

INTERLABOR
BELP AG

ANALYTICS

Mai 2023



Q-Management ✓

**Methoden validieren –
aber richtig**

Methoden validieren – aber richtig

Autorin: Dr. Lydia Stucki

Einleitung

Eine Methodenvalidierung wird immer dann benötigt, wenn sichergestellt werden muss, dass das erhaltene Analysenergebnis mit gleichbleibender Genauigkeit und Richtigkeit bestimmt werden kann. Und das über einen längeren Zeitraum mit unabhängigen Probenmustern. Diese Anforderung findet sich in vielen Bereichen des täglichen Lebens, ist aber besonders bei der Analyse von Roh- / Hilfsstoffen und Produkten der pharmazeutischen Industrie oder auch bei der Rückstandsanalyse in Lebensmitteln von grosser Bedeutung.

Der richtige Umgang mit dem Thema Validierungen ist für viele Kunden eine brisante Angelegenheit, welche häufig mit vielen Fragezeichen verbunden ist. Die häufigsten Fragen werden im Folgenden beantwortet.

Validierungsstandard: ISO vs. GMP

In der Welt der ISO-Akkreditierung (ISO = International Organisation for Standardization) werden dabei leicht abweichende Kriterien für Validierungen vorgegeben als in der Welt der GMP (GMP = Good Manufacturing Practice). Gemäss ISO 17025 muss das Labor nachweisen können, dass das von ihnen gewählte Analysenverfahren den Anforderungen des Kunden entspricht, dass es also genügend leistungsfähig ist^[1].

Der GMP-Leitfaden zielt hingegen darauf ab, sicherzustellen, dass die angewendeten Analysemethoden den aktuellen Sicherheits-, Qualitäts- und Wirksamkeitsanforderungen der

nationalen und internationalen Behörden entsprechen und somit unabhängig sind von den Anforderungen des Auftraggebers. Der Schutz des Patienten (egal, ob Tier oder Mensch) hat hier oberste Priorität^[2].

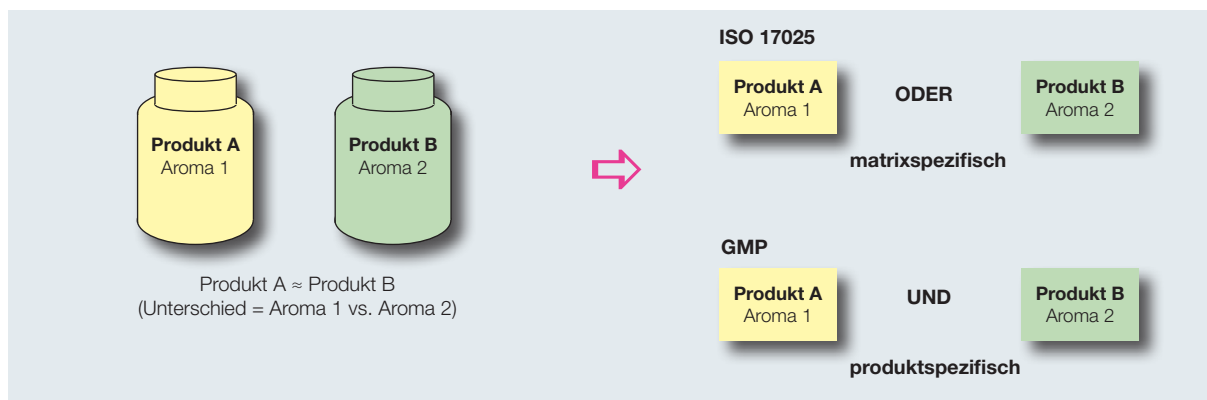
Ausserdem unterscheiden sich die beiden Qualitätsstandards noch in einem weiteren Punkt: Im Rahmen der ISO-Akkreditierung ist eine matrixspezifische Validierung ausreichend, um die Leistungsfähigkeit der Methode zu demonstrieren. Für eine GMP-konforme Validierung muss jeweils produktspezifisch validiert werden. Der Unterschied wird an nachfolgendem Beispiel deutlich (Abb. 1):

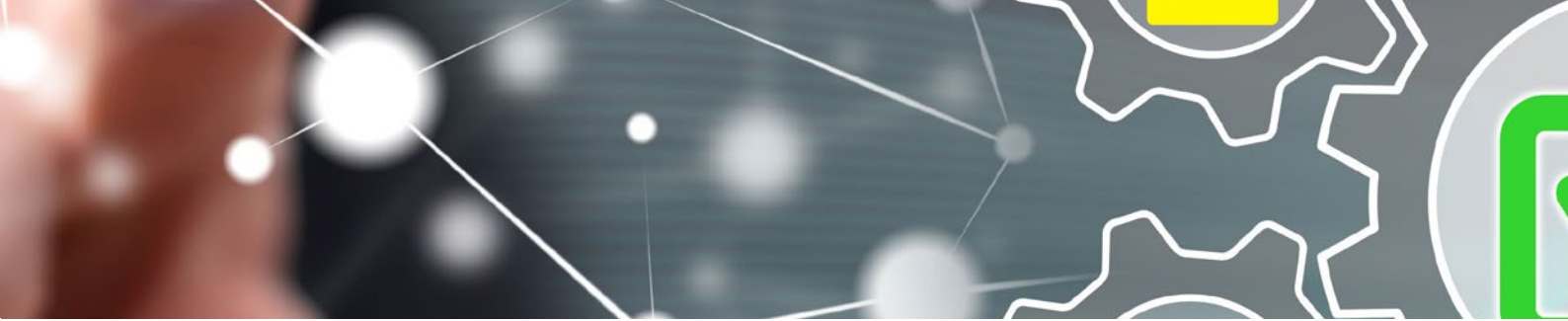
- Produkt A und Produkt B haben eine fast identische Zusammensetzung und Darreichungsform, sie unterscheiden sich lediglich im verwendeten Aromastoff.
- Für eine ISO-konforme Analyse ist es ausreichend, wenn die Methode mit Produkt A validiert wurde. Da es sich bei Produkt A und B um die gleiche Matrix handelt, ist für Produkt B keine erneute Validierung notwendig.
- Für eine GMP-konforme Analyse muss sowohl für Produkt A als auch Produkt B gezeigt werden, dass die Methode die Validierungskriterien erfüllt, d.h. es müssen beide Produkte validiert werden.

Umfang einer Validierung

Der Umfang einer Validierung richtet sich nach dem Anwendungsbereich der Methode, d.h. ob man z.B. den Gehalt an Wirkstoff in einer Probe nachweisen will oder ob man

Abbildung 1: Unterschied Validierung gemäss ISO 17025 und GMP





z.B. wissen möchte, welche Pestizide in einem Gemüse nachweisbar sind. Man kann die Analysen grob in vier Hauptkategorien einteilen^[3]:

- Quantitative Tests auf Wirkstoffgehalt
- Quantitative Tests auf den Gehalt an Verunreinigungen
- Limittests zur Kontrolle von Verunreinigungen
- Identifikationstest

Natürlich gibt es noch weitere Tests, die nicht in diese Kategorien eingeteilt werden können. Auch dafür können Validierungsarbeiten nötig sein.

Hat man die geplante Analyse in eine dieser Kategorien eingeordnet, werden die zu validierenden Parameter aufgrund des Anwendungsbereichs festgelegt. Nicht für alle Analysen sind alle Parameter notwendig bzw. gleich relevant. Sowohl die ICH-Guideline^[3] als auch die USP^[4] machen Vorschläge, welche Parameter für welche Kategorie zu prüfen sind. Bis auf wenige Ausnahmen schlagen sie identische Validierungsparameter vor. Eine vereinfachte Übersicht liefert **Tabelle 1** (kein Anspruch auf Vollständigkeit). Sie bietet eine gute Basis, anhand derer man den Umfang einer Methodvalidierung planen kann.

Wie in vielen Dingen des Lebens führen auch bei einer Validierung mehrere Wege nach Rom und die Prüfung der verschiedenen Validierungsparameter kann auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen. Beispielsweise kann man die Spezifität einer Gehaltsbestimmung mittels Titration durch den Vergleich des Verbrauchs bei einer Proben- und Blank-Analyse beurteilen. Für die Bestimmung von Verunreinigungen mittels LC würde man dagegen u.a. überprüfen, ob im Chromatogramm des Placebos Peaks im Bereich der untersuchten Analyten auftreten. Man hat also gewisse Freiheiten, solange die richtigen bzw. notwendigen Kriterien geprüft werden.

Für die Durchführung der Validierung ist es wichtig, dass die zu prüfenden Parameter und zugehörigen Akzeptanzkriterien vor Beginn der Validierung festgelegt werden. Dies geschieht im Rahmen eines Validierungsplans. Nach der experimentellen Bestimmung der zuvor festgelegten Validierungsparameter werden abschliessend die Ergebnisse der Validierung in einem entsprechenden Bericht zusammengefasst. Beide Dokumente werden mindestens durch das durchführende Labor freigegeben, für GMP ist zudem auch eine Freigabe durch den Kunden erforderlich^[5].

Tabelle 1: Übersicht gängiger Validierungsparameter gemäss ICH^[3] und USP^[4]

| ICH Kategorie | Quantitative Tests auf den Wirkstoffgehalt | | Quantitative Tests auf den Verunreinigungsgehalt | | Limittests zur Kontrolle von Verunreinigungen | | - | | Identifikationstests | |
|---------------------------------|--|-----|--|-----|---|-----|---------------|-----|----------------------|-----|
| Kategorie | Kategorie I | | Kategorie II Quantitativ | | Kategorie II Limittests | | Kategorie III | | Kategorie IV | |
| USP | USP | ICH | USP | ICH | USP | ICH | USP | ICH | USP | ICH |
| Spezifität/ Selektivität | • | • | • | • | • | • | 1) | | • | • |
| Richtigkeit | • | • | • | • | 1) | | 1) | | | |
| Präzision | • | • | • | • | | | • | | | |
| Linearität | • | • | • | • | | | 1) | | | |
| Messbereich | • | • | • | • | 1) | | 1) | | | |
| Detektionsgrenze | | | 1) | | • | • | 1) | | | |
| Bestimmungsgrenze | | | • | • | | | 1) | | | |
| Robustheit | • | • | • | • | • | • | | | | |

¹⁾ Kann erforderlich sein, abhängig von der Analysenmethode.



Was verbirgt sich aber nun eigentlich hinter den einzelnen Parametern?

Zum besseren Verständnis sind in **Tabelle 2** die Definitionen und Erläuterungen einiger relevanter Begriffe aufgeführt.

Es gibt natürlich auch Methoden, die nicht validiert werden müssen, da sie auf rein physikalischen Messungen beruhen. Da hierbei direkte Prüfergebnisse generiert werden, ist die Verwendung von kalibrierten Geräten zwingend und ausreichend, um die Validität des Ergebnisses zu bestätigen. Natürlich muss auch das Personal entsprechend auf die korrekte Anwendung der Geräte geschult sein.

Etwas hat sich geändert – was jetzt?

Sollten entweder am Produkt oder der Analysenmethode Änderungen vorgenommen werden, so muss in jedem Fall risikobasiert beurteilt werden, welche Auswirkungen das auf die Validität der Methode haben könnte. Diese Überlegungen sind notwendig, unabhängig vom zugrunde liegenden Qualitätsstandard. Werden beispielsweise die chromatographischen Bedingungen angepasst, so kann das einen signifikanten Einfluss auf die Detektion der gewünschten Analyten haben. Eine Nachvalidierung ist in diesem Fall

notwendig und wichtig, um die Funktionsfähigkeit der Methode weiterhin sicherzustellen. In Abhängigkeit von den angepassten Parametern ist dabei nicht immer eine komplette Neu-Validierung der Methode notwendig, es kann ausreichend sein, nur einzelne Parameter zu prüfen. Es empfiehlt sich, in einer Risikoabschätzung zu dokumentieren, warum welche Parameter erneut validiert werden oder eben nicht.

Umgang mit öffentlichen Methoden

Stammt die Analysenmethode aus einer öffentlich zugänglichen Quelle und wird diese unverändert übernommen, so ist keine vollständige Validierung der Methode notwendig, da sie bereits im Rahmen der Veröffentlichung / Implementierung validiert wurde. In diesen Fällen ist eine Verifizierung ausreichend, d.h. das Labor zeigt, dass es die öffentliche Methode mit den entsprechenden Leistungskriterien durchführen kann. Somit reduziert sich der Aufwand um einige Parameter. Als öffentliche Methoden werden in der Regel die Pharmakopöen anerkannt (Ph. Eur., USP-NF, Ph. Helv., DAB etc.) sowie ISO-Normen, Methoden einer Behörde (EU, BAFU etc.)^[6] oder auch validierte Methoden eines analytischen Kits (z.B. ELISA-Test)^[7].

Tabelle 2: Begriffsdefinition Validierungsparameter

| Parameter | Bedeutung |
|--------------------------|--|
| Spezifität | Fähigkeit, den Analyten in Anwesenheit anderer, erwarteter Komponenten (z.B. Matrixbestandteile) eindeutig zu erfassen |
| Selektivität | Fähigkeit, mehrere Analyten gleichzeitig zu erfassen und zu unterscheiden |
| Richtigkeit | Fähigkeit, den wahren Wert des Analyten in der Probe zu bestimmen |
| Präzision | Bestimmung der Streuung der Messwerte der Methode anhand der mehrfachen Analyse von Probenanteilen aus einer homogenen Gesamtprobe. |
| Linearität | Bestimmungen der Abhängigkeit des Messsignals von der Messgrösse |
| Messbereich | Konzentrationsbereich, innerhalb dessen quantitative Aussagen über den Analyten möglich sind |
| Detektionsgrenze | Kleinste Konzentration, bei der noch eine quantitative Aussage über den Analyten möglich ist |
| Bestimmungsgrenze | Kleinste Konzentration, bei der noch eine quantitative Aussage über den Analyten möglich ist |
| Robustheit | Prüfung der Auswirkungen von gezielten Methodenvariationen (d.h. realistische Schwankungen im Routinebereich) auf die Leistungsfähigkeit der Methode |

Für sogenannte „basic compendial procedures“, also eine definierte Auswahl an einfachen, in der Pharmakopöe beschriebenen Tests, ist gemäss USP keine Verifizierung notwendig, sofern sie routinemässig angewendet werden. In einem solchen Fall hat das Labor bereits gezeigt, dass es die Tests mit entsprechender Präzision und Richtigkeit durchführen kann. Zu diesen einfachen Tests zählen unter anderem die Bestimmung von Trocknungsverlust, Glühverlust, Säurezahl oder pH-Wert^[9].

Validierung in der Mikrobiologie

Die Analyse auf mikrobiologische Kontaminationen erfolgt in der Regel nach öffentlichen Methoden (z.B. Ph. Eur. 20612, USP <61> oder ISO 16212). Da die öffentlich zugänglichen Methoden, wie vorab erwähnt, als validiert gelten, ist zur Implementierung lediglich eine produktspezifische Verifizierung notwendig. Im Falle der Pharmakopöen geben die entsprechenden allgemeinen Kapitel bereits die dafür anzuwendenden Akzeptanzkriterien vor^{[11], [12]}.

Von einem Labor zum anderen

Nicht alle Methoden stammen aus öffentlichen Quellen oder wurden hausintern entwickelt. Es ist auch möglich, dass andere Unternehmen (Herstellbetriebe oder Analysenlabore) Methoden entwickeln und zur Analyse ihrer Produkte verwenden. Haben diese Unternehmen die entwickelte Analysenmethode bereits validiert, kann ein Methodentransfer vom ursprünglichen (Labor A) in ein neues Labor (Labor B) stattfinden. Dabei ist keine vollständige Validierung durch Labor B notwendig, wenn folgende Punkte gegeben sind:

- Labor B erhält Einblick und Zugriff auf die ursprünglichen Validierungsunterlagen.
- Labor B kann nachweisen, dass es die Kompetenz und Fähigkeit besitzt, die Methode korrekt durchzuführen.

Durch den Zugriff auf die ursprünglichen Validierungsdaten wird Labor B die Möglichkeit gegeben, die Methode nachzulesen und es erhält Einblick in das Verhalten der Methode und mögliche Probleme, z.B. in welchem Bereich sich der Detektor linear verhält oder welche Störfaktoren auftreten können etc. Zum Nachweis der Kompetenz von Labor B stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung^{[9], [10]}:

- Vergleichendes Testen: Labor A und B analysieren Proben derselben Produktionscharge (zum gleichen Zeitpunkt)
- Co-Validierung: Labor B ist bereits Teil der Validierung von Labor A, es wird die Reproduzierbarkeit der Resultate geprüft
- Re-Validierung: vollständige oder teilweise Validierung der Methode durch Labor B

In der Regel werden auch für Methodentransfers jeweils ein Plan und Bericht erstellt und von beiden involvierten Parteien freigegeben, analog zu Validierungen.

Wenn Labor B z.B. bereits Analysen für ein Produkt ähnlicher Zusammensetzung und Konzentration an Wirkstoff durchführt oder schon Methoden implementiert hat, die sehr ähnlich zu der zu transferierenden Methode sind, kann auf zusätzliche praktische Arbeiten in Labor B verzichtet werden. In diesen Fällen wird ein sogenannter „Transfer Waiver“ erstellt. Dabei handelt es sich um die risikobasierte Dokumentation, warum keine zusätzlichen Laborarbeiten notwendig sind, um sicherzustellen, dass Labor B die Analyse korrekt durchführen kann.

Fazit

Validierungen sind ein komplexes Thema, das sowohl unter ISO 17025 als auch unter GMP einen hohen Stellenwert hat. Für diese beiden Qualitätsstandards unterscheidet der Umfang einer Validierung kaum, aber die ISO-Welt arbeitet eher kundenorientiert und die GMP-Welt patientenorientiert. In beiden Fällen sind die zu prüfenden Parameter einer Validierung grundlegend abhängig von der Art der Prüfung, d.h. ob quantitative oder qualitative Tests durchgeführt werden. Ist eine Methode bereits validiert, so muss bei Änderungen am untersuchten Produkt oder an der Methode selbst jeweils beurteilt werden, ob diese Anpassungen über die ursprüngliche Validierung abgedeckt sind oder ob Nacharbeiten notwendig werden.

Wurde die Methode bereits anderweitig validiert, kann auch ein Methodentransfer stattfinden, um sie an neuer Stelle zu etablieren. Für öffentliche Methoden (auch bei mikrobiologischen Analysen) ist lediglich eine Verifizierung der Methode notwendig.



Es gibt also viele Faktoren, die risikobasiert beurteilt und berücksichtigt werden müssen, um eine ISO- bzw. GMP konforme Validierung einer analytischen Methode durchzuführen.

Gerne stehen wir Ihnen beratend zur Seite. Kontaktieren Sie unseren Kundenservice für Ihr persönliches Gespräch.

Referenzen

- [1] *SN EN ISO/IEC 17025:2018 - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*
- [2] *EU-GMP-Leitfaden, Einleitung, 07.02.2011*
- [3] *International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use, ICH Q2(R1) – Validation of Analytical Procedures, published November 2005*

- [4] *USP-NF chapter <1225>, official as of 1-Aug-2017*
- [5] *EU-GMP Leitfaden, Anhang 15 - Qualifizierung und Validierung, 30.03.2015*
- [6] *SAS-Leitfaden zur Validierung chemisch-physikalischer Prüfverfahren und zur Abschätzung der Messunsicherheit, 324dw, 2017-11, Rev. 03*
- [7] *Public Health England. (2017). Evaluations, validations and verifications of diagnostic tests, UK Standards for Microbiology Investigations, Q 1 Issue 5*
- [8] *USP-NF chapter <1226>, official as of 1-Dec-2019*
- [9] *EU-GMP Leitfaden, Kapitel 6 - Qualitätskontrolle, 28.03.2014*
- [10] *USP-NF chapter <1224>, official prior to 2013*
- [11] *Ph. Eur. chapter 01/2021: 20612*
- [12] *USP-NF chapter <61>, official prior to 2013*

Autorin



Dr. Lydia Stucki
Fachtechnisch
verantwortliche
Person

INTERLABOR BELP AG



Interlabor Belp AG

Aemmenmattstrasse 16
3123 Belp, Schweiz
Tel. +41 (0)31 818 77 77
www.interlabor.ch
info@interlabor.ch

Öffnungszeiten

Montag bis Freitag
08.00 – 12.00 Uhr
13.30 – 17.00 Uhr