen Zweck verwendet werden sollte. Zum Beispiel sollte ein RM, das zur Kalibrierung verwendet wird, nicht auch zur Bewertung des Bias verwendet werden.

Im Vergleich zu der breiten Palette von Probenarten und Analyten, die man in Laboratorien antrifft, ist die Verfügbarkeit von RM begrenzt; wichtig ist aber, dass das gewählte Material *für die Verwendung geeignet ist*. Es kann notwendig sein zu berücksichtigen, wie das RM charakterisiert wurde, zum Beispiel, wenn das Verfahren zur Probenvorbereitung, das bei der Charakterisierung des Materials verwendet wurde, nicht die gesamte Analytkonzentration angeben soll, sondern die unter bestimmten Bedingungen extrahierte Menge. Für Arbeiten im gesetzlich geregelten Bereich sollte, soweit vorhanden, ein entsprechendes zertifiziertes Material verwendet werden, idealerweise an die Matrix angepasst. Für Verfahren, die für langfristige laborinterne Arbeiten verwendet werden, kann, um den Bias zu kontrollieren, ein stabiles laborinternes Material (Inhouse-Material) verwendet werden; bei der Anfangsbewertung sollte allerdings ein ZRM verwendet werden.

In Ermangelung geeigneter RM können Studien zur Wiederfindung (Experimente mit aufgestockten Materialien) benutzt werden, um einen Hinweis auf die wahrscheinliche Höhe des Bias zu geben. Analyten können in der Probe in einer Vielzahl

von Formen vorliegen, und manchmal sind für den Analytiker nur bestimmte Formen von Interesse. Das Verfahren kann somit bewusst so gestaltet werden, dass nur eine bestimmte Form des Analyten bestimmt werden kann. Ein Fehler bei der Bestimmung eines Teils oder des gesamten vorhandenen Analyten kann ein inhärentes Problem mit dem Verfahren widerspiegeln. Daher ist es notwendig, die Effizienz des Verfahrens zur Ermittlung des gesamten vorhandenen Analyten zu bewerten [60, 63].

Da normalerweise nicht bekannt ist, wieviel eines bestimmten Analyten in einer Prüfmenge vorhanden ist, ist es schwierig sicher zu sein, wie erfolgreich das Verfahren bei der Extraktion der Prüfmenge aus der Probenmatrix ist. Eine Möglichkeit, die Effizienz der Extraktion zu bestimmen, ist es, die Prüfmenge mit dem Analyten in verschiedenen Konzentrationen aufzustocken, dann die zugegebenen Prüfmengen zu extrahieren und die Analytkonzentration zu messen. Das Problem ist, dass der eingeführte Analyt wahrscheinlich nicht so stark gebunden sein wird wie der Analyt, der in der Matrix der Probe natürlicherweise vorhanden ist, und somit wird das Verfahren einen unrealistisch hohen Eindruck von der Effizienz der Extraktion vermitteln.

Man kann den Bias bewerten durch Vergleichen der Ergebnisse, die mit dem zu überprüfenden Verfahren ermittelt wurden, mit denen eines alternativen Verfahrens. Es gibt zwei Arten alternativer Verfahren – ein Referenzverfahren oder ein Verfahren, das sich gegenwärtig im Laboratorium im Routineeinsatz befindet. Ein Referenzverfahren soll einen 'anerkannten Referenzwert' für die zu messende Eigenschaft liefern und wird in der Regel Ergebnisse mit einer kleineren Unsicherheit als das zu überprüfende Verfahren liefern. Eine besondere Art des Referenzverfahrens ist ein Primärverfahren<sup>8</sup>. Der zweite Fall tritt ein, wenn die Validierung nachweisen soll, dass das zu überprüfende Verfahren Ergebnisse liefert, die gleichwertig sind zu einem bestehenden Verfahren. Hier ist es das Ziel festzustellen, dass es zu den Ergebnissen des bestehenden Verfahrens keinen signifikanten Bias gibt (obwohl dieses Verfahren selbst auch ein Bias haben kann).

In beiden Fällen werden die Ergebnisse des zu überprüfenden Verfahrens mit denen des alternativen Verfahrens verglichen, für dieselbe Probe bzw. dieselben Proben. Die Probe(n) kann/können im Laboratorium selbst hergestellte RM oder einfach typische Prüfproben sein.

<sup>8</sup> 'Primärverfahren': ein Verfahren mit den höchsten metrologischen Eigenschaften, dessen Durchführung vollständig beschrieben und verstanden wird unter Angabe von SI-Einheiten und dessen Ergebnisse ohne Bezug auf ein Normal für eine Größe gleicher Art akzeptiert wird

(CCQM). Der entsprechende Begriff im VIM (siehe 2.8 in [7]) ist 'Primärmessverfahren'.

Der Vorteil bei dieser Herangehensweise ist, dass die Materialien keine ZRM sein müssen, da das alternative Verfahren den Referenzwert liefert.

Das Verfahren kann deshalb an 'echten' Proben getestet werden, die repräsentativ für solche stehen, die routinemäßig im Laboratorium anfallen.

### Kurzanleitung 6 – Richtigkeit

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/ermitteln	Anmerkungen
a) RM unter Verwendung des zu untersuchenden Verfahrens messen.	10	Mittelwert $\bar{x}$ mit dem Referenzwert $x_{ref}$ für das RM vergleichen. Bias $b$ , prozentualen relativen Bias $b(\%)$ bzw. relative prozentuale Wiederfindung (scheinbare Wiederfindung) berechnen. $b = \bar{x} - x_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$ $R'(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$	Liefert ein Maß für das Bias, der sowohl die Wirkung des Verfahrens als auch den Labor-Bias berücksichtigt.
b) Leerproben oder Prüfproben, nicht aufgestockt und mit dem interessierenden Analyten aufgestockt, über einen breiten Konzentrationsbereich messen.	10	Differenz zwischen dem Mittelwert $\bar{x}'$ der aufgestockten Probe und dem Mittelwert $\bar{x}$ mit der zugesetzten Konzentration $x_{spike}$ vergleichen. Die relative Wiederfindung $R'(\%)$ der Aufstockung bei den verschiedenen Konzentrationen berechnen: $R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{spike}} \times 100$	Die aufgestockten Proben sollten mit derselben nicht aufgestockten Probe verglichen werden, um die Wiederfindung der zugesetzten Aufstockung zu bewerten.  Wiederfindungen aus aufgestockten Proben oder Leerproben sind gewöhnlich besser als die für Routineproben, bei denen der Analyt stärker gebunden ist.
c) RM/Prüfprobe unter Verwendung des zu untersuchenden Verfahrens und des Alternativverfahrens messen.	10	Mittelwert $\bar{x}$ mit dem Mittelwert $\bar{x}_{ref}$ aus Messungen unter Verwendung des Alternativverfahrens vergleichen. Den Bias $b$ oder den prozentualen relativen Bias $b(\%)$ oder die relative prozentuale Wiederfindung (scheinbare Wiederfindung) berechnen. $b = \bar{x} - \bar{x}_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{x} - \bar{x}_{ref}}{\bar{x}_{ref}} \times 100$ $R'(\%) = \frac{\bar{x}}{\bar{x}_{ref}} \times 100$	Liefert ein Maß für den Bias gegenüber dem Alternativverfahren. Das Alternativverfahren kann ein Referenzverfahren sein oder, falls ein Verfahren durch ein anderes ersetzt werden soll und ein Bedarf besteht, gleichwertige Leistungsfähigkeit nachzuweisen, ein Verfahren, das derzeit im Laboratorium zum Einsatz kommt.  Das Alternativverfahren kann selbst eine systematische Abweichung haben; in diesem Fall liefert das Experiment kein absolutes Maß für die Richtigkeit.
ANMERKUNG Der Bias kann je nach Matrix und Konzentrationsgehalt variieren, was bedeutet, dass die Anzahl der Matrices und die zu überprüfenden Konzentrationsgehalte im Validierungsplan angegeben werden müssen.			

### 6.5.3 Interpretation von Bias-Messungen

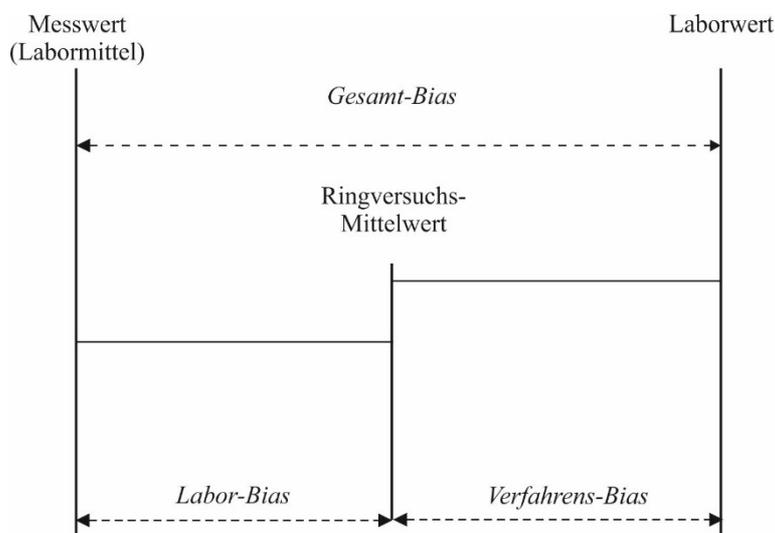
Abbildung 5 zeigt zwei Bias-Komponenten, hier als ‘Verfahrens-Bias’ und ‘Labor-Bias’ bezeichnet.

Der Verfahrens-Bias ergibt sich aus systematischen Fehlern, die dem Verfahren innewohnen, unabhängig davon, welches Laboratorium es verwendet. Der Labor-Bias ergibt sich aus zusätzlichen systematischen Fehlern, die für das Laboratorium und dessen Verfahrensinterpretation spezifisch sind. Für sich genommen kann ein Laboratorium nur den kombinierten (gesamten) Bias aus diesen beiden Quellen schätzen. Allerdings ist es bei der Prüfung des Bias wichtig, sich der für den jeweiligen Zweck geltenden Konventionen bewusst zu sein. Zum Beispiel werden für einige Anwendungen im Lebensmittelbereich Grenzwerte in Bezug auf die Ergebnisse festgelegt, die mit dem vorgeschriebenen Konventions-Normverfahren erzielt werden. Der Verfahrens-Bias ist für (‘empirische’) Konventionsmessverfahren per Definition Null. Der Bias-Anteil, der ausschließlich aus dem jeweiligen Verfahren (siehe Abbildung 5) resultiert, wird dann ignoriert; und die metrologische Vergleichbarkeit mit anderen Laboratorien, die dasselbe Verfahren verwenden, ist das Hauptanliegen. In dieser Situation sollte das Laboratorium idealerweise den Bias durch Verwendung eines Referenzmaterials bestimmen, das mit Hilfe des zu validierenden vorgeschriebenen Konventionsverfahrens zertifiziert wurde, wobei in diesem Fall die übliche Anleitung zur Überprüfung und Interpretation des Bias gilt. Wo ein solches Material nicht zur Verfügung steht oder um weitere Informationen zu erhalten, kann das Laboratorium alternative

Materialien verwenden, sollte dann aber dafür sorgen, dass alle bekannten Unterschiede zwischen dem zu untersuchenden Verfahren und dem/den Verfahren, das/die verwendet wurde/wurden, um den Referenzwert zu erhalten, berücksichtigt werden, wenn sie die Ergebnisse interpretieren.

Um eine bestimmte analytische Anforderung zu erfüllen, kann derselbe Analyt mit mehreren verschiedenen Messgeräten an vielen Standorten innerhalb derselben Organisation gemessen werden. In diesem Fall ergeben sich innerhalb der Organisation zahlreiche und komplexe Bias-Quellen. In dieser üblichen und komplexen Situation kann die Organisation ein Verfahren zur Schätzung einer repräsentativen Unsicherheit für alle Standorte/Instrumente für jede Anwendung festlegen. Dabei sollten vorzugsweise Materialien mit denselben Eigenschaften, einschließlich der Probenmatrix, verwendet werden, wie sie die zur Messung vorgesehenen Proben aufweisen. Varianzanalyse kann verwendet werden, um die wichtigsten Ursachen der Variabilität zu identifizieren, die zur gesamten Messunsicherheit beitragen. Dies erlaubt dann Folgemaßnahmen zur Minderung der Unterschiede innerhalb der Organisation.

In den meisten Fällen sollte über die Akzeptanz des Bias jedoch auf der Grundlage des Gesamtbias, gemessen an geeigneten RM, aufgestockten Materialien oder Referenzverfahren, entschieden werden, wobei die Präzision des Verfahrens und jegliche Unsicherheiten in den Referenzwerten und die für den Endzweck geforderte Genauigkeit berücksichtigt werden. Empfohlen werden statistische Signifikanztests [64, 65].



**Abbildung 5 – Der gemessene Gesamt-Bias setzt sich zusammen aus dem Verfahrens-Bias und dem Labor-Bias. Anmerkung: Die hier gezeigten Labor- und Verfahrensbias haben dieselbe Richtung. In der Realität ist dies nicht immer der Fall.**

## 6.6 Präzision

### 6.6.1 Wiederholung

Die Wiederholung ist von wesentlicher Bedeutung für eine zuverlässige Schätzung der Leistungsmerkmale des Verfahrens, wie z. B. Präzision und Bias. Experimente mit Wiederholungsanalysen sollten so beschaffen sein, dass alle Variationen unter Betriebsbedingungen berücksichtigt werden, die während der routinemäßigen Anwendung des Verfahrens zu erwarten sind. Ziel sollte sein, die typische Variabilität und nicht die minimale Variabilität zu bestimmen.

### 6.6.2 Präzisionsbedingungen

Präzision (Messpräzision) ist ein Maß dafür, wie nahe Ergebnisse beieinanderliegen [7, 29]. Gewöhnlich wird sie durch statistische Parameter ausgedrückt, die die Streuung der Ergebnisse beschreiben, typischerweise die Standardabweichung (bzw. relative Standardabweichung), die aus den Ergebnissen berechnet wird, die während der Wiederholungsmessungen an einem geeigneten Material unter spezifischen Bedingungen erzielt werden. Über die ‚spezifischen Bedingungen‘ zu entscheiden ist ein wichtiger Aspekt bei der Ermittlung der Messpräzision – die Bedingungen bestimmen den Typ der Präzision, die geschätzt wurde.

‘Wiederholpräzision’ und ‘erweiterte Vergleichpräzision’ stellen die beiden Extremmaße dar, die für die Präzision erzielt werden können. Die Dokumentation standardisierter Verfahren (z. B. von ISO) enthält in der Regel, soweit anwendbar, Daten sowohl zur Wiederholpräzision als auch zur erweiterten Vergleichpräzision.

Die Wiederholpräzision, von der die kleinste Variation bei den Ergebnissen erwartet wird, ist ein Maß für die Variabilität der Ergebnisse bei der Durchführung von Messungen durch einen einzelnen Analytiker mit derselben Ausrüstung über einen kurzen Zeitraum<sup>9</sup>.

Die erweiterte Vergleichpräzision, von der die größte Variation bei den Ergebnissen erwartet wird, ist ein Maß für die Variabilität der Ergebnisse zwischen Laboratorien<sup>10</sup>.

Zwischen diesen beiden Extremen liefert die ‚Vergleichpräzision‘ (Präzision unter Zwischenbedingungen) einen Schätzwert der Variation der Ergebnisse, wenn Messungen in einem Einzellabor erfolgten, aber unter Bedingungen, die variabler sind als Wiederholbedingungen. In jedem Fall sollten die genauen Bedingungen, die verwendet wurden, angegeben werden. Ziel ist es, einen Schätzwert der Präzision zu erhalten, der alle Quellen der Variation widerspiegelt, die in einem Einzellaboratorium unter Routinebedingungen vorkommen (verschiedene Analytiker, verlängerte Fristen, verschiedene Geräte usw.).<sup>11</sup>

#### 6.6.2.1 Schätzwerte für die Präzision – allgemeine Aspekte

Die Präzision hängt im Allgemeinen von der Analytkonzentration ab; und so sollte sie bei mehreren Konzentrationen über den gesamten interessierenden Bereich bestimmt werden. Dies könnte eine besonders interessierende Konzentration beinhalten (wie z. B. ein gesetzlicher Grenzwert) sowie Konzentrationen an den Grenzen des Messintervalls. Die Beziehung zwischen der Präzision und der Analytkonzentration sollte ggf. ermittelt werden. In Fällen, in denen die gemessene Konzentration deutlich über der Nachweisgrenze liegt, ist die Präzision häufig proportional zur Analytkonzentration. In solchen Fällen kann es zweckmäßiger sein, die Präzision als relative Standardabweichung auszudrücken, da diese dann über den gesamten interessierenden Bereich in etwa konstant ist.

Bei qualitativen Verfahren kann die Präzision nicht als Standardabweichung oder relative Standardabweichung ausgedrückt werden, aber als wahr- und falsch-positive (und negative) Werte [55] (siehe Abschnitt 6.2.6).

Die Bewertung der Präzision erfordert eine ausreichende Anzahl an Wiederholungsmessungen an geeigneten Materialien.

<sup>9</sup> Wiederholbarkeit wird manchmal als ‘Präzision innerhalb einer Serie/eines Durchlaufs von Messungen’, ‘innerhalb einer Charge’ oder als ‘Intra-Assay’-Präzision bezeichnet.

<sup>10</sup> In der Validierung bezeichnet die erweiterte Vergleichpräzision die Variation zwischen Laboratorien, die dasselbe Verfahren verwenden. Die erweiterte Vergleichpräzision kann sich auch auf die Variation beziehen, die zwischen Laboratorien beobachtet wird, die verschiedene Verfahren verwenden,

aber beabsichtigen, dieselbe Größe zu messen [7].

<sup>11</sup> Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) wird manchmal bezeichnet als ‘laborinterne Vergleichpräzision’, ‘Abweichungen/Schwankungen zwischen den Analysenserien’, ‘Variation zwischen den Chargen/Messwertreihen’ oder ‘Inter-Assay-Variation’.

Die Materialien sollten in Bezug auf Matrix und Analytkonzentration, Homogenität und Stabilität repräsentativ sein für Prüfproben, müssen aber keine ZRM sein. Die Wiederholungen sollten auch unabhängig sein, d. h. der gesamte Messprozess einschließlich etwaiger Probenvorbereitungsschritte sollte wiederholt werden. Die minimale Anzahl von angegebenen Wiederholungen variiert bei verschiedenen Regelwerken, liegt aber typischerweise für jedes in der Studie verwendete Material zwischen 6 und 15.

Man sollte beachten, dass es schwierig ist, eine Standardabweichung von Datensätzen mit nur wenigen Wiederholungen zuverlässig zu schätzen. Evtl. können die Werte, die aus mehreren kleinen Reihen von Wiederholungsmessungen berechnet werden, kombiniert (gepoolt) werden, um so Schätzungen mit ausreichenden Freiheitsgraden zu erhalten.

Bestimmte experimentelle Modelle, die mittels der Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet werden, sind eine effiziente Möglichkeit, Schätzwerte für die Wiederholpräzision und die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) mit einer geeigneten Anzahl von Freiheitsgraden (zur weiteren Erläuterung dieses Ansatzes siehe Abschnitt 6.6.4 und Anhang C) zu erhalten. Siehe Kurzanleitung 7 zu Informationen zu Experimenten für die Bewertung der Präzision.

### 6.6.3 Präzisionsgrenzen

Es ist sinnvoll, aus der Standardabweichung  $s$  eine 'Präzisionsgrenze' [29, 48] zu berechnen. Dadurch kann der Analytiker entscheiden, ob es bei einem festgelegten Vertrauensniveau einen signifikanten Unterschied zwischen den Ergebnissen aus Doppelanalysen von Proben gibt, die unter festgelegten Bedingungen erzielt wurden. Die Wiederholgrenze ( $r$ ) wird wie folgt berechnet:

$$r = \sqrt{2} \times t \times s_r \quad (5)$$

wobei der Faktor  $\sqrt{2}$  den Unterschied zwischen zwei Messungen widerspiegelt,  $t$  ist der zweiseitige Student  $t$ -Wert für eine festgelegte Anzahl an Freiheitsgraden (aus der Schätzung von  $s_r$ ) und bei dem benötigten Vertrauensniveau.

Bei einer relativ großen Anzahl von Freiheitsgraden mit  $t \approx 2$  bei einem Vertrauensniveau von 95% wird die Wiederholgrenze oft näherungsweise wie folgt berechnet:

$$r = 2,8 \times s_r \quad (6)$$

Die Präzisionsgrenze unter Zwischenbedingungen und die erweiterte Vergleichgrenze ( $R$ ) werden ähnlich berechnet, wobei  $s_r$  durch  $s_I$  bzw.  $s_R$  entsprechend ersetzt wird.

Die Dokumentation von Normverfahren (z. B. von ISO) enthalten, soweit möglich, in der Regel Daten sowohl für die Wiederholgrenze als auch für die erweiterte Vergleichgrenze.

### 6.6.4 Gleichzeitige Bestimmung der Wiederholpräzision und der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen)

Ansätze zur gleichzeitigen Bestimmung der Wiederholpräzision und der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) sind in ISO 5725-3 [29] beschrieben. Darüber hinaus bietet ein Ansatz, der auf den Harmonisierten Richtlinien zur Validierung von Analyseverfahren [12] für Einzellaboratorien basiert, die Möglichkeit, die Wiederholpräzision und die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) aus einer einzelnen Studie zu bestimmen. Teilproben des ausgewählten Prüfmaterials werden mehrfach unter Wiederholbedingungen in zahlreichen unterschiedlichen Durchläufen mit einer maximalen Variation an Bedingungen zwischen den Durchläufen (verschiedene Tage, verschiedene Analytiker, verschiedene Geräte usw.) analysiert. Über eine einfache ANOVA [5, 6] kann die Wiederholpräzision als eine Präzision innerhalb der Gruppe berechnet werden, während die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) als die Quadratwurzel aus der Summe der Quadrate der Präzision innerhalb der Gruppe und derjenigen zwischen den Gruppen berechnet wird. Diese Art der Ausführung ermöglicht es auf effiziente Weise, ausreichende Freiheitsgrade für Schätzwerte der Wiederholpräzision und der Präzision zwischen den Gruppen zu erhalten. Beispielsweise führen 8 Gruppen von 2 Wiederholversuchen zu 8 und 7 Freiheitsgraden für die Schätzwerte der Wiederholpräzision bzw. der Präzision zwischen den Durchläufen. Weiteres dazu im Anhang C.

**Kurzanleitung 7 – Wiederpräzision, Präzision unter Zwischenbedingungen und erweiterte Vergleichpräzision**

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/ermitteln	Anmerkungen
RM, überschüssige Prüfproben oder aufgestockte Leerproben mit unterschiedlichen Konzentrationen über den gesamten Arbeitsbereich messen. Wiederholpräzision und Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) können aus verschiedenen Studien (siehe a) und b) unten) oder gleichzeitig in einer Einzelstudie (siehe c) unten bestimmt			
a) Derselbe Analytiker und dieselben Geräte, dasselbe Laboratorium, kurzer Zeitraum.	6-15 Wiederholungen für jedes Material.	Standardabweichung ( $s$ ) der Ergebnisse für jedes Material bestimmen.	Schätzwerte für die Standardabweichung $s_r$ der Wiederholpräzision für jedes Material. <sup>a</sup>
b) Verschiedene Analytiker und Geräte, dasselbe Laboratorium, verlängerter Zeitraum.	6-15 Wiederholungen für jedes Material.	Standardabweichung ( $s$ ) der Ergebnisse für jedes Material bestimmen.	Schätzwerte für die Standardabweichung $s_r$ der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) für jedes Material. <sup>a</sup>
c) Verschiedene Analytiker und Geräte, dasselbe Laboratorium, verlängerter Zeitraum.	6-15 Gruppen doppelter Messungen <sup>b</sup> unter Wiederholbedingungen an verschiedenen Tagen/Geräten für jedes Material.	Standardabweichung für die Wiederholpräzision aus ANOVA-Ergebnissen für jedes Material berechnen. Standardabweichung aus ANOVA-Ergebnissen zwischen den Gruppen berechnen und mit der Standardabweichung für die Wiederholpräzision für jedes Material kombinieren.	Schätzwerte für die Standardabweichung der Wiederholpräzision $s_r$ für jedes Material. Schätzwerte für die Standardabweichung $s_r$ der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) für jedes Material.
d) Verschiedene Analytiker und Geräte, verschiedene Laboratorien, verlängerter Zeitraum.	6-15 Gruppen doppelter Messungen <sup>b</sup> unter Wiederholbedingungen in verschiedenen Laboratorien für jedes Material.	Standardabweichung für die Wiederholpräzision aus ANOVA-Ergebnissen für jedes Material berechnen. Standardabweichung aus ANOVA-Ergebnissen zwischen den Laboratorien berechnen und mit der Standardabweichung für die Wiederholpräzision für jedes Material kombinieren.	Schätzwerte für die Standardabweichung der Wiederholpräzision $s_r$ für jedes Material. Schätzwerte für die Standardabweichung $s_R$ der erweiterten Vergleichpräzision für jedes Material. Dies macht einen speziellen Ringversuch ('collaborative trial') erforderlich.
<sup>a</sup> Eine Standardabweichung für die Wiederholpräzision kann auch geschätzt werden durch Poolen mehrerer kleiner Datensätze von verschiedenen Tagen, z. B. $n = 2$ . <sup>b</sup> Doppelmessungen innerhalb jeder Gruppe ergeben eine ausgewogene Anzahl an Freiheitsgraden für die Schätzwerte der Standardabweichungen innerhalb der Gruppe und zwischen den Gruppen. Eine steigende Anzahl von Wiederholungen pro Gruppe erhöht die Anzahl der Freiheitsgrade für die Schätzung der Wiederholpräzision.			

## 6.7 Messunsicherheit

Eine ausführliche Diskussion der (Mess-) Unsicherheit geht über den Rahmen dieses Leitfadens hinaus; detailliertere Informationen können aber an anderer Stelle [21, 22] gefunden werden. Die Unsicherheit ist ein Intervall, das einem Messergebnis beigeordnet ist und das den Wertebereich ausdrückt, der der gemessenen Größe vernünftigerweise zugeschrieben wird. Eine Schätzung der Unsicherheit sollte *alle erkannten Effekte*, die auf das Ergebnis wirken, berücksichtigen. Alle mit einem Effekt verbundenen Unsicherheiten werden nach festgelegten Verfahren zusammengefasst.

Es werden verschiedene Ansätze beschrieben, um Schätzwerte für eine Unsicherheit aus Ergebnissen chemischer Messungen zu erhalten [22, 66, 67, 68]. Diese berücksichtigen:

- die Langzeit-Präzision des Verfahrens im Ganzen (d. h. die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) bzw. die erweiterte Vergleichpräzision);
- den Bias und dessen Unsicherheit, einschließlich der statistischen Unsicherheit bezogen auf die Bias-Messungen, und die Unsicherheit des Referenzwertes [69, 70, 71, 72, 73];
- die Gerätekalibrierung. Unsicherheiten im Zusammenhang mit der Kalibrierung von Geräten, wie z. B. Waagen, Thermometer, Pipetten und Glaskolben sind oft vernachlässigbar klein im Vergleich zur Gesamtpräzision und der Unsicherheit im Bias. Wenn dies verifiziert werden kann, dann müssen die Kalibrierunsicherheiten nicht in die Schätzwerte der Unsicherheit mit einbezogen werden;
- jegliche signifikanten Effekte zusätzlich zum oben Erwähnten. Zum Beispiel können nach dem Verfahren zulässige Temperatur- oder Zeitbereiche nicht in vollem Umfang in Validierungsstudien übernommen worden sein, und es kann sein, dass deren Effekt hinzugefügt werden muss. Solche Effekte können sinnvollerweise durch Robustheitsstudien (siehe Abschnitt 6.8) oder durch ähnliche Studien, die die Stärke eines Effekts auf das Ergebnis feststellen, quantifiziert werden.

Dort wo der Beitrag einzelner Effekte wichtig ist, beispielsweise in Kalibrierlaboratorien, ist es notwendig, die einzelnen Beiträge von allen einzelnen Effekten separat zu betrachten.

Es ist zu beachten, dass, vorbehaltlich der zusätzlichen Berücksichtigung von Effekten außerhalb der Ringversuchs-Studie, die Standardabweichung der erweiterten Vergleichpräzision einen vorläufigen Schätzwert der kombinierten Standardunsicherheit bildet, vorausgesetzt, der an den entsprechenden Materialien gemessene Laborbias ist klein im Vergleich zur Standardabweichung der erweiterten Vergleichpräzision, die hausinterne Wiederholpräzision ist vergleichbar mit der Wiederholpräzision des Normverfahrens, und die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) des Labors ist nicht größer als die veröffentlichte erweiterte Vergleichpräzision der Standardabweichung [67].

## 6.8 Robustheit

### 6.8.1 Definition

Die 'Robustheit' eines analytischen Verfahrens ist "ein Maß für dessen Fähigkeit, von kleinen, aber absichtlichen Veränderungen der Verfahrensparameter unberührt zu bleiben. Die Robustheit liefert einen Hinweis auf die Zuverlässigkeit des Verfahrens unter normalen Einsatzbedingungen" [13].

### 6.8.2 Robustheitstest

Bei jedem Verfahren gibt es bestimmte Phasen, die, wenn sie nicht sorgfältig genug durchgeführt werden, einen erheblichen Effekt auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens haben und sogar zur Folge haben können, dass das Verfahren überhaupt nicht funktioniert. Diese Phasen sollten in der Regel bei der Verfahrensentwicklung identifiziert und ihr Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens möglichst durch einen 'Robustheitstest' bewertet werden. Die AOAC<sup>12</sup> hat diesen Begriff definiert und beschreibt eine bewährte Verfahrensweise, wie ein solcher Test unter Verwendung eines experimentellen Designs nach Plackett-Burman durchzuführen ist [74].

In einem 'Robustheitstest' werden absichtliche Veränderungen an dem Verfahren vorgenommen und die daraus folgenden Effekte auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens untersucht.<sup>13</sup> Es ist dann möglich, die Variablen, die die signifikantesten Effekte haben, in dem Verfahren zu identifizieren und sicher zu stellen, dass diese beim Einsatz des Verfahrens streng kontrolliert werden. Wenn eine Weiterentwicklung des Verfahrens erforderlich ist, können Verbesserungen vermutlich durch den Fokus auf die bekannt kritischen Teile des Verfahrens erreicht werden.

<sup>12</sup> Association of Official Analytical Chemists

<sup>13</sup> Gewöhnlich wird der Effekt auf die Messgröße untersucht; aber

alternativ dazu kann auch der Effekt auf einen experimentellen Parameter untersucht werden, z. B. die Peakauflösung in einem Chromatogramm.

Die Robustheit eines Verfahrens muss für Hausverfahren bestimmt werden, die auf der Grundlage wissenschaftlicher Literatur entwickelt wurden und für Normverfahren, die außerhalb des Bereichs, der im Normverfahren angegeben ist, angewandt werden. Wenn Normverfahren innerhalb des Geltungsbereichs des Verfahrens angewandt werden, ist die Robustheit in der Regel als

Teil des Normungsprozesses untersucht worden. Deshalb ist eine Robustheitsstudie auf der Ebene einzelner Laboratorien in den meisten Fällen nicht erforderlich. Informationen über die Robustheit sollten im laboreigenen Verfahren für die kritischen experimentellen Parameter in Form von Toleranzgrenzen angegeben werden (Siehe Beispiel 5 und Kurzanleitung 8).

**Beispiel 5** – Auszüge aus ISO 11732 [58]. Die Anweisungen kennzeichnen die Kritikalität einiger experimenteller Parameter.

- $\text{NH}_4\text{Cl}$  bei  $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.
- Die angegebenen Massen können reduziert werden (z. B. um ein Zehntel).
- Die Lösung ist, bei Raumtemperatur in einer Kunststoffflasche (Polyethylen) aufbewahrt, einen Monat haltbar.
- Die Extinktion dieser Lösung sollte 0,3 – 0,5 betragen.
- Die Lösung membranfiltrieren und entgasen, in das Reagenzienreservoir füllen und dort mindestens 2 h stehen lassen.
- Diese Lösung ist, im Kühlschrank aufbewahrt, bis zu einer Woche haltbar.
- Zur Probenahme eignen sich Gefäße aus Glas, Polyalken und Polytetrafluorethen (PTFE).
- Ausnahmsweise ist nach Ansäuern und Membranfiltration der Proben eine Lagerung bis zwei Wochen möglich.

#### Kurzanleitung 8 – Robustheit

Was ist zu tun	Wie oft	Was ist aus den Daten zu berechnen/ermitteln	Anmerkungen
<p>Variablen identifizieren, die einen signifikanten Effekt auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens haben könnten.</p> <p>Experimente (Analysieren von RM oder Prüfproben) durchführen, um die Effekte systematisch veränderter Variablen auf die Messergebnisse feststellen zu können.</p>	<p>Wirkungsvollste Bewertung mittels experimenteller Modelle</p> <p>Z. B. können 7 Parameter in 8 Experimenten durch Verwendung des Plackett-Burman Modells untersucht werden [74].</p>	<p>Effekt jeder Veränderung einer Bedingung auf die Messergebnisse bestimmen.</p> <p>Eine Rangfolge der Variablen mit dem größten Effekt auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens ermitteln.</p> <p>Signifikanztests durchführen, um zu ermitteln, ob die beobachteten Effekte statistisch signifikant sind.</p>	<p>Qualitätskontrolle so gestalten oder das Verfahren so modifizieren, dass die kritischen Variablen kontrolliert werden, z. B. durch Angabe geeigneter Toleranzgrenzen in den Standardarbeitsanweisungen.</p>

## 7 Einsatz validierter Verfahren

Bei der Verwendung des Verfahrens eines anderen, egal ob es sich dabei um ein Verfahren, das an anderer Stelle im Laboratorium entwickelt wurde, ein veröffentlichtes Verfahren oder gar ein Norm- oder gesetzlich vorgeschriebenes Verfahren handelt, ergeben sich zwei Fragen, die berücksichtigt werden müssen:

Erstens: Reichen die bestehenden Validierungsdaten für den beabsichtigten Zweck aus oder ist eine weitere Validierung notwendig? Es sollte beachtet werden, dass zusätzlich zu der Menge an bereitgestellten Informationen über die Leistungsfähigkeit des Verfahrens die Zuverlässigkeit der Quellen der Validierungsdaten auch ein Thema ist. Daten aus Ringversuchsstudien oder von anerkannten Normungsorganisationen werden in der Regel als zuverlässig betrachtet; weniger zuverlässig sind Daten, die nur in wissenschaftlicher Literatur veröffentlicht wurden, oder solche, die von Herstellern von Geräten und/oder Reagenzien zur Verfügung gestellt wurden. Zweitens: Wenn die vorhandenen Validierungsdaten angemessen sind, ist das Laboratorium dann in der Lage, die möglicherweise im Verfahren behauptete Leistungsfähigkeit zu verifizieren? (Siehe Abschnitt 2.2). Sind die verfügbaren Geräte und Einrichtungen angemessen? Wenn das Verfahren in umfangreichen Tests unter allen extremen Betriebsbedingungen validiert worden ist, dann wird ein neuer kompetenter Analytiker wahrscheinlich zufriedenstellend innerhalb der vorhandenen Leistungsdaten arbeiten. Dies sollte jedoch immer zumindest kontrolliert werden. Wenn ein Normverfahren innerhalb seines Anwendungsbereichs eingesetzt wird, sollte es in der Regel genügen zu kontrollieren, ob der Analytiker die angegebene Wiederholpräzision erreichen kann und auf etwaigen Bias zu prüfen. Dies wird weiter unten detaillierter behandelt.

Normverfahren werden gewöhnlich mit irgendeiner Form von Ringversuchen erstellt und Normungsgremien, die häufig Normen erstellen, verfügen über Statistikexperten, die dazu beitragen sicherzustellen, dass Validierungsstudien sorgfältig geplant, durchgeführt und bewertet werden. Die Norm ISO 5725 [29] beschreibt ein Modell, das als Grundlage für Ringversuche zur Verfahrensvalidierung dienen sollte, um zuverlässige Informationen über die Leistungsfähigkeit der Verfahren bereit zu stellen. Dieses Modell wird zunehmend angewandt, aber nicht alle Normverfahren sind ihm unterzogen worden. Es wäre gefährlich anzunehmen, dass alle Normverfahren korrekt validiert worden sind, und es liegt in der Verantwortung des

Analytikers zu prüfen, ob die über die Leistungsfähigkeit des Verfahrens zur Verfügung gestellten Informationen angemessen sind oder nicht.

Ebenso wird oft angenommen, dass Normverfahren ‚sofort einsatzbereit‘ verwendet werden können und die veröffentlichten Leistungsdaten sofort erzielt werden, wer auch immer das Verfahren einsetzt. Dies ist keine sichere Annahme. Selbst diejenigen, die mit dem entsprechenden Bereich der Chemie, welcher von dem Verfahren abgedeckt wird, vertraut oder darin Experte sind, müssen üben, bevor sie es vollständig beherrschen.

Um sicherzustellen, dass eine akzeptable Leistung erreicht wird, werden bei der Verwendung validierter Verfahren (oder eigentlich bei jedem Verfahren) die folgenden Regeln empfohlen:

1. Erstens sollte der Analytiker vor dem erstmaligen Einsatz eines neuen Verfahrens vollständig mit diesem vertraut sein. Im Idealfall wird das Verfahren dem Analytiker von jemandem demonstriert, der bereits Experte in seiner Anwendung ist. Anfangs sollte der Analytiker es dann unter strenger Aufsicht verwenden. Das Ausmaß der Beaufsichtigung wird dann zurückgefahren, bis der Analytiker als ausreichend kompetent erachtet wird ‚es allein zu verwenden‘. Zum Beispiel könnte die Kompetenz im Hinblick auf die Fähigkeit des Analytikers, das in dem Verfahren angegebene Leistungsniveau zu erreichen, festgelegt werden, wie beispielsweise die Wiederholpräzision, die Nachweisgrenze usw. Dies ist typisch dafür, wie jemand in der Anwendung eines neuen Verfahrens geschult werden könnte. Schulungsverfahren für Laboratorien werden häufig in dieser Weise mit objektiven Überprüfungen gestaltet, um die Kompetenz während des Trainings in Abständen zu prüfen. In jedem Fall sollte sich der Analytiker in das Verfahren eingeleitet haben und sich mit der hinter den Messungen stehenden Theorie vertraut gemacht haben, im Geiste die verschiedenen Stadien üben, Punkte, an denen Unterbrechungen vorgenommen werden können, sowie Bereiche des Prozesses identifizieren, wo der Analytiker zu ununterbrochener Arbeit verpflichtet ist. Wo Reagenzlösungen vorbereitet werden müssen: wie stabil sind diese, nachdem sie einmal vorbereitet wurden? Müssen sie im Voraus zubereitet werden? Ein klassischer Fallstrick ist es, mehrere Stunden damit zuzubringen, eine Reihe von Proben vorzubereiten und dann herauszufinden, dass die Vorbereitung für die Reagenzlösung zu finden, die für die nächste Arbeitsstufe

gebraucht wird, eine komplizierte Synthese beinhaltet; in der Zwischenzeit können sich die Proben abbauen.

2. Zweitens muss geklärt werden, wie viele Proben zu einem Zeitpunkt leicht gehandhabt werden können. Es ist besser, ein paar Proben gut zu analysieren, als zu versuchen, eine große Anzahl zu analysieren und die meisten von ihnen wiederholen zu müssen.
3. Schließlich ist sicherzustellen, dass alles, was für das Verfahren benötigt wird, vor Arbeitsbeginn zur Verfügung steht.

Dies beinhaltet das Zusammenstellen der richtigen Ausrüstung, der Reagenzien und der Standards (mit allen begleitenden Vorbereitungen), vielleicht auch Platz in den Abzugshauben reservieren, usw.

Wenn es erforderlich ist, das validierte Verfahren von jemand anderem anzupassen oder zu ändern, dann wird eine entsprechende Re-Validierung erforderlich sein. Je nach Art können die Änderungen die ursprünglichen Validierungsdaten irrelevant machen.

## 8 Verwendung von Validierungsdaten zur Gestaltung der Qualitätskontrolle

### 8.1 Einführung

‘Qualitätssicherung’ (QS) und ‘Qualitätskontrolle’ (QK)<sup>14</sup> sind Begriffe, deren Bedeutung oft je nach Kontext variiert. Nach ISO spricht die Qualitätssicherung diejenigen Tätigkeiten an, die das Laboratorium ausführt, um Vertrauen in die Erfüllung der Qualitätsanforderungen zu schaffen, wohingegen Qualitätskontrolle die einzelnen Maßnahmen beschreibt, die tatsächlich angewandt werden, um die Anforderungen zu erfüllen [9].

Die Verfahrensvalidierung gibt eine Vorstellung von der Leistungsfähigkeit und den Grenzen eines Verfahrens, die sich bei der Routinenutzung des Verfahrens gezeigt haben können, während das Verfahren unter Kontrolle ist. Spezielle Überprüfungen müssen durchgeführt werden, um sicher zu stellen, dass es unter Kontrolle bleibt, d. h., dass seine Durchführung so verläuft wie erwartet. Während der Validierungsphase wurde das Verfahren weitgehend auf Proben mit bekanntem Gehalt angewandt. Sobald das Verfahren im Routineeinsatz ist, wird es für Proben mit unbekanntem Gehalt eingesetzt. Geeignete interne QK kann die kontinuierliche Messung stabiler Prüfproben beinhalten, wodurch der Analytiker befähigt wird zu entscheiden, ob die zahlreichen erzielten Antworten wirklich die Vielfalt der analysierten Proben widerspiegeln oder unerwartete und unerwünschte Änderungen in der Leistungsfähigkeit des Verfahrens auftreten. Als Teil des Qualitätskontrollprozesses sollten diese bekannten Proben in der Praxis mit jeder Probenserie gemessen werden. Die durchzuführenden Überprüfungen hängen ab von der Art, der Kritikalität und der Häufigkeit der Analyse, der Seriengröße, dem Grad der Automatisierung und dem Schwierigkeitsgrad der Prüfung sowie auch von den Erfahrungen, die während der Entwicklungs- und Validierungsprozesse gemacht wurden. Die Qualitätskontrolle kann zahlreiche Formen annehmen, sowohl im Laboratorium (intern) als auch zwischen dem Laboratorium und anderen Laboratorien (extern).

### 8.2 Interne Qualitätskontrolle

Die interne Qualitätskontrolle bezieht sich auf vom Personal des Laboratoriums ausgeführte Verfahren zur kontinuierlichen Überwachung der Betriebsabläufe im Laboratorium sowie der Messergebnisse,

um entscheiden zu können, ob die Ergebnisse für eine Freigabe zuverlässig genug sind [18, 75]. Für die Überwachung von Ergebnissen aus Qualitätskontrollproben wird die Nutzung von Regelkarten empfohlen [76, 77]. Die Verfahren zur Qualitätskontrolle müssen nachweislich die Gültigkeit der Ergebnisse sicherstellen können. Zur Überwachung verschiedener Variationsarten innerhalb des Prozesses können verschiedene Arten der Qualitätskontrolle verwendet werden. QK-Proben, die in gewissen Abständen in der analytischen Messserie analysiert werden, zeigen eine Drift im System an; die Verwendung verschiedener Arten von Blindproben zeigt neben denen eines Analyten die Beiträge zum Signal eines Instruments an; Doppelanalysen prüfen die Wiederholpräzision.

QK-Proben sind typische Proben, die über einen bestimmten Zeitraum hinweg ausreichend stabil und homogen sind, um dasselbe Ergebnis zu liefern (das zufälligen Schwankungen im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens unterliegt), und die in ausreichender Menge verfügbar sind, um die Analyse über einen längeren Zeitraum wiederholen zu können. In diesem Zeitraum kann die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) des Verfahrens durch Überwachung der Werte aus der Analyse der QK-Probe überprüft werden, in der Regel durch Auftragen der Werte in einer Regelkarte. Für die Werte in der Regelkarte werden Grenzen gesetzt (konventionell werden ‚Warngrenzen‘ bei  $\pm 2s$  um den Mittelwert gesetzt, und ‚Eingriffsgrenzen‘ bei  $\pm 3s$  um den Mittelwert). Wenn die aufgetragenen QK-Werte bestimmten Regeln in Bezug auf die gesetzten Grenzen entsprechen, wird die Qualitätskontrolle als zufriedenstellend erachtet. Solange der QK-Probenwert akzeptiert werden kann, ist es wahrscheinlich, dass die Ergebnisse von Proben aus der gleichen Messserie wie die QK-Proben als zuverlässig angenommen werden können. Die Annehmbarkeit des aus der QK-Probe erhaltenen Wertes sollte im Analyseprozess so früh wie möglich verifiziert werden, sodass im Falle eines Problems so wenig Aufwand wie möglich auf die unzuverlässige Analyse der Proben selbst verschwendet worden ist.

Während der Verfahrensvalidierung gelangt man zu ersten Schätzwerten der unterschiedlichen Präzisionsmaße. Um auf der Regelkarte realistische Grenzen

<sup>14</sup> Anm. d. Übers.: Im Qualitätsmanagement wird für „quality control“ im Deutschen häufig der Begriff „Qualitätslenkung“ verwendet. In Laboratorien wird jedoch in der Regel der Begriff „Qualitätskontrolle“ und z. B.

„Qualitätskontrollprobe“ verwendet. Im Interesse der Verständlichkeit wird daher in diesem Leitfaden „Qualitätskontrolle“ benutzt.

setzen zu können, müssen die Messungen widerspiegeln, wie das Verfahren tagtäglich tatsächlich verwendet werden soll. So sollten Messungen während der Validierung alle möglichen Variationen in den Betriebsbedingungen imitieren: verschiedene Analytiker, Variationen bei den Labortemperaturen usw. Geschieht dies nicht, wird die Standardabweichung unrealistisch klein sein, was dazu führt, dass Grenzen auf der Regelkarte gesetzt werden, die bei Normalbetrieb möglicherweise nicht eingehalten werden können. Aus diesem Grund wird in der Regel empfohlen, die angegebenen Grenzen nach einem Jahr neu zu bewerten bzw. dann, wenn genügend Ergebnisse gesammelt worden sind [76].

Durch die Verwendung verschiedener Arten von Blindproben kann der Analytiker sicherstellen, dass die für den Analyten erfolgten Berechnungen entsprechend korrigiert werden können, um jegliche Beiträge zum Response, die nicht dem Analyten zugeschrieben werden können, zu entfernen. Mit der Wiederholungsanalyse von Proben aus Routineprüfungen können Veränderungen in der Präzision eines analytischen Prozesses, die das Ergebnis nachteilig beeinflussen könnten, geprüft werden [78]. Wiederholungen können in einer Serie direkt hintereinander erfolgen, um die Wiederholbarkeit zu überprüfen.

Die Analyse von verdeckten Proben ist gewissermaßen eine Form der Wiederholungsanalyse und liefert ein Mittel zur Prüfung der Präzision. Sie besteht aus wiederholt in die analytische Messserie platzierte Teilproben, möglicherweise durch den Laborleiter, und wird so genannt, weil der Analytiker normalerweise die Identität der Analysenproben nicht kennt oder nicht weiß, dass sie Wiederholungen sind. So hat der Analytiker keine vorgefasste Meinung, dass die speziellen Ergebnisse zueinander in Beziehung stehen.

Standards (Normale) oder Materialien, die denen ähnlich sind, die für die Kalibrierung verwendet werden und die in Abständen in einer analytischen Charge platziert werden, ermöglichen Kontrollen darüber, ob der Response des analytischen Verfahrens auf den Analyten stabil ist.

Es liegt in der Verantwortung der Laborleitung, basierend auf der Risikobewertung, ein angemessenes Maß an Qualitätskontrolle festzulegen und zu rechtfertigen, wobei die Zuverlässigkeit des Verfahrens, die Kritikalität der Arbeit und die Durchführbarkeit von Wiederholungen der Analyse, wenn sie das erste Mal nicht richtig funktioniert, zu berücksichtigen sind. Es wird im Allgemeinen angenommen, dass bei Routineanalysen eine interne Qualitätskontrolle von 5 % sinnvoll ist, d. h. 1 von 20 analysierten Proben sollte eine QK-Probe sein. Jedoch kann

für robuste Routineverfahren mit einem hohen Probendurchsatz ein niedrigerer Grad an Qualitätskontrolle sinnvoll sein. Bei komplexeren Verfahren ist ein Grad von 20 % nicht ungewöhnlich und gelegentlich mögen sogar 50 % erforderlich sein. Bei selten durchgeführten Analysen sollte jedes Mal eine vollständige Systemvalidierung durchgeführt werden. Dies kann typischerweise die Verwendung eines RM beinhalten, das eine zertifizierte oder bekannte Analytkonzentration enthält, gefolgt von wiederholten Analysen der Probe und einer aufgestockten Probe (eine Probe, der absichtlich eine bekannte Menge des Analyten hinzugefügt wurde). Häufiger vorgenommene Analysen sollten einem systematischen Qualitätskontrollverfahren unterliegen, welches die Verwendung von Regelkarten und Kontrollproben beinhaltet.

### 8.3 Externe Qualitätskontrolle

Die regelmäßige Teilnahme an Eignungsprüfungen (EP), auch als externe Qualitätsbewertung (EQA) bekannt, stellt für ein Laboratorium eine anerkannte Methode dar, seine eigene Leistungsfähigkeit zu überwachen sowohl in Bezug auf die eigenen Anforderungen als auch gegenüber dem Leistungsstand anderer Laboratorien. EP helfen, auf Variationen zwischen Laboratorien (erweiterte Vergleichpräzision) und systematische Messabweichungen (Bias) hinzuweisen.

Eignungsprüfungsprogramme (EP) und andere Arten von Ringversuchen werden als ein wichtiges Mittel zur Überwachung des Grads der Gleichwertigkeit analytischer Ergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene akzeptiert. Akkreditierungsstellen erkennen den Nutzen dieser Programme an und ermutigen Laboratorien ausdrücklich, an EP/EQA als integralen Bestandteil ihres Qualitätsmanagements teilzunehmen [79]. Es ist wichtig, Ergebnisse aus EP im Rahmen der Qualitätskontrollverfahren zu überwachen und wo nötig Maßnahmen zu ergreifen.

In bestimmten Fällen können Akkreditierungsstellen die Teilnahme an einem bestimmten EP-Programm als Voraussetzung für die Akkreditierung festlegen. Der Wert der EP ist natürlich nur so gut wie die Programme selbst. Anforderungen an die Kompetenz von Anbietern für EP sind in der Norm ISO/IEC 17043 beschrieben [80]. Praktische Informationen zur Auswahl, Nutzung und Auslegung von EP-Programmen sind in einem Eurachem Guide dargestellt [81]. Informationen über eine große Anzahl von Programmen sind in der EPTIS Datenbank zu finden ([www.eptis.bam.de](http://www.eptis.bam.de)). Jedoch kann es sein, dass für neue Analysebereiche oder insbesondere seltene

Anwendungen kein Programm vollumfänglich geeignet ist. Diese und andere Einschränkungen werden jetzt in einem aktuellen Anleitungsdokument

betrachtet [82], das von akkreditierten Laboratorien fordert, eine Strategie für ihre Teilnahme an EP abzuleiten.

## 9 Dokumentation validierter Verfahren

### 9.1 Vom Entwurf bis zur endgültigen Version

Das Verfahren, das einer Validierung unterzogen wird, wird unter Verwendung einer Dokumentation des Verfahrens durchgeführt, die bis zur Genehmigung des Validierungsberichts als Entwurf angesehen werden sollte. Sobald der Validierungsprozess abgeschlossen ist, ist es wichtig, das Analysenverfahren so zu dokumentieren, dass das Verfahren klar und eindeutig umgesetzt werden kann. Dies hat mehrere Gründe.

- Die verschiedenen Bewertungen des Verfahrens, die während des Validierungsprozesses vorgenommen werden, gehen davon aus, dass das Verfahren bei seinem Einsatz jedes Mal in der gleichen Weise verwendet wird. Falls nicht, entspricht die tatsächliche Leistungsfähigkeit des Verfahrens nicht der Leistungsfähigkeit, die durch die Validierungsdaten vorhergesagt wird. Folglich muss die Dokumentation den Anwendungsbereich für die Einführung einer zufälligen Variation des Verfahrens einschränken.
- Eine gute Dokumentation ist auch zum Zwecke der Auditierung und Bewertung erforderlich; sie kann auch aus vertraglichen oder rechtlichen Gründen erforderlich sein.
- Eine angemessene Dokumentation des Verfahrens stellt sicher, dass das Verfahren jedes Mal konsistent angewandt wird. Da die Qualität der Dokumentation einen direkten Einfluss darauf hat, wie konsistent das Verfahren angewandt werden kann, ist es wahrscheinlich, dass diese auch einen Einfluss auf die Präzision und Messunsicherheit hat. Tatsächlich könnte der Unsicherheitsbeitrag, der mit unzureichend dokumentierten Verfahren im Zusammenhang steht, so groß sein, dass er das Verfahren faktisch unbrauchbar macht. Alle Abweichungen in der Dokumentation müssen geklärt werden, bevor ein vernünftiger Schätzwert der Unsicherheit erhalten werden kann.

### 9.2 Empfehlungen

#### 9.2.1 Prüfen der Anweisungen

Es ist nicht einfach, ein Verfahren richtig zu dokumentieren. Die Informationen sollten in etwa in der Reihenfolge erscheinen, in der sie vom Anwender erwartungsgemäß gebraucht werden. Eine weit verbreitete Falle ist es anzunehmen, dass jeder die Technik des Verfahrens in demselben Maße versteht, wie die Person, die es entwickelt und dokumentiert hat.

Dieses Wissen vorauszusetzen kann gefährlich sein. Sinnvoll ist es, wenn sich ein kompetenter Kollege durch die gesamte Dokumentation exakt so hindurcharbeitet wie es das Verfahren beschreibt. Wenn dies dem entspricht, was beabsichtigt ist, dann sollte das dokumentierte Verfahren gut von zahlreichen Analytikern verwendet werden können und konsistente Ergebnisse liefern. Wenn nicht, dann ist eine Umformulierung erforderlich, damit die Verfahren detaillierter beschrieben und Mehrdeutigkeiten eingeschränkt werden.

#### 9.2.2 Empfehlungen in Normen

In einer Reihe von Normen sind Hinweise darüber enthalten, welche Art von Informationen bei der Dokumentierung eines Verfahrens einfließen sollte. Aus Sicht der Chemiker ist die ISO 78-Serie wohl die nützlichste; sie beschreibt die Dokumentation verschiedener Arten chemischer Analysenverfahren (Normungsgremien erstellen, validieren und dokumentieren natürlich auch jedes Jahr eine große Anzahl von Verfahren, benötigen eine möglichst einheitliche Vorgehensweise und erarbeiten diese Normen in erster Linie zum Nutzen ihrer eigenen Fachausschüsse). ISO 78-2 [83] empfiehlt eine Verfahrensdokumentation für allgemeine chemische Verfahren. Anhang A enthält ein Layout basierend auf dieser Norm. Die Normen zeigen eine logische Reihenfolge für Materialien mit empfohlenen Überschriften und empfehlen, welche Informationen unter jedem Stichwort erscheinen sollten. Bei der Nutzung dieser Normen sollte der Leser darauf achten, dass er einen Ausgleich schafft bezüglich einer gewissen Flexibilität der Herangehensweise und Konsistenz. Obwohl es wünschenswert ist, dass alle Verfahren dasselbe Dokumentenformat aufweisen, ist auch zu beachten, dass nicht bei allen Verfahren dieselbe Detailtreue gerechtfertigt ist, und dass es häufig angemessen ist, einige der empfohlenen Abschnitte aus der Dokumentation wegzulassen.

#### 9.2.3 Dokumentenlenkung

Ein Laboratorium, das seine eigenen Verfahren dokumentiert, kann auch gut einen Nutzen daraus ziehen, einen 'hauseigenen' Stil zu entwickeln. Neben der Darstellung relevanter Informationen in einer leicht nutzbaren und logischen Art und Weise ermöglicht er es auch, die Last der Dokumentationsarbeit auf eine Reihe weiterer Autoren zu verteilen. Entwürfe, die von mehreren Autoren erstellt worden sind, können von einer einzigen Kontrollstelle auf Konsistenz geprüft werden.

Dokumentierte Verfahren bilden einen wichtigen Teil des Qualitätsmanagementsystems eines Laboratoriums und sollten in angemessenem Umfang einer Dokumentenlenkung unterliegen. Ziel ist es sicherzustellen, dass nur Verfahren verwendet werden, die als einsatztauglich zugelassen worden sind. Daher sollten Verfahren als Teil des Dokumentationsprozesses Informationen enthalten, durch die der Nutzer beurteilen kann, ob das Verfahren für die Verwendung genehmigt worden ist und ob es vollständig ist. Weitere Informationen sollten verfügbar sein hinsichtlich: Versionsnummer und Datum des Verfahrens, Autor, Anzahl der existierenden Kopien des Verfahrens und jegliche Einschränkungen hinsichtlich der Vervielfältigung.

Von Zeit zu Zeit kann eine Aktualisierung von Verfahren erforderlich werden. Die dem Verfahren zugrundeliegende Technologie kann beispielsweise verbessert worden sein. Dokumentenlenkung ermöglicht das reibungslose Zurückziehen veralteter Verfahren und die Herausgabe überarbeiteter Verfahren. Heutzutage ist der Prozess der Dokumentenlenkung durch die Nutzung spezieller Software stark vereinfacht. Änderungen sollten nur von jenen vorgenommen werden, die dazu berechtigt sind. Dies kann softwaregesteuert erfolgen, indem die entsprechenden Dateien einen weitverbreiteten ‚Lese‘-Zugriff und nur einen sehr begrenzten ‚Schreib‘-Zugriff haben.

## 10 Auswirkungen von Validierungsdaten auf die Berechnung und Angabe von Ergebnissen

Wichtig ist, dass der Analytiker die Daten, die während der Probenanalyse unter Verwendung des validierten Verfahrens gewonnen wurden, in Ergebnisse umwandeln kann, die einen direkten Beitrag zur Lösung des Problems des Kunden leisten. Die während des Validierungsprozesses bestimmten Leistungsmerkmale sind dabei hilfreich. Daten zur Wiederholpräzision, Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) und erweiterter Vergleichpräzision können genutzt werden, um festzustellen, ob die bei der Probenanalyse erkannten Unterschiede signifikant sind. Qualitätskontrollen, basierend auf den Validierungsdaten, können eingesetzt werden, um zu bestätigen, dass das Verfahren unter Kontrolle ist und aussagekräftige Ergebnisse liefert. Die Schätzung der Messunsicherheit ermöglicht es, das Ergebnis als einen Bereich von Werten mit einem akzeptierten Vertrauensniveau anzugeben.

Wichtig ist, dass der Analytiker Zugriff auf die Validierungsdaten hat, die unterstützend in Bezug auf die Gültigkeit der Ergebnisse verwendet werden können. Ob diese Informationen an den Kunden weitergegeben werden oder nicht, ist eine andere Sache. Sehr oft verfügt der Kunde nicht über die technische Kompetenz, die Signifikanz der Daten zu würdigen. Unter diesen Umständen ist es vielleicht sicherer, die Daten auf Anfrage zur Verfügung zu stellen.

Themen wie Verfahrensvalidierung, Variabilität und Messunsicherheit müssen unter bestimmten Umständen, zum Beispiel in rechtlichen oder forensischen Kontexten, sorgfältig behandelt werden. Es kann von Vorteil sein, offen mit dem Bestehen der mit Messungen verbundenen Unsicherheit umzugehen und darauf vorbereitet zu sein, Entscheidungen zu rechtfertigen, die in Anbetracht der Kenntnis dieser Unsicherheit getroffen wurden.

Achtsam muss man sein, wenn versucht wird, ein analytisches Ergebnis mit seiner zugehörigen Unsicherheit zu verwenden, um zu entscheiden, ob die ursprüngliche Ware, aus der die Probe genommen wurde, einer Spezifikation entspricht oder einen Grenzwert einhält [84]. Möglicherweise liegt eine solche Entscheidung nicht in der Verantwortung des Analytikers, aber es kann sein, dass vom Analytiker gefordert wird, den Entscheidungsprozess technisch beratend zu unterstützen.

Wenn über die Ergebnisse berichtet wird, muss der Analytiker entscheiden, ob etwaige Abweichungen, die nachgewiesen wurden, zu korrigieren sind, oder ob Ergebnisse unkorrigiert zu berichten sind, aber das Vorhandensein eines Bias angemerkt wird.

Vorsicht ist geboten beim Berichten von Ergebnissen in Form von 'nicht nachgewiesen'. Für sich genommen ist diese Aussage nicht informativ genug und sollte mit einer Erklärung darüber einhergehen, was in diesem Fall die Nachweisgrenze ist. Manchmal ist es angebracht, einen numerischen Wert anzugeben, obwohl dieser unterhalb der scheinbaren Nachweisgrenze liegen kann. Manchmal fordern Behörden, die Bestimmungsgrenze anzugeben.

Wenn eine Angabe der Unsicherheit zum Ergebnis gefordert wird, kann es sinnvoll sein, eine erweiterte Unsicherheit anzugeben, für die ein geeigneter Erweiterungsfaktor verwendet wird. Zum Beispiel entspricht ein Erweiterungsfaktor 2 einem Intervall mit einem Vertrauensniveau von etwa 95%. Weitere Anleitung, wie die Messunsicherheit anzugeben ist, findet sich in Abschnitt 9 im Eurachem/CITAC Guide [22].

## Anhang A – Protokoll zur Verfahrensdokumentation

Angemessene Verfahrensdokumentation wird in Abschnitt 9 dieses Leitfadens erörtert. Das folgende Format dient als Referenz für ein geeignetes Layout. Es basiert auf ISO 78-2 [83], enthält jedoch einige zusätzliche Hinweise zu Kalibrierung, Qualitäts- und Dokumentenlenkung. Anhang A dient lediglich als Orientierungshilfe und sollte, um speziellen Anforderungen zu entsprechen, angepasst werden.

### A.1 Vorwort

#### A.1.1 Aktualisierung und Zusammenfassung

Dieser Abschnitt verfolgt zwei Ziele. Erstens wird beabsichtigt, kleinere Änderungen am Text zur Beschreibung des Verfahrens vornehmen zu dürfen, ohne das Verfahren vollständig überarbeiten zu müssen und neu zu drucken. Zweitens wird empfohlen, dass die Eignung jedes Verfahrens in regelmäßigen Abständen geprüft werden sollte und die Zusammenfassung als Aufzeichnung darüber dient, dass dies geschehen ist. Üblicherweise wird die Zusammenfassung vor der Beschreibung des Verfahrens platziert, auf der Innenseite der Titelseite.

#### A.1.2 Aktualisierungen

Jegliche handschriftlichen Änderungen am Text zur Beschreibung des Verfahrens würden akzeptiert werden, vorausgesetzt die Änderungen wurden auch in der folgenden Tabelle aufgezeichnet (handschriftliche Eintragungen sind akzeptabel) und ordnungsgemäß genehmigt. Dies würde implizieren, dass mit der Freigabe die Tatsache bestätigt wurde, dass die Auswirkungen der Veränderung auf die Verfahrensvalidierung untersucht worden sind und keine Probleme verursacht haben. Dies beinhaltet auch, dass die Änderung an allen Kopien der Verfahrensdokumentation vorgenommen wurde.

#	Abschnitt	Art der Änderung	Datum	Genehmigung
1 (z. B.)	3.4	Ändern der Flussrate auf 1.2 ml min <sup>-1</sup>	8/2/96	DGH

#### A.1.3 Überprüfung

Zu jedem beliebigen Zeitpunkt wäre zu erwarten, dass das Datum, an dem zu sehen war, dass das Verfahren im Einsatz war, zwischen der *Überprüfung* und den *nächsten Überprüfungsterminen* liegen würde, wie in der Tabelle dargestellt.

Datum der Überprüfung	Ergebnis der Überprüfung	Nächstes Überprüfungsdatum	Genehmigung

### A.2 Einleitung

Die Einleitung wird verwendet, um, falls erforderlich, Informationen bereitzustellen, wie zum Beispiel Anmerkungen zum technischen Inhalt des Verfahrens oder die Gründe zu seiner Erstellung. Sind Hintergrundinformationen zum Verfahren erforderlich, sollten sie vorzugsweise in diesem Abschnitt aufgeführt sein.

### A.3 Titel

Der Titel enthält die Probenarten, für die das Prüfverfahren gilt, den Analyten oder das zu bestimmende Merkmal und das Grundprinzip der Bestimmung. Er sollte, wann immer möglich, auf die folgenden Angaben beschränkt werden. Bevorzugtes Format:

Bestimmung von A {Analyt oder Messgröße} (in Anwesenheit von B {Störfaktor}) in C {Matrix} mittels D {Prinzip}.

### A.4 Warnhinweise

Auf mögliche Gefahren hinweisen und die Vorsichtsmaßnahmen beschreiben, die zu deren Vermeidung notwendig sind. Detaillierte Vorsichtsmaßnahmen können in den entsprechenden Abschnitten gegeben werden; das Vorhandensein möglicher Gefahren und die Notwendigkeit von Sicherheitsvorkehrungen müssen aber an dieser Stelle mitgeteilt werden. Geben Sie geeignete Hinweise zu möglichen Gefahren, die verbunden sind mit:

- dem Umgang mit den Proben;
- dem Umgang mit oder der Vorbereitung von Lösungsmitteln, Reagenzien, Standards oder anderen Materialien;
- der Bedienung von Geräten;
- den Anforderungen an die besondere Umgebung für den Umgang mit den Proben, z. B. Laborabzüge;
- den Folgen einer Maßstabsvergrößerung des Experiments (Explosionsgrenzen).

### A.5 Anwendungsbereich

Dieser Abschnitt gestattet es dem potentiellen Nutzer, schnell zu erkennen, ob das Verfahren wahrscheinlich für die gewünschte Anwendung geeignet ist oder ob Einschränkungen existieren. Die folgenden Angaben sollten abgedeckt werden:

- eine Beschreibung der zugrundeliegenden Aufgabe (warum das Verfahren benötigt wird);
- der/die Analyt(en) oder Messgröße(n), der/die mittels des Verfahrens bestimmt werden kann (können);
- die Form, in welcher der/die Analyt(en) bestimmt wird/werden – Speziation, vollständig/verfügbar etc.;
- die Probenmatrix (Matrices), in der (denen) diese/r Analyt(en) bestimmt werden kann (können);
- ein Arbeitsbereich (Messbereich), in dem das Verfahren eingesetzt werden kann. Dieser sollte sich auf Eigenschaften in der Laborprobe, z. B. Konzentration, beziehen;
- bekannte Störungen, die den Einsatz des Verfahrens verhindern oder einschränken;
- die in dem Verfahren verwendete Instrumententechnik;
- die Mindestprobengröße.

*Anm. d. Übers.: An dieser Stelle wird in der englischen Version dieses Leitfadens auf die Verwendung des Begriffs „applicability“ in der Lebensmittelbranche verwiesen [35]. Im Deutschen ist ein entsprechend abweichender Begriff nicht üblich.*

### A.6 (Normative) Verweise

Dieser Abschnitt stellt eine Liste an Dokumenten bereit, die für den Einsatz des Verfahrens notwendig sind. Dokumente, die bei der Erstellung des Verfahrens lediglich als Referenz gedient haben, sind am Ende des Dokuments in einem Literaturverzeichnis anzugeben.

### A.7 Definitionen

Alle Definitionen für im Text verwendete Begriffe anführen, die für dessen vollständiges Verständnis notwendig sein können. Wo immer möglich, Definitionen von ISO verwenden. Quellen zitieren. Analytische Strukturen können hier ebenfalls einbezogen werden.

### A.8 Prinzipien

Die wesentlichen Schritte des Verfahrens skizzieren, die Prinzipien, nach denen die analytische Technik arbeitet. Ein Flussdiagramm oder Ursache-Wirkungs-Diagramm kann hilfreich sein. Dieser Abschnitt sollte so geschrieben sein, dass man auf einen Blick erkennt, wie das Verfahren funktioniert. Eine Erläuterung des Grundsatzes der Berechnung mit einbeziehen. Ggf. ist die Arbeitsweise des Verfahrens oder der Berechnungen zu klären, einschließlich der Angaben zu allen chemischen Reaktionen (dies kann zum Beispiel relevant sein, wenn es sich um Derivatisierung oder um Titrimetrie handelt).

Z. B. “Die Konzentration wird von einer 6-Punkte-Kalibrierkurve durch Bestimmung der Konzentration abgeleitet, die der Extinktion der Probe entspricht, um den Blindwert korrigiert und mit dem Konzentrationsfaktor multipliziert.”

### A.9 Reaktionen

Dieser Abschnitt zeigt die wesentlichen Reaktionen, wenn sie für das Verständnis des Textes oder der Berechnungen als notwendig erachtet werden. Sie begründen die Berechnungen aus den Daten, die über die Bestimmungen erhalten wurden, und können zu einem besseren Verständnis des Verfahrens führen, insbesondere wenn mehrere aufeinanderfolgende Veränderungen im Oxidationszustand des Elements, das bestimmt wird, auftreten. Handelt es sich um Titrationsen, sind diese insbesondere nützlich, um festzustellen, welche Anzahl von Äquivalenten in jedem Mol des Reaktanten enthalten sind.

### A.10 Reagenzien und Materialien

Alle für den analytischen Prozess benötigten Reagenzien und Materialien zusammen mit ihren wesentlichen Eigenschaften (Konzentration, Dichte usw.) auflisten und sie für späteren Verweis nummerieren. Folgende Angaben aufführen:

- CAS<sup>15</sup>-Nummern (falls vorhanden);
- Angaben zu allen damit verbundenen Gefahren, einschließlich Anweisungen für die Entsorgung;
- Reinheit oder Reinheitsgrade;
- die Notwendigkeit, dass Kalibrier- und Kontroll-Materialien aus unabhängigen Chargen stammen müssen;
- Angaben zur Vorbereitung, einschließlich der Notwendigkeit einer frühzeitigen Vorbereitung;
- Anforderungen an Behälter und Lagerung;
- Haltbarkeit von Rohmaterial und vorbereiteten Reagenzien;
- erforderliche Zusammensetzung mit Angaben zur Art der Konzentration oder anderen Mengen;
- Kennzeichnungsvorschriften.

### A.11 Apparatur

Ausführliche Beschreibung der einzelnen Geräte und wie sie verbunden sind, um einen unzweideutigen Aufbau zu gewährleisten. Die Elemente für späteren Verweis nummerieren. Diagramme und Flussdiagramme können für eine größere Klarheit sorgen. Jede Überprüfung der Funktionsweise der zusammengebauten Geräte muss im Abschnitt „Durchführung“ in einem Unterabschnitt mit der Überschrift „Vorversuch“ oder „Kontrollversuch/Gegenprobe“ (siehe A.13) beschrieben werden.

Mindestanforderungen an die Leistungsfähigkeit und an die Verifizierung auflisten, mit Querverweisen zum Kalibrierungsabschnitt (A.13) sowie zu allen relevanten Gerätehandbüchern. Ggf. Bezug zu internationalen Normen bzw. zu anderen international anerkannten Dokumenten für Laborgeräte und deren Zubehör. Anforderungen an die Umgebung aufnehmen (Laborabzüge usw.).

### A.12 Probenahme

Die Probenahme in diesem Protokoll umfasst sowohl die Probenahme, um eine Laborprobe zu erhalten als auch die Probenahme (Entnahme von Teilproben) im Laboratorium, um eine Prüfprobe zu erhalten, aus welcher die Prüfmenge gezogen wird.

Ist die Probenahme zum Erhalt der Laborprobe von der chemischen Analyse als solche unabhängig, so ist es in der Regel ausreichend, sich informativ auf das einschlägige Verfahren zu beziehen, das sich speziell mit dieser Frage beschäftigt. Existiert ein entsprechendes Verfahren nicht, kann der Abschnitt zur Probenahme einen Probenahmeplan und ein Probenahmeverfahren umfassen, die Anleitung darüber geben, wie eine Veränderung des Produkts vermieden werden kann und die Anforderungen an die Anwendung statistischer Methoden berücksichtigen.

Der Abschnitt zur Probenahme sollte alle Informationen enthalten, die zur Vorbereitung der Prüfprobe aus der Laborprobe notwendig sind, unter Berücksichtigung von Einzelheiten zur Lagerung, Probenaufbereitung/Vorbehandlung sowie Entsorgung. Wenn diese Phase besonders kompliziert ist, kann ein separates Dokument, das die einzelnen Schritte beschreibt, gerechtfertigt sein.

### A.13 Durchführung

Alle Arbeitsabläufe beschreiben. Ist das zu beschreibende Verfahren bereits in einer anderen Norm enthalten, so ist die Formulierung „Einsatz des in ISO 12345 beschriebenen Verfahrens“ oder „Einsatz eines der in ISO 12345 beschriebenen Verfahren“ zu verwenden, falls erforderlich unter Hinweis auf Modifikationen. Arbeitsabläufe erwähnen, die besonderer Sicherheitsvorkehrungen bedürfen. Der Abschnitt ‚Durchführung‘ enthält üblicherweise folgende Unterabschnitte:

- Prüfmenge (deren Gewinnung aus der Prüfprobe oder aus der Laborprobe und die benötigte Menge bzw. das benötigte Volumen);
- Blindversuche (Bedingungen und Einschränkungen);
- Vorabprüfungen oder Kontrollprüfungen (z. B. um die Leistung eines Messgeräts zu verifizieren);
- Bestimmung(en) oder Prüfung(en). Dies umfasst auch die Nennung der Anzahl der Messungen bzw. Prüfungen (z. B. Doppelprüfungen) und ausführliche Beschreibung aller Schritte;

<sup>15</sup> Chemical Abstract Service

- Kalibrierung. Kritische Teile des analytischen Prozesses identifizieren. Diese müssen durch eine sorgfältige Arbeitsweise und Kalibrierung gesteuert werden. Querverweis auf die entsprechenden obigen Abschnitte. Kalibrierung von Geräten einbeziehen – was muss kalibriert werden, wie, womit und wie oft? Berücksichtigen entsprechender messtechnischer Rückführung von Kalibrierproben.

#### **A.14 Berechnung**

Beschreiben, wie das/die Ergebnis/se berechnet wird/werden. Informationen zu den Einheiten aufnehmen, in welchen das Ergebnis und andere Größen ausgedrückt werden; die Gleichung, die zur Berechnung verwendet wird; die Bedeutungen der algebraischen Formelzeichen, die in der Gleichung verwendet werden; die Anzahl der Dezimalstellen oder signifikanten Ziffern, nach denen das Ergebnis anzugeben ist. Die Symbole der Größen sind nach ISO 80000 anzugeben [14].

#### **A.15 Präzision**

Für Verfahren, die einem Ringversuch unterzogen worden sind, sind die Präzisionsdaten anzugeben (d. h. die Wiederholpräzision und die erweiterte Vergleichpräzision). Die Präzisionsdaten sind zu berechnen und sollten vorzugsweise in Anlehnung an den entsprechenden Teil von ISO 5725 oder gemäß einer anderen geeigneten Internationalen Norm (auf die verwiesen werden muss) veröffentlicht werden. Eindeutig angeben, ob die Präzisionswerte in absoluten oder relativen Zahlen ausgedrückt werden oder als Präzisionsgrenzen.

#### **A.16 Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle**

Ein Ergebnis des Validierungsprozesses sollte auch eine Beschreibung der internen und externen Verfahren zur (Eignungsprüfungs-)Qualitätskontrolle sein, die zu befolgen sind. Erklären, in welcher Form die Qualitätskontrolle stattfindet, Häufigkeit der Qualitätskontrollen während der Chargenanalyse, Kriterien für Bestehen/Nicht Bestehen, Maßnahmen, die im Falle von Fehlfunktionen zu treffen sind. Querverweis auf die relevanten obigen Abschnitte.

#### **A.17 Spezialfälle**

Aufnahme etwaiger Änderungen am Verfahren, die durch die Anwesenheit oder Abwesenheit spezifischer Komponenten am zu analysierenden Produkt notwendig sind. Auf diese Änderungen muss bereits im Abschnitt „Anwendungsbereich“ verwiesen worden sein. Jedem Spezialfall muss ein anderer Titel gegeben werden.

#### **A.18 Prüfbericht**

Dieser Abschnitt sollte die Informationen festlegen, die im Prüfbericht anzugeben sind. In der Regel sollten die folgenden Aspekte der Prüfung enthalten sein:

- ein Verweis auf das verwendete Verfahren;
- das/die Ergebnis/se und ein Hinweis auf die damit verbundene Qualität (Präzision, anzugebende Unsicherheit; Vertrauensintervall), ggf. mit einem Hinweis auf den Abschnitt “Berechnung”;
- etwaige Abweichungen vom Verfahren;
- etwaige unübliche Besonderheiten, die beobachtet wurden;
- das Datum der Prüfung.

#### **A.19 Anhänge**

Zur besseren Lesbarkeit werden einige Informationen in einem Anhang dargestellt. Es muss klar angeführt werden, ob der Anhang normativ oder informativ ist. Beispiele für Informationen, die im Anhang beigefügt werden können, sind Daten aus der Verfahrensvalidierung, Risikoanalyse und Unsicherheitsberechnungen. Bei Letzteren sollten die Hauptunsicherheitsquellen im Verfahren ermittelt und die zugewiesenen Werte aufgelistet werden. Geringfügige Beiträge, die in der Endberechnung keine Verwendung finden, sollten erwähnt werden. Die kombinierte Standardunsicherheit und/oder die erweiterte Unsicherheit sollten zusammen mit einer Erläuterung, wie diese abgeleitet wurden, aufgeführt werden. Eine ausführlichere Behandlung kann in einer Querverweis-Datei erfolgen.

#### **A.20 Literaturnachweis**

Falls informative Verweise als notwendig erachtet werden, können diese an der Stelle im Text angegeben werden, an der auf diese verwiesen wird oder, wenn es mehrere informative Verweise gibt, in einer Bibliographie am Ende des Dokuments.

## Anhang B – Statistische Grundlage für Berechnungen der Nachweisgrenze<sup>16</sup>

Die Kurzanleitung 2 in Abschnitt 6.2.3 zeigt, dass die Nachweisgrenze durch Multiplikation einer geeigneten Standardabweichung mit dem Faktor 3 berechnet werden kann. In diesem Anhang wird die statistische Grundlage für diesen Faktor beschrieben.

Das Ziel der Bestimmung der Nachweisgrenze ist typischerweise, die kleinste Konzentration des Analyten in einer Probe festzustellen, die mit einem gegebenen Messverfahren und einem spezifizierten Vertrauensgrad nachgewiesen werden kann. Die Nachweisgrenze zu definieren ist ein Zweistufen-Prozess. Zunächst wird ein 'kritischer Wert' ermittelt. Dieser Wert wird so festgesetzt, dass die Wahrscheinlichkeit ein Messergebnis zu erhalten, das größer ist als der kritische Wert, nicht größer ist als  $\alpha$ , wenn die Probe tatsächlich *keinen* der Analyten enthält. Der kritische Wert legt ein Kriterium fest, eine Probe für 'positiv' zu erklären. Üblicherweise wird eine falsch-positive Wahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0.05$  verwendet; dies führt zu einem kritischen Wert von ungefähr  $1.65s$  (wobei  $s$  die Standardabweichung einer großen Anzahl von Ergebnissen für eine Leerprobe oder für eine Probe ist, die nur eine geringe Konzentration des Analyten enthält und 1.65 ist der einseitige Student  $t$ -Wert für unendlich viele Freiheitsgrade auf einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0.05$ ). Der kritische Wert wird gewöhnlich als Konzentration ausgedrückt, obwohl er prinzipiell irgendeine Beobachtung, wie z. B. eine Peakfläche, sein kann. Jedes Ergebnis, das den kritischen Wert übersteigt, sollte für positiv erklärt werden.

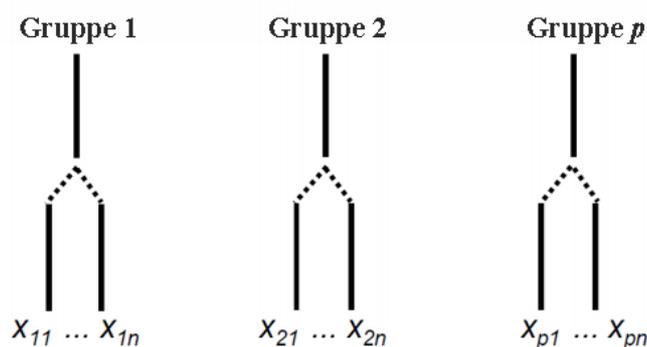
Wenn jedoch der wahre Wert der Konzentration in einer Probe exakt gleich dem kritischen Wert (ausgedrückt als Konzentration) wäre, würde erwartet werden, dass ungefähr die Hälfte der Messergebnisse unterhalb des kritischen Werts liegt, was eine Falsch-negativ-Rate von 50 % angibt. Eine Falsch-negativ-Rate von 50 % ist offensichtlich zu hoch für einen praktischen Nutzen; das Verfahren zeigt nicht zuverlässig Ergebnisse oberhalb des kritischen Werts an, wenn der wahre Wert der Konzentration gleich dem kritischen Wert ist. Die Nachweisgrenze soll die wahre Konzentration wiedergeben, bei der die Falsch-negativ-Rate bei einem gegebenen kritischen Wert akzeptabel ist. Der falsch-negative Fehler  $\beta$  wird, hauptsächlich aus historischen Gründen, gewöhnlich gleich dem falsch-positiven Fehler gesetzt (IUPAC empfiehlt als üblichen Wert  $\alpha = \beta = 0,05$  [49]). Mit  $\alpha = \beta = 0,05$  muss die Nachweisgrenze  $1,65s$  oberhalb des kritischen Werts liegen. Der Faktor zur Berechnung der Nachweisgrenze mit  $\alpha = \beta = 0,05$  ist damit  $1,65+1,65 = 3,30$ . Dies wird häufig gerundet, damit sich der in der Kurzanleitung 2 angezeigte Faktor '3s' ergibt. Dieser Ansatz basiert auf einigen Annäherungen, die in der Literatur beschrieben sind [49].

Der nach dem vorherigen Absatz errechnete Multiplikator 3 entsteht aus dem einseitigen Student  $t$ -Wert für unendliche Freiheitsgrade, abgerundet auf eine signifikante Zahl. Für eine statistisch strenge Schätzung der Nachweisgrenze sollte der verwendete Multiplikationsfaktor die Anzahl der mit der Schätzung von  $s$  verbundenen Freiheitsgrade berücksichtigen. Wenn beispielsweise  $s$  aus 10 Wiederholungsmessungen erhalten wird, dann ist bei  $\alpha = 0.05$  der Student  $t$ -Wert 1.83 (9 Freiheitsgrade). Rechnerisch ergibt dies eine Nachweisgrenze von  $3.7s$ .

<sup>16</sup> Grundlage des Textes ist folgendes Dokument: Eurachem Guide on Terminology in Analytical Measurement [8].

## Anhang C – Varianzanalyse (ANOVA)

Die zentrale Idee hinter der ‘Varianzanalyse’ (ANOVA) ist, dass wenn ein Satz von Wiederholungen in irgendeiner Weise gruppiert werden kann, z. B. nach Analytiker, Gerät, Tag, Laboratorium, Verfahren usw., die Gesamtvariation im gesamten Satz als Kombination von Varianzen ( $s^2$ ) zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppe dargestellt werden kann. ANOVA kann verwendet werden, um Ergebnisse aus der in Abb. C 1 gezeigten Art einer experimentellen Studie zu bewerten. In diesem ‘geschachtelten Design’ werden Wiederholungsmessungen (in der Regel unter Wiederholbedingungen erhalten) in unterschiedlichen Messserien wiederholt, um  $p$  Datengruppen zu liefern. Zur Schätzung der Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) aus einer solchen Studie sollten die Bedingungen zwischen den Läufen maximal variieren (verschiedene Tage, Analytiker, usw.).



**Abbildung C1 – Beispiel eines ‘geschachtelten Designs’ für ein Experiment, bei welchem unter Verwendung von ANOVA (Analysis Of Variance) verschiedene Präzisionsmaße bewertet werden können**

Abbildung C2 zeigt die allgemeine Form einer Tabelle für eine einfache ANOVA, für insgesamt  $N$  Ergebnisse in  $p$  Gruppen mit  $n$  Beobachtungen und mit  $\nu$  Freiheitsgraden. Jede Zeile der Tabelle bezieht sich auf eine andere Quelle der Variation. Die erste Reihe bezieht sich auf die Variation zwischen den Mittelwerten der Gruppen; die zweite Reihe beschreibt die Variation innerhalb der Gruppen und die dritte Reihe beschreibt die Variation der Daten als Ganzes. Tabellenkalkulationsprogramme und statistische Software liefern auch den Wert  $F$  und den kritischen Wert  $F$  und den entsprechenden (Wahrscheinlichkeits-)Wert  $P$ .

Quelle der Variation	Quadratsumme (SS)	$\nu$	Quadratischer Mittelwert (MS)	$F$	$P$	$F_{crit}$
Zwischen den Gruppen	$SS_b$	$p-1$	$MS_b = SS_b/(p-1)$	$MS_b/MS_w$		
Innerhalb der Gruppe (Residuen)	$SS_w$	$N-p$	$MS_w = SS_w/(N-p)$			
Gesamt	$SS_{tot} = SS_b + SS_w$	$N-1$				

**Abbildung C2 – Anatomie einer Tabelle für eine einfache ANOVA**

Die Werte im Zusammenhang mit der Variation zwischen den Gruppen werden entweder fast immer als Glieder ‘Zwischen den Gruppen’ bezeichnet oder durch den Gruppierungsfaktor bestimmt (z. B. Analytiker, Tag, Laboratorium). Zur Beschreibung der Variation innerhalb der Gruppe werden in der Software, in Lehrbüchern usw. mehrere verschiedene Begriffe verwendet – ‘innerhalb der Gruppe’, ‘Residuen’, ‘Fehler’ oder ‘Messung’ sind die am häufigsten verwendeten.

Unter der Annahme, dass das geschachtelte Design in Abb. C 1 durch ein einzelnes Laboratorium ausgeführt wird, dass die Wiederholungen innerhalb jeder Gruppe unter Wiederholbedingungen erhalten wurden und dass die analytischen Bedingungen zwischen den Gruppen variieren, können die Wiederholpräzision und die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) wie folgt berechnet werden:

1. Die Wiederholpräzision-Standardabweichung  $s_r$  wird ermittelt, indem die Quadratwurzel vom quadratischen Mittelwert innerhalb der Gruppe gebildet wird, der die Varianz innerhalb der Gruppe darstellt:

$$s_r = \sqrt{MS_w} \quad (C1)$$

2. Der Beitrag zur Gesamt-Variation vom Gruppierungsfaktor ( $s_{between}$ ) wird ebenfalls aus der ANOVA-Tabelle ermittelt:

$$s_{between} = \sqrt{\frac{MS_b - MS_w}{n}} \quad (C2)$$

3. Die Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen)  $s_I$  kann nun errechnet werden, indem die o. g. Varianzkomponenten innerhalb der Gruppe und zwischen den Gruppen kombiniert werden:

$$s_I = \sqrt{s_r^2 + s_{between}^2} \quad (C3)$$

Das Experiment gemäß Abschnitt 6.6.4 kann wie folgt dargestellt werden. Als Teil einer Verfahrenvalidierung in einem Einzellabor wurden Doppelmessungen an je acht Tagen durchgeführt (Tabelle C1). Die täglichen Messungen wurden unter Wiederholbedingungen durchgeführt, an den einzelnen Tagen allerdings von unterschiedlichen Analytikern, mit unterschiedlicher Ausrüstung usw., um die Bedingungen zu imitieren, unter denen das Verfahren routinemäßig durchgeführt wird.

**Tabelle C1 – Beispiel eines Versuchsaufbaus, der Wiederholpräzision und Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) ermöglicht, die unter Nutzung der einfachen ANOVA mit akzeptablen Freiheitsgraden auszuwerten sind**

Tag:	1		2		3		4		5		6		7		8	
Ergebnis:	$x_{1,1}$	$x_{1,2}$	$x_{2,1}$	$x_{2,2}$	$x_{3,1}$	$x_{3,2}$	$x_{4,1}$	$x_{4,2}$	$x_{5,1}$	$x_{5,2}$	$x_{6,1}$	$x_{6,2}$	$x_{7,1}$	$x_{7,2}$	$x_{8,1}$	$x_{8,2}$

Eine einfache ANOVA kann verwendet werden, um die dem Verfahren innewohnende Variation (Wiederholpräzision) von der Variation infolge von Unterschieden bei den Messbedingungen zu trennen, d. h. verschiedene Analytiker, unterschiedliche Ausrüstung, lange Zeiträume (Vergleichpräzision/Zwischenbedingungen). Zu beachten ist, dass es bei diesem Ansatz nicht möglich ist, Schlussfolgerungen darüber zu ziehen, welcher der Parameter – Analytiker, Ausrüstung, Zeit – am meisten zur Vergleichpräzision (Präzision unter Zwischenbedingungen) beiträgt; aber dies ist in der Regel in der Validierungsphase nicht erforderlich.

Die Anwendung einer einfachen ANOVA auf die Ergebnisse in Tabelle C1 liefert eine Ergebnistabelle ähnlich der in Abbildung C2. Über  $F$ , kritischer Wert  $F$  und  $P$  können direkte Schlussfolgerungen darüber gezogen werden, ob die Variation zwischen den Ergebnissen, die an verschiedenen Tagen erhalten wurden, deutlich größer ist als die Variation von Ergebnissen, die an demselben Tag erhalten wurden. Die Werte für die zwei Präzisionsmessungen ( $s_r$  and  $s_I$ ) lassen sich dann leicht aus den obigen Gleichungen C1 – C3 berechnen. Die zugehörige Anzahl von Freiheitsgraden ( $\nu$ ) ist für  $s_r$   $N-p = 16-8 = 8$ . Der Wert von  $\nu$  für die Präzision unter Zwischenbedingungen ist komplexer, aber nicht kleiner als  $p-1$ , d. h. in diesem Beispiel beträgt er 7 (siehe Abbildung C2). Dies führt zu einem vernünftigen Kompromiss zwischen dem Arbeitsaufwand und der Unsicherheit der Präzisionsschätzungen.

## Anhang D – Hinweise zur qualitativen Analyse

Die qualitative Analyse folgt den grundlegenden Prinzipien der quantitativen Analyse; allerdings müssen bei der Beschreibung der Eigenschaften des Verfahrens und der Interpretation der Ergebnisse spezielle Konzepte angewandt werden. Dieser Anhang stellt die qualitative Analyse kurz vor und verweist auf entsprechende Leitlinien.

IUPAC definiert die qualitative Analyse als: *Analyse, in welcher Substanzen basierend auf ihren chemischen oder physikalischen Eigenschaften identifiziert bzw. klassifiziert werden, wie z. B. chemische Reaktivität, Löslichkeit, Molekularmasse, Schmelzpunkt, Strahlungseigenschaften (Emission, Absorption), Massenspektren, radioaktive Halbwertszeit usw.* [17]. Dies bedeutet, dass die Ergebnisse auf einer Nominalskala angegeben werden, die einer Angabe von Ergebnissen auf einer Verhältnisskala unterlegen ist. Daher wird die qualitative Analyse anstatt der quantitativen Analyse in erster Linie für Screening-Zwecke unter Einsatz von kostengünstigen Verfahren oder bei Analytkonzentrationen nahe der Nachweisgrenze empfohlen.

Ein 'qualitatives Verfahren' liefert effektiv einen 'Ja'/'Nein'-Response bei einer bestimmten Schwellenkonzentration eines Analyten [55]. Validierung schließt die Bestimmung der Schwellenkonzentration ein, um **eine Bedingung zu klassifizieren/diagnostizieren**, z. B. das Vorhandensein bzw. Fehlen eines Schmutzstoffs in Wasser, und zwar in den Fällen, wo eine Richtlinie, ein Gesetz usw. definiert, welche Schwellenkonzentration gilt.

Um die Eigenschaften eines qualitativen Verfahrens zu charakterisieren, ist ein quantitatives Verfahren mit überlegenen messtechnischen Eigenschaften (Bestätigungsverfahren), z. B. niedrigere Nachweisgrenze, optimal, um den wahren Zustand mit oder ohne Bedingung zu bestimmen. Die Eigenschaften des qualitativen Verfahrens sollten bei einer Reihe von Konzentrationen bestimmt werden, unterhalb, bei oder oberhalb der Schwellenkonzentration. Der Einsatz eines quantitativen Bestätigungsverfahrens ist der Verwendung von aufgestockten und nicht aufgestockten Leerproben vorzuziehen.

Bei qualitativen Verfahren kann die Präzision nicht als Standardabweichung oder relative Standardabweichung ausgedrückt werden, sondern als wahr- und falsch-positive und wahr- und falsch-negative Werte [55, 85, 86, 87]. Dies wird in Abbildung D1 veranschaulicht.

	Proben oberhalb der Schwelle	Proben unterhalb der Schwelle	
Positiver Test	Wahr-positive Tests	Falsch-positive Tests (Typ-I-Fehler)	Gesamtanzahl positiver Tests
Negativer Test	Falsch-negative Tests (Typ-II-Fehler)	Wahr-negative Tests	Gesamtanzahl negativer Tests
	Gesamtanzahl der Proben oberhalb der Schwelle	Gesamtanzahl der Proben unterhalb der Schwelle	

**Abbildung D1 – Eine 2 × 2 Tabelle, die als Grundlage zur Berechnung falsch-positiver und falsch-negativer Werte dient**

Die 'diagnostische Sensitivität' ist der Anteil von Proben mit einer Bedingung, z. B. Konzentration oberhalb der Schwelle, mit positiven qualitativen Testergebnissen. Die diagnostische Sensitivität ist ein grundlegendes Merkmal eines qualitativen Verfahrens; sie drückt dessen Fähigkeit aus, kleine Mengen des Analyten in einer Probe zu erkennen, um den binären Ja/Nein-Response bei einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit zu erzeugen.

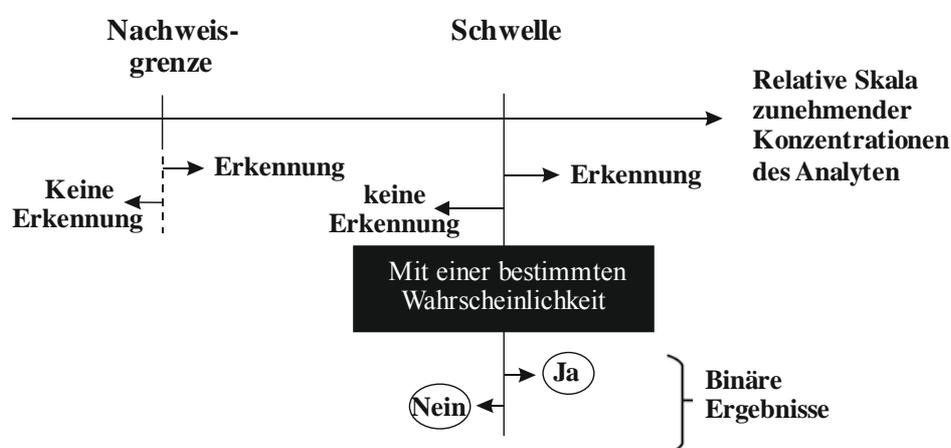
$$\text{Diagnostische Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl wahr-positiver Proben}}{\text{Gesamtanzahl der Proben mit Bedingung}} \quad (\text{D1})$$

Die 'diagnostische Spezifität' ist der Anteil von Proben ohne eine Bedingung, d. h. Konzentration unterhalb der Schwelle, mit negativen qualitativen Testergebnissen.

$$\text{Diagnostische Spezifität} = \frac{\text{Anzahl wahr-negativer Proben}}{\text{Gesamtanzahl von Proben ohne Bedingung}} \quad (\text{D2})$$

Sofern vorhanden, sollten Daten aus einem bestätigenden Verfahrensvergleich verwendet werden. Andernfalls können aufgestockte und nicht aufgestockte Leerproben gemessen werden.

Die wesentlichen Parameter für die Messqualität in einer qualitativen Analyse sind die Nachweisgrenze und die Schwelle (Abbildung D2). Die Nachweisgrenze ist ähnlich definiert wie in der quantitativen Analyse: die Konzentration eines Analyten, der ein Signal liefert, welches statistisch vom Mittelwert des Signals entsprechender Blindproben unterschieden werden kann. Die Schwelle, falls richtig ermittelt, liegt dort, wo falsch-negative Werte bei Konzentrationen oberhalb der Grenze gering sind – mit einer angegebenen Wahrscheinlichkeit. Bei der Validierung wird die vorgeschlagene Schwelle, die im dokumentierten Verfahren angegeben ist, festgelegt.



**Abbildung D2** – Es gibt zwei quantitative Angaben, die eine Ja-/Nein-Antwort in der Probenklassifizierungsart bei der qualitativen Analyse erzeugen: 1. Die dem Verfahren innewohnende Nachweisgrenze, 2. Die im dokumentierten Verfahren angegebene Schwelle. Sie werden auf einer imaginären ansteigenden Konzentrations-Skala platziert. Im Detektionsbereich, oberhalb der Nachweisgrenze, ermöglicht die Schwelle eine Unterscheidung von Konzentrationsbereichen derjenigen Komponente, bei der die richtige Ja/Nein-Antwort erzeugt wird: d. h. Nein unterhalb der Grenzen und Ja oberhalb der Grenzen.

Mehrere zusätzliche Begriffe werden in der qualitativen Analyse verwendet (Tabelle D1). Die **Vorhersagewerte** der Ergebnisse können durch Erhöhung der Prävalenz der Konzentration oberhalb der Schwelle bei den mit dem qualitativen Verfahren getesteten Proben erhöht werden, z. B. durch andere Quellen der Information als die des qualitativen chemischen Verfahrens. Im Wesentlichen verbessert dies den praktischen Wert des qualitativen Messverfahrens.

Die **Selektivität** eines qualitativen Verfahrens ist ein Ordnungsbegriff: das Ausmaß, in dem andere Analyten als der in der Spezifikation enthaltene die Analyse stören. Dieses grundlegende Merkmal des Verfahrens kann auch als dessen Fähigkeit definiert werden, Ergebnisse zu erzeugen, die nicht durch Matrixeffekte beeinflusst werden. Je besser die Selektivität, desto sicherer die Identität und Klassifizierung der Probe.

**Tabelle D1 – Definition und Berechnung von Begriffen, die die diagnostischen Eigenschaften von Messverfahren, einschließlich qualitativer Messverfahren, beschreiben**

<b>Konzept (Symbol)</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Formel</b>
Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis ( <i>LR+</i> )	Das Verhältnis der wahr-positiven Rate zur falsch-positiven Rate.	$LR+= \frac{\text{diagnostische Sensitivität}}{1 - \text{diagnostische Spezifität}}$
Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis ( <i>LR-</i> )	Das Verhältnis der falsch-negativen Rate zur wahr-negativen Rate.	$LR-= \frac{1 - \text{diagnostische Sensitivität}}{\text{diagnostische Spezifität}}$
Diagnostisches Chancenverhältnis ( <i>DOR</i> )	Dies ist eine Kombination der Begriffe diagnostische Sensitivität, diagnostische Spezifität und Wahrscheinlichkeitsverhältnisse in einer einzigen Zahl.	$DOR = \frac{LR +}{LR -}$
Positiver Vorhersagewert ( <i>PPV</i> )	Der Anteil der Proben mit einem positiven qualitativen Testergebnis, welches die Bedingung aufweist. Dies berücksichtigt die Prävalenz der Bedingung in der Zielpopulation der Proben.	$PPV = \frac{\text{Anzahl der wahren Positiven}}{\text{Gesamtanzahl der Positiven}}$
Negativer Vorhersagewert ( <i>NPV</i> )	Der Anteil der Proben mit negativen qualitativen Testergebnissen, welche die Bedingung nicht aufweisen. Dies berücksichtigt die Prävalenz der Bedingung in der Zielpopulation der Proben.	$NPV = \frac{\text{Anzahl der wahren Negativen}}{\text{Gesamtanzahl der Negativen}}$

## Quellennachweis

*(Ein Update für die derzeit wichtigsten Informationsquellen finden Sie in der EURACHEM Reading List unter Publications auf der Webseite von Eurachem, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).)*

1. ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO Geneva.
2. ISO 15189:2012 Medical laboratories – Requirements for quality and competence, ISO Geneva.
3. ISO 15195:2003 Laboratory medicine – Requirements for reference measurement laboratories, ISO Geneva.
4. J. N. Miller, Basic statistical methods for analytical chemistry. Part 2. Calibration and regression methods. A review, *Analyst*, 1991, 116, 3.
5. J. C. Miller, J. N. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, 6th ed., Pearson, Harlow, 2010, ISBN 978-0-273730422.
6. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, T. J. Duguid Farrant, *Practical statistics for the analytical scientist. A bench guide*, 2nd ed., RSC Publishing, Cambridge, 2009, ISBN 978-0-85404-131-2.
7. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2012, [www.bipm.org](http://www.bipm.org). A previous version is published as ISO/IEC Guide 99:2007, ISO Geneva.
8. V. J. Barwick, E. Prichard (eds.), *Eurachem Guide: Terminology in analytical measurement – Introduction to VIM 3*, Eurachem, 2011, ISBN 978-0-948926-29-7; deutsche Version: *Terminologie bei analytischen Messungen*, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
9. ISO 9000:2005 Quality management systems – Fundamentals and vocabulary, ISO Geneva.
10. ISO 9001:2008 Quality management systems – Requirements, ISO Geneva.
11. ISO online browsing platform (OBP), <https://www.iso.org/obp/ui/>.
12. M. Thompson, S. L. R. Ellison, R. Wood, *Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report)*, *Pure Appl. Chem.*, 2002, 74(5), 835.
13. *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*, ICH harmonised tripartite guideline, 2005, [www.ich.org](http://www.ich.org).
14. ISO 80000-1:2009 Quantities and units – Part 1: General, ISO Geneva.
15. M. H. Ramsey and S. L. R. Ellison (eds.), *Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches*, Eurachem, 2007, ISBN 978-0-948926-26-6, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
16. AMC technical brief No. 19, March 2005, M. Thompson (ed.), *Terminology – the key to understanding analytical science. Part 2: Sampling and sample preparation*, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
17. *Compendium of chemical terminology (IUPAC Gold Book)*, [www.iupac.org](http://www.iupac.org).
18. *Compendium of analytical nomenclature (IUPAC orange book)*, [www.iupac.org](http://www.iupac.org).
19. *Method validation of U.S. Environmental Protection Agency microbiological methods of analysis. Prepared for The EPA forum on environmental measurements (FEM). The FEM Microbiology Action Team, FEM Document Number 2009-01, 7 Oct., 2009.*
20. ISO 10012:2003 Measurement management systems - Requirements for measurement processes and measuring equipment, ISO Geneva.
21. *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, JCGM 100:2008 (corrected version 2010), [www.bipm.org](http://www.bipm.org). Printed as ISO/IEC Guide 98-3:2008, ISO Geneva.
22. S. L. R. Ellison, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide CG4: Eurachem/CITAC, Quantifying uncertainty in analytical measurement*, 3<sup>rd</sup> ed., Eurachem, 2012, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
23. *Guide to method validation for quantitative analysis in chemical testing laboratories, INAB Guide PS15*, 3 April 2012, [www.inab.ie](http://www.inab.ie).

24. CLSI, User verification of performance for precision and trueness; Approved guideline – 2<sup>nd</sup> ed. CLSI document EP15-A2. Wayne PA, Clinical and Laboratory Standards Institute 2005, [www.clsi.org](http://www.clsi.org).
25. AOAC Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis, 2002, [www.aoac.org](http://www.aoac.org).
26. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 1995, 67(2), 331.
27. ASTM E1601-12 Standard practice for conducting an interlaboratory study to evaluate the performance of an analytical method, 2012, [www.astm.org](http://www.astm.org).
28. CEN/TR 10345:2013 Guideline for statistical data treatment of inter laboratory tests for validation of analytical methods, CEN Brussels.
29. ISO 5725 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Parts 1-6, ISO Geneva.
30. ISO Guide 30:1992/Amd 1:2008 Terms and definitions used in conjunction with reference materials, ISO Geneva.
31. M. Thompson, P. J. Lowthian, Notes on statistics and data quality for analytical chemists, Imperial College Press, 2011, ISBN 978-1848166172.
32. E. Mullins, Statistics for the quality control chemistry laboratory, RSC, Cambridge, 2003, ISBN 978-0-854074-671-3.
33. W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, Quality assurance in analytical chemistry: Applications in environmental, food, and materials analysis, biotechnology, and medical engineering, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2006, ISBN 978-3-527-31114-9.
34. A. Kallner, Laboratory statistics. Handbook of formulas and terms (1<sup>st</sup> ed.), Elsevier, 2013, ISBN 978-0-12-416971-5.
35. Codex Alimentarius Commission, Procedural manual 21<sup>st</sup> ed., 2013.
36. Council Directive 98/83/EC (3 November 1998) on the quality of water intended for human consumption.
37. Commission Directive 2009/90/EC (31 July 2009) laying down, pursuant to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council, technical specifications for chemical analysis and monitoring of water status.
38. Commission Decision 2002/657/EC (12 August 2002) implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
39. SANCO/12571/2013 (19 Nov. 2013) Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.
40. AMC technical brief No. 17, July 2004, M. Thompson (ed.), The amazing Horwitz function, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
41. Selectivity in analytical chemistry (IUPAC recommendations 2001), *Pure Appl. Chem.*, 2001, 73(8), 1381.
42. NATA – Technical report #17 – Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative methods, 2012.
43. E. Theodorsson, Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry, *Bioanalysis*, 2012, 4(3), 305.
44. AMC technical brief No. 37, March 2009, M. Thompson (ed.), Standard additions: myth and reality, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
45. ISO 11843-1:1997/Cor 1:2003 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions, ISO Geneva.
46. ISO 11843-2:2007 Capability of detection – Part 2: Methodology in the linear calibration case, ISO Geneva.

47. ISO 11843-3:2002 Capability of detection – Part 3: Methodology for determination of the critical value for the response variable when no calibration data are used, ISO Geneva.
48. ISO 3534 Statistics – Vocabulary and symbols – Parts 1-3, ISO Geneva.
49. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995), *Pure Appl. Chem.*, 1995, 67, 1699.
50. L. A. Currie, *Detection in analytical chemistry – Importance, theory, and practice*, ACS Symposium Series 361, American Chemical Society, Washington, DC 1988.
51. Analytical Methods Committee, Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit, *Analyst*, 1987, 112, 199.
52. A. Shrivastava, V. B. Gupta, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles of Young Scientists*, 2011, 2(1), 21.
53. United States Pharmacopeia, *Validation of compendial methods*, 26<sup>th</sup> revision, National Formulary, 21<sup>st</sup> ed. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention Inc., 2003.
54. Commission Regulation (EC) No 333/2007 (28 March 2007) laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs, *Off. J. EU*, L 88/29, 29 March 2007.
55. M. Valcárcel, S. Cárdenas, D. Barceló et al., *Metrology of qualitative chemical analysis*, report EUR 20605 EN, European Commission, 2002, ISBN 92-894-5194-7.
56. H. Sahai, R. P. Singh, The use of R2 as a measure of goodness of fit: An overview, *Virginia Journal of Science*, 1989, 40(1), 5.
57. Analytical Methods Committee, Uses (proper and improper) of correlation coefficients, *Analyst*, 1988, 113, 1469.
58. ISO 11732:2005 Water quality – Determination of ammonium nitrogen – Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection, ISO Geneva.
59. A. Menditto, M. Patriarca, B. Magnusson, Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision, *Accred. Qual. Assur.*, 2007, 12, 45.
60. D. T. Burns, K. Danzer, A. Townshend, Use of the terms “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002), *Pure Appl. Chem.*, 2002, 74(11), 2201.
61. S. L. R. Ellison, B. King, M. Rösslein, M. Salit, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide Traceability in chemical measurement. A guide to achieving comparable results in chemical measurement*, 1<sup>st</sup> ed, Eurachem, 2003, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
62. P. De Bièvre, R. Dybkaer, A. Fajgelj, D. Brynn Hibbert, *Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation (IUPAC Technical Report)*, *Pure Appl. Chem.*, 2011, 83(10), 1873.
63. AMC technical brief No. 21, Sept. 2008, M. Thompson (ed.), *The estimation and use of recovery factors*, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
64. ISO Guide 33:2000 Uses of certified reference materials, ISO Geneva.
65. T. Linsinger, Application note 1, Rev. 3 2010. Comparison of a measurement result with the certified value, [www.erm-crm.org](http://www.erm-crm.org).
66. B. Magnusson, T. Näykki, H. Hovind, M. Krysell, *Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories*, Nordtest Report TR 537 (ed. 3.1) 2012, [www.nordtest.info](http://www.nordtest.info).
67. ISO 21748:2010 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation, ISO Geneva.
68. Eurolab, *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation*, Technical report No. 1/2007, [www.eurolab.org](http://www.eurolab.org).
69. S. L. R. Ellison, A. Williams, *Measurement uncertainty: the key to the use of recovery factors? From “The use of recovery factors in trace analysis”*, M. Parkany (ed.), RSC, Cambridge, 1996, ISBN 0-85404-736-0.

70. V. J. Barwick, S. L. R. Ellison, Measurement uncertainty: approaches to the evaluation of uncertainties associated with recovery, *Analyst*, 1999, 124, 981.
71. S. L. R. Ellison, V. J. Barwick, Estimating measurement uncertainty: Reconciliation using a cause and effect approach, *Accred. Qual. Assur.*, 1998, 3, 101-105.
72. G. E. O'Donnell, D. B. Hibbert, Treatment of bias in estimating measurement uncertainty, *Analyst*, 2005, 130, 721.
73. B. Magnusson, S. L. R. Ellison, Treatment of uncorrected measurement bias in uncertainty estimation for chemical measurements, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, 390, 201.
74. W. J. Youden, E. H. Steiner, *Statistical Manual of the AOAC*, AOAC International, 1975, ISBN 0-935584-15-3.
75. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 1995, 67(4), 649.
76. H. Hovind, B. Magnusson, M. Krysell, U. Lund, and I. Mäkinen, Internal quality control – Handbook for chemical laboratories, Nordtest technical report 569, 4<sup>th</sup> ed., 2011, [www.nordtest.info](http://www.nordtest.info).
77. ISO 7870 Control charts – Parts 1-5, ISO Geneva.
78. AMC technical brief No. 9, Feb. 2002, M. Thompson (ed.), A simple fitness-for-purpose control chart based on duplicate results obtained from routine test materials, [www.rsc.org](http://www.rsc.org).
79. ISO/IEC 17011:2004 Conformity assessment – General requirements for accreditation bodies accrediting conformity assessment bodies, ISO Geneva.
80. ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment – General requirements for proficiency testing, ISO Geneva.
81. I. Mann, B. Brookman (eds.), *Eurachem Guide: Selection, use and interpretation of proficiency testing (PT) schemes by laboratories*, 2<sup>nd</sup> ed., Eurachem, 2011, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
82. EA-4/18 TA, Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation, European co-operation for Accreditation, 2010, [www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org).
83. ISO 78-2:1999 Chemistry – Layouts for standards - Part 2: Methods of chemical analysis, ISO Geneva.
84. S.L.R. Ellison, A. Williams (eds.), *Eurachem/CITAC Guide: Use of uncertainty information in compliance assessment*, Eurachem, 2007, [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
85. R. R. Galen, S. R. Gambino, *Beyond normality: The predictive value and efficiency of medical diagnoses*, John Wiley and Sons, 1975, ISBN 978-0471290476.
86. M. S. Pepe, *The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction*, Oxford University Press, Oxford, 2003, ISBN 978-0-19-850984-4.
87. X-H. Zhou, N.A. Obuchowski, D.K. Mcclish, *Statistical methods in diagnostic medicine*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-Interscience, New York, 2011, ISBN 978-0-470-18314-4.

Copyright© 2014

ISBN: 978-91-87461-59-0

---