

## Qualitätssicherung beim Human-Biomonitoring

### Kommission "Human-Biomonitoring" des Umweltbundesamtes

Im Rahmen eines Human-Biomonitorings bilden chemisch-analytische Untersuchungsergebnisse, wie etwa die Stoff- oder Metabolitenkonzentrationen in den Körperflüssigkeiten, die Grundlage für die Beurteilung einer Stoffbelastung bzw. einer möglichen daraus resultierenden gesundheitlichen Gefährdung von Einzelpersonen oder Bevölkerungsgruppen. Im Sinne einer Abwehr potentieller Gesundheitsschäden können chemisch-analytische Untersuchungsergebnisse die Grundlage bilden für sehr aufwendige Maßnahmen, die ihrerseits erhebliche wirtschaftliche Konsequenzen nach sich ziehen. Aus Gründen des Schutzes der Gesundheit der Allgemeinbevölkerung vor den Wirkungen von Stoffen aus der Umwelt und im Sinne eines ökonomischen Umgangs mit den volkswirtschaftlichen Ressourcen ist deshalb zu fordern, daß die Ergebnisse eines Human-Biomonitorings analytisch zuverlässig, d. h. letztendlich richtig sind.

Da die Analysenfehler mit sinkender Konzentration der nachzuweisenden Substanzen exponentiell zunehmen, ist die Durchführung einer wirksamen Qualitätssicherung speziell im umwelttoxikologischen Bereich unabdingbar.

Der Forderung nach analytischer Zuverlässigkeit, d. h. nach hinreichender Genauigkeit und Richtigkeit von Analysenergebnissen kann nur entsprochen werden, wenn die Fehlermöglichkeiten auf allen Stufen eines vollständigen Analysenverfahrens kontrolliert und minimiert werden.

Ein vollständiges Analysenverfahren besteht aus folgenden Teilschritten:

#### Präanalytische Phase

- Gewinnung des Untersuchungsmaterials am Probanden/Patienten,
- Erhebung von Einflußgrößen/Störfaktoren,
- Identifizierung des Untersuchungsmaterials/der Probe,
- Aufbereitung des Untersuchungsmaterials (z. B. Zentrifugation des Blutes zur Serumgewinnung),
- Probentransport,
- Probenlagerung,
- Vorbereitung des analytischen Systems.

#### Analytische Phase

- Dosierung der Analysenprobe,
- Aufbereitung der Analysenprobe,
- analytische Bestimmung,
- Gewinnung des Messwertes.

#### Postanalytische Phase

- Bewertung (analytische- und medizinische Beurteilung),
- Befund.

Jeder dieser Teilschritte ist fehlerträchtig. Bereits in der präanalytischen Phase können so viele Störeinflüsse und Störfaktoren wirksam werden, die das Analysenergebnis bereits vor dem Eintreffen der Probe im Labor maßgeblich ändern. Eine anschließende Analytik erscheint nur dann lohnenswert, wenn diese Störfaktoren berücksichtigt werden. Gerade die präanalytische Phase wird durch die bekannten Methoden der statistischen Qualitätssicherung (s. u.) mit Ausnahme der verfahrensbedingten Faktoren (z. B. falsche Lösemittelmenge bei einem Reagenz) nicht kontrolliert. Ansonsten deckt die statistische Qualitätssicherung unter Verwendung von Kontrollmaterialien allein die analytische Phase ab.

### **Massnahmen der Qualitätssicherung**

Hier sollen deshalb neben der bekannten statistischen Qualitätssicherung weitere Maßnahmen dargestellt werden, die zu einer Verbesserung der analytischen Zuverlässigkeit von Meßergebnissen beitragen können.

### **Qualitätssicherung im Bereich der präanalytischen Phase**

Grundsätzlich unterscheidet man 2 Arten von Einflüssen, die das Analysenergebnis verändern können.

- Einflußgrößen,
- Störfaktoren.

Als Einflußgrößen werden Faktoren bezeichnet, die in vivo die Konzentrationen (Aktivität, Häufigkeit usw.) des zu untersuchenden Analyten im Untersuchungsmaterial zum Zeitpunkt der Gewinnung des Untersuchungsmaterials mitbestimmen. Sie sind immer probanden/-patientenbezogen.

Als Störfaktoren werden Gegebenheiten bezeichnet, die, in vitro wirkend, Veränderungen des Analysenergebnisses beim untersuchten Analyten zur Folge haben (DIN 58936, 1993).

#### *Einflußgrößen*

In der Übersicht 1 sind die wichtigsten Einflußgrößen aufgeführt, die bereits in vivo den Gehalt bzw. Wert des Analyten und damit das Analysenergebnis verändern können. Um die Ergebnisse eines Biological Monitorings vergleichbar und bewertbar zu machen, müssen alle bedeutsamen Einflüsse anamnestisch erhoben und dokumentiert werden.

Übersicht 1: Die wichtigsten Einflußgrößen, die den Gehalt bzw. Wert des Analyten in vivo verändern können. Eine detaillierte Darstellung findet sich in der DIN 38 936 von 1993.

Genetisch bestimmte Einflußgrößen	(z. B. Alter, Geschlecht, ethnische Gruppe)
Herkunft der Körperflüssigkeiten	(z. B. Blut, Harn)
Ernährung	(z. B. nüchtern, Diät, Fasten, Alkohol, Zigaretten)
Medikamentengebrauch	(z. B. Ovulationshemmer, Drogen)
Tageszeit und Jahreszeit der Materialgewinnung	
Umweltfaktoren	(z. B. verkehrsreiche Straße, Industriestandorte)

### Maßnahmen zur Kontrolle der Einflußgrößen

Was den Zeitpunkt der Probenahme anbetrifft, so sollte dieser in Abhängigkeit von der Expositionszeit und der Toxikokinetik des Stoffs festgelegt werden. Jedenfalls aber sollte bei größeren Personengruppen ein und derselbe Untersuchungszeitpunkt gewählt werden.

#### Harn:

Bei der Entnahme von Harnproben, die für umweltmedizinische Fragestellungen mit herangezogen werden, wäre 24-Std.-Sammelharn wünschenswert. Da sich dies häufig nicht zuverlässig durchführen lässt, stellt der erste Morgenharn eine Alternative dar. Auf jeden Fall aber sollte in allen Fällen neben dem jeweiligen Stoffgehalt des Harns auch dessen Kreatiningehalt bzw. dessen Dichte bestimmt werden. Diese Größen können dann zur Bewertung mit herangezogen werden.

#### Frauenmilch:

Da Gehalte an persistenten Organochlorpestiziden, PCB und polychlorierten Dibenzodioxinen und -furanen in Frauenmilch von der Anzahl der Kinder, der Dauer der Stillperiode und dem Alter der Mütter abhängen, sollten bei Feldstudien in Anlehnung an Vorschläge der WHO folgende Vorgaben zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse möglichst erfüllt werden:

Alter:	20-30 Jahre
Anzahl der Kinder:	1
Alter des Kindes:	4-6 Wochen

Auch wenn bisher wesentliche regionale Unterschiede von Stoffgemischen nicht gefunden wurden, sollten vorzugsweise Proben von Frauen gesammelt werden, die mindestens seit 5 Jahren in dem betreffenden Gebiet wohnen.

In Anbetracht der aufwendigen und teuren Analytik sollte unbedingt ein spezieller Fragebogen ausgefüllt werden, um weitere Gesichtspunkte zu berücksichtigen.

### Störfaktoren

beeinflussen das Analysenergebnis in vitro, d.h. nach oder bei der Entnahme der biologischen Proben.

Um Kontaminationen durch Gefäßmaterialien und Entnahmebestecke zu vermeiden, sollten diese bei umweltmedizinischen Untersuchungen grundsätzlich von dem Labor zur Verfügung gestellt werden, das die Analysen durchführt. Auch sollten Inhomogenitäten des Probenmaterials wie Koagulation, Häniolyse oder Sedimentation soweit wie möglich vermieden werden. Zu vermeiden ist auch eine Verflüchtigung oder Zersetzung der zu untersuchenden Substanzen unter dem Einfluß des Transports und der Lagerung der Proben.

#### Blut:

Blut wird für umwelttoxikologische Analysen fast ausnahmslos aus der Armvene entnommen. Um exogene Kontaminationen insbesondere bei leichtflüchtigen Verbindungen zu vermeiden, sollte der Unterarm vor der Blutentnahme sorgfältig mit Wasser und Seife gereinigt werden. Als Desinfektionsmittel hat sich insbesondere bei Lösungsmittelanalysen in Blut 3 %-ige Wasserstoffperoxidlösung bestens bewährt. Keinesfalls dürfen bei Untersuchungen des Blutes auf Lösungsmittel die üblichen lösungsmittelhaltigen Tupfer verwendet werden.

Zur Entnahme von Blutproben verwendet man möglichst kontaminationsarme Einmalbestecke (z. B. EDTA-Monovetten der Fa. Sarstedt). Es hat sich insbesondere Kalium-EDTA als Antikoagulans bewährt. Andere Koagulanzen wie Heparinat, Oxalat haben sich als weniger geeignet erwiesen, weil es bei längeren Lagerzeiten zu einer Nachkoagulation gekommen ist.

Sollen die Blutproben auf leichtflüchtige Lösungsmittel, z. B. auf aromatische oder halogenierte Kohlenwasserstoffe untersucht werden, so sind sie unmittelbar nach der Entnahme in eine gasdichte Stechampulle zu überführen. Diese sollte ihrerseits ein Antikoagulans enthalten. Für die Lösungsmittelbestimmung im umweltrelevanten Bereich sind die Stechampullen und vor allem die teflonkaschierten Gummistopfen mindestens 1 Woche bei 150° C auszuheizen, um die Einschleppung von Lösungsmittelspurensicher zu vermeiden.

Harn:

Vor der Entnahme von Harnproben sollte sich der Proband gewaschen haben. Zur Entnahme von Harnproben verwendet man auslaufsichere 100-250 ml Weithalsflaschen mit Schraubverschluß. Falls in den Harnproben Metalle nachgewiesen werden sollen, ist es empfehlenswert, das von dem betreffenden Analysenlabor säuregespülte Becher zur Verfügung gestellt werden.

Blut- und Harnproben können in dieser Form mit der Post versandt werden. Müssen die Proben vor der eigentlichen Analytik gelagert werden, so ist dies in einem Tiefkühlgerät möglich. Bei der Bestimmung leichtflüchtiger Substanzen ist zu prüfen, ob das Kühlgerät kontaminationsfrei ist.

Nach den Vorschriften der Deutschen Bundespost müssen biologische Materialien auslaufsicher verpackt sein. Dazu ist es notwendig, das Probengefäß in einem Schutzgefäß zu versenden. In einer DIN-Norm sind die entsprechenden Anforderungen zusammengestellt (DIN 55 515; 1989).

Frauenmilch:

Für einige Untersuchungen (PCDD u. PCDF) ist eine Milchmenge bis zu 200 ml erforderlich. die nicht unbedingt an einem Tag, jedoch höchstens innerhalb von 2 Tagen gesammelt werden sollte. Während dieser 1 bis 2 Tage kann die Milch im Kühlschrank, danach muß sie im Tief-Kühlschrank gelagert werden. Die Probeflasche muß aufrecht stehen.

Die Abnahme der Milch mit der Pumpe ist so durchzuführen, daß die Milch nur mit Glas in Berührung kommt. Von der Pumpe wird die Milch direkt in die Probeflasche gefüllt. Diese sollte wie auch die Milchpumpe möglichst bereits vom untersuchenden Labor vorgespült worden sein.

Die Brust und die Hände, sollten so sauber wie möglich sein (ohne Salben, Creme o. ä.), Seife ist jedoch gründlich abzuspülen. Überschüssig mit der Pumpe abgenommene Milch darf aus hygienischen Gründen nicht dem Kind gegeben werden.

Was weitere Untersuchungsmaterialien anbetrifft, wie Haare, Zähne, Sputum, Finger- und Fußnägel, wird auf die stoffbezogenen Monographien dieses Werkes verwiesen.

## Qualitätssicherung im Bereich der analytischen Phase

### Die statistische Qualitätssicherung

Die statistische Qualitätssicherung im gesamten Bereich der Heilkunde stützt sich auf das Eichgesetz vom 01.07.1970 bzw. auf die Verordnung über die Ausnahmen von der Eichpflicht. In Ausführung dieser gesetzlichen Vorschriften hat die Bundesärztekammer im Einvernehmen mit der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt bereits 1971 Richtlinien zur Durchführung der statistischen Qualitätssicherung im Bereich der Heilkunde erarbeitet. Diese Richtlinien wurden 1988 überarbeitet, um sie der Neufassung der Eichordnung anzupassen. Die Richtlinien berücksichtigen in erster Linie die Bedürfnisse des klassischen klinisch-chemischen Laboratoriums. Es war deshalb notwendig, die Qualitätssicherung der arbeitsmedizinisch-toxikologischen Analytik eigens zu regeln. Dies geschieht im Rahmen der Gefahrstoffverordnung durch die Technische Regel 410. Für die Durchführung der statistischen Qualitätssicherung im Bereich umwelttoxikologischer Analysen sollte sinngemäß vorgegangen werden.

Der Vollständigkeit halber ist darauf hinzuweisen, daß sich unter anderem das Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz (amtliche Sammlung § 35 LMBG; 1983) und eine Deutsche Norm (DIN 38 402; 1984) mit Ringversuchen bei chemischen Analysen beschäftigt.

Im Rahmen der statistischen Qualitätssicherung werden die  
Präzision und die  
Richtigkeit  
von Laborergebnissen überprüft.

Die Präzision ist die qualitative Bezeichnung für das Ausmaß der gegenseitigen Annäherung voneinander unabhängiger Ermittlungsergebnisse bei mehrfacher Anwendung eines festgelegten Ermittlungsverfahrens unter vorgegebenen Bedingungen (DIN 58 936 Teil 2, 1989). Die Präzision zeigt also an, wie die Ergebnisse von Wiederholungsanalysen übereinstimmen. In der Präzision schlägt sich der zufällige Analysenfehler nieder.

Die Richtigkeit eines Analysenergebnisses ist im Idealfall das Maß für dessen Annäherung an den wahren Analytgehalt der Probe. Die Abweichung vom wahren Wert gibt den systematischen Fehler wider. Die Richtigkeit hängt u. a. ab von der Spezifität, mit der der betreffende Analyt erfasst werden kann.

Für die verschiedenen Maßnahmen der Qualitätssicherung sind Referenz- bzw. Kontrollmaterialien notwendig.

### Zertifizierte Referenzmaterialien

Bei einem zertifizierten Referenzmaterial handelt es sich um ein Material mit einem garantierten Analytgehalt. Dieser wird mit mehreren von einander unabhängigen Verfahren und von einer Reihe höchstqualifizierter Laboratorien bestimmt. Solches Material dient im Gegensatz zum Kontrollmaterial der Validierung eines Analysenverfahrens. Referenzmaterial wird u.a. hergestellt vom Community Bureau of Reference (BCR) der Europäischen Gemeinschaft, (Rue de la Loy 200, B-1049 Brüssel) oder dem National Institute of Standardization and Technology (USA, Gaithersburg MD 20 899; USA).

### Kontrollmaterialien

Für die laufende Präzision und Richtigkeitskontrolle benötigt man Kontrollmaterialien (Kontrollblut, Kontrollharn etc.). Diese Kontrollmaterialien unterscheiden sich von den Referenzmaterialien dadurch, daß der Analytgehalt nicht garantiert ist. Für Präzisionskontrollmaterial genügt es, daß der Analytgehalt konstant und homogen ist, d.h. von Kontrollmaterial-Abfüllung zu Kontrollmaterial-Abfüllung ein und dieselbe Konzentration enthält. Kontrollmaterialien sollten in ihrer Zusammensetzung den zu analysierenden Matrices möglichst ähnlich sein. Im vorliegenden Fall sollten also Kontrollharn- und Kontrollblutproben entweder in flüssiger oder lyophilisierter Form vorliegen. Solche Proben sollten preisgünstig und in großer Zahl herstellbar und wenigstens 6 Monate haltbar sein. Kontrollmaterialien, in denen umwelttoxikologisch relevante Analytkonzentrationen enthalten sind, können derzeit bezogen werden von der Fa. Nycomed, Oslo, sowie von der Fa. Biorad, München. Steht für den einen oder anderen Parameter käufliches Kontrollmaterial nicht zur Verfügung, so muß es selbst hergestellt werden. Man hat damit beste Erfahrungen gemacht. In diesem Fall hat es sich als praktikabel erwiesen, einen Jahresbedarf an Kontrollmaterial in aliquotierter Form in einem Tiefkühlgerät einzulagern. Beim Fehlen käuflicher Richtigkeitskontrollen ist der Probentausch zwischen Laboratorien als zusätzliches Kontrollinstrument zu empfehlen. Mit der statistischen Qualitätssicherung und den in ihrem Rahmen eingesetzten Kontrollmaterialien werden alle Schritte der analytischen Phase kontrolliert.

Die statistische Qualitätssicherung unter Verwendung von Kontrollmaterialien erfolgt (in Analogie zu den Richtlinien der BÄK)

laborintern

- Präzisionskontrolle (jede Serie)
- Richtigkeitskontrolle (jede 4. Serie)

laborextern

- Richtigkeitskontrolle (Ringversuche).

*Laborintern* wird laufend die Präzision der Analytik dadurch geprüft, daß bei jeder Analysenserie eine Probe konstanten Analytgehaltes mitanalysiert wird. Die Analytkonzentration der Präzisionskontrollprobe sollte in der Nähe der häufigsten Entscheidungsgrenze, also beispielsweise im Bereich der oberen Normgrenze liegen. Bei der Präzisionskontrolle ist der Analytgehalt dem Bearbeiter bekannt, die Ergebnisse der Präzisionskontrolle werden graphisch dokumentiert (eine Kontrollkarte für die Cobaltkonzentration des Harns zeigt Abb. 1; siehe auch DIN 58 936, Teil 5).

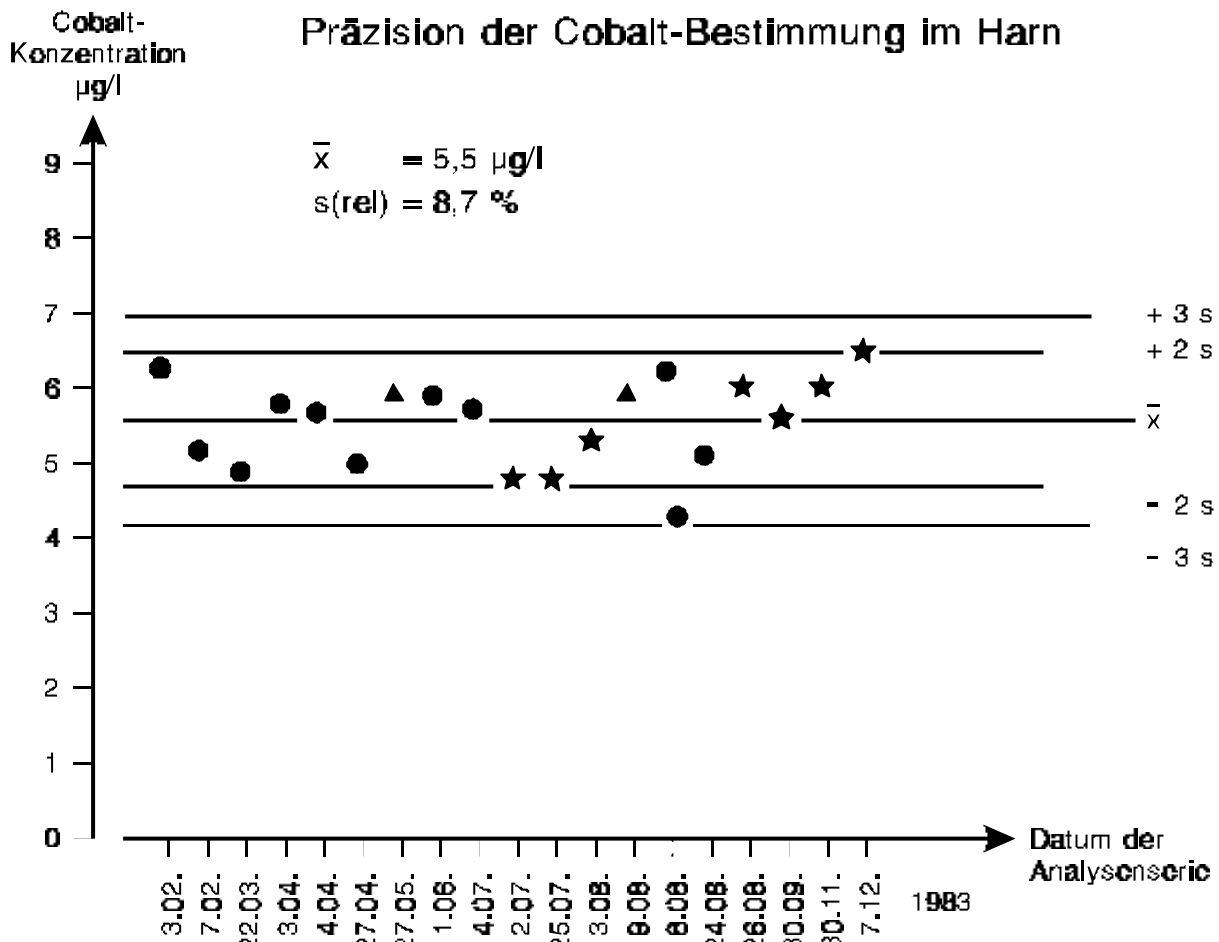


Abbildung 1: Beispiel einer Kontrollkarte für die Bestimmung von Cobalt in Harn

Es empfiehlt sich im umweltmedizinischen Bereich auch die Ergebnisse der Reagenzien-Blindwerte, die bei jeder Analysenserie mitanalysiert werden, in gleicher Weise zu dokumentieren.

Die laborinterne Richtigkeitskontrolle hat in den letzten Jahren an Bedeutung verloren, weil die Erfahrung gezeigt hat, daß innerhalb eines Labors nur schwer hinreichend viele Kontrollmaterialien mit unterschiedlichen Analytkonzentrationen vorgehalten werden können, deren Konzentrationseinstellungen dem Untersucher unbekannt sind und bleiben.

*Laborextern* wird die Richtigkeit durch die Teilnahme an Ringversuchen geprüft. Der Analytgehalt der Ringversuchsproben ist in diesem Fall weder dem Bearbeiter noch dem Laborleiter bekannt. Übereinstimmung besteht deshalb heute darin, daß Ringversuche im Hinblick auf die Richtigkeitskontrolle wirkungsvoller sind als die laborinterne Richtigkeitskontrolle. Allerdings müssen Ringversuche dann in genügender Häufigkeit durchgeführt werden.

In Deutschland organisiert die Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin mittlerweile 2 Ringversuche pro Jahr, bei denen auch der umwelttoxikologische Bereich abgedeckt wird. Die 1992 angebotenen Parameter für den umwelttoxikologischen Bereich zeigt die Übersicht 2. Ringuntersuchungen für arbeitsmedizinische und z. T. umwelttoxikologische Analysen werden darüber hinaus regelmäßig vom Toxikologiezentrum in Quebec (Centre de Toxicologie du Quebec, 2703, Boul. Laurier, Sainte-Foy Quebec G1V4G2) bzw. dem Danish External Quality Control Scheme (DEQAS) (National Institute of Occupational Health, Denmark, AMI Lersø Parkallee 05, DK-2100 Kopenhagen), angeboten. Auch das Health and

Safety Executive, United Kingdom, bietet Ringversuche für den Bereich Human-Biomonitoring an. In jüngster Zeit führen in Deutschland auch Instand und die Referenzinstitution der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie Ringversuche durch, bei denen arbeits- und umweltmedizinisch relevante Parameter zu bestimmen sind.

Übersicht 2: Ringversuch der Deutschen Gesellschaft für Arbeits- und Umweltmedizin 1992 für umwelttoxikologische Untersuchungsparameter

Meßparameter Blut*	Messparameter Urin*	Meßparameter Plasma*
Pb	As	PCB - 28
Cd	Cr	PCB - 52
Hg	Ni	PCB - 101
	Cd	PCB - 138
		PCB - 153
		PCB - 180
		PCB - Gesamt
		α -HCH
		β - HCH
		g - HCH
		HCB
		PCP
		p,p' -DDE
* Jeweils 2 Konzentrationseinstellungen		

Die WHO (Regionalbüro für Europa, Kopenhagen) führt „interlaboratory quality control studies on levels of PCB, PCDD and PCDF in human milk, blood, cow’s milk and fish“ durch. Auch das Community Bureau of Reference (BCR, Brüssel) und die "Arbeitsgruppe Pestizide“ der Lebensmittelchemischen Gesellschaft (Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker) organisieren schon seit langer Zeit auf diesem Gebiet Ringversuche.

Im allgemeinen gelangen im Rahmen eines Ringversuchs für jeden Analysenparameter wenigstens 2 Konzentrationseinstellungen zur Verteilung. Beide Analyseergebnisse die der Ringversuchsteilnehmer ermittelt hat, werden dem Ringversuchsleiter mitgeteilt. Sie müssen in den Sollwert-Bereich fallen. Nur unter diesen Bedingungen erhält der Teilnehmer ein Zertifikat für die erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch.

Sollwerte und Sollwert-Bereiche werden vor dem eigentlichen Ringversuch von Laboratorien ermittelt, deren Leistungsfähigkeit als erwiesen gilt.

### Weitere Massnahmen der Qualitätssicherung

#### Zuverlässige, geprüfte Analysenverfahren - Standard Operating Procedures (SOP)

Ein wichtiges Hilfsmittel zur Minimierung von Analysefehlern und zur Förderung der Vergleichbarkeit und Richtigkeit von Analyseergebnissen ist die Verwendung von Analysenverfahren, die hinsichtlich ihrer Zuverlässigkeit und Nachvollziehbarkeit geprüft sind. Solche Analysenverfahren, die häufig auch den umweltmedizinisch-toxikologischen Konzentrationsbereich abdecken, werden u. a. publiziert von der Arbeitsstoffkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Analysis of hazardous substances in biological materials, Bd. 1-3), von der Senatskommission für Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs-



und Vorratsschutzmittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Rückstandsuntersuchungen von Pflanzenschutzmitteln, Methodensammlung der Arbeitsgruppe "Analytik") und vom Bundesgesundheitsamt, jetzt BgVV, (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG).

Der Vorteil solcher Methodensammlungen besteht außerdem darin, daß die Art der Beschreibung der analytischen Methoden so konzipiert ist, daß dem technischen Mitarbeiter eine detaillierte Handlungsanleitung für seine Tätigkeit an die Hand gegeben wird. Sie tragen so zu einer Eingrenzung der Fehlermöglichkeiten von Labor zu Labor und von Mitarbeiter zu Mitarbeiter bei. Insofern haben solche Methoden die Funktion einer Standard Operating Procedure (SOP).

Den Aufbau einer solchen SOP zeigt Übersicht 3 am Beispiel der Methodensammlungen der DFG. Unter anderem sind in solchen Arbeitsanleitungen detaillierte Angaben zu finden zur Reinheit und Haltbarkeit der verwendeten Chemikalien, insbesondere der Standardsubstanzen. Gegebenenfalls sind auch Methoden beschrieben, die jeweiligen Substanzen zu reinigen. Auch die Herstellung der Lösungen und Vergleichsstandards sowie deren Haltbarkeit und Lagerbedingungen werden genau dargelegt. Die Bedingungen der Probenahme, des Probenverkehrs und der Lagerung sind, wie bereits erwähnt, für das Analyseergebnis von größter Bedeutung und werden deswegen in diesen Methoden präzise erläutert. Die Kalibrierung ist ein entscheidender Schritt eines vollständigen Analyseverfahrens. Die Anzahl der Kalibrierpunkte und die Aufbereitung der Kalibrierstandards werden in solchen SOP ebenso beschrieben wie der Linearitätsbereich des Verfahrens (Stabilität des Standards angeben). Vor allem ist festgelegt, wann und wie häufig die Kalibrierung erfolgen soll. Ein wichtiges Kapitel einer SOP ist schließlich dasjenige, das sich mit möglichen Störfaktoren befasst und Hinweise gibt auf besonders schwierige und fehlerträchtige Analysenschritte.

Übersicht 3: Inhalt und Aufbau einer Standard operating procedure (SOP) am Beispiel der "Analysen in biologischem Material" der Arbeitsstoffkommission der DFG

**Qualitätssicherung – Beispiel für den Inhalt von „Arbeitsanweisungen“\***

- 1 Grundlage des Verfahrens  
analytisches Prinzip - Anwendbarkeit - Kalibrierung
- 2 Geräte, Chemikalien und Lösungen
  - 2.1 Geräte
  - 2.2 Chemikalien  
Reinheit - Haltbarkeit - Hersteller - Reinigung
  - 2.3 Lösungen  
Herstellung --Haltbarkeit - Lagerbedingungen
  - 2.4 Vergleichsstandards
- 3 Probenahme und Probenaufbereitung  
Sammelphasen - Sammlung - Transport - Lagerung  
- Aliquotierung - clean up - Blindwert
- 4 Instrumentelle Arbeitsbedingungen  
apparative- Parameter
- 5 Analytische Bestimmung  
Probenvolumen - Mehrfachbestimmungen -  
Verdünnungsschritte
- 6 Kalibrierung  
Art - Aufbereitung der Standards - Linearitätsbereich -

- Häufigkeit der Kalibrierung
- 7 Berechnung des Analysenergebnisses
- 8 Qualitätssicherung
- 9 Beurteilung des Verfahrens
- 9.1 Präzision
  - Serie - Doppelbestimmungen - Tag zu Tag
- 9.2 Richtigkeit
  - Wiederfindung - Referenzmethode - Referenzmaterial - Ringversuche
- 9.3 Nachweisgrenze
  - Ermittlung - Bestimmungsgrenze
- 9.4 Störfaktoren (*besonders wichtig*)
  - Hinweise auf Schritte, die besonders fehlerträchtig sind;
  - Spezifität - Querempfindlichkeit - Anforderung an Geräte und Personal
- 10 Literatur

\*) Nach: Analysis of hazardous substances in biological materials. Vol. 2, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Hrsg.: J. Angerer und K.H. Schaller

### **Validierung der Standard Operating Procedures in den einzelnen Laboratorien**

SOP eröffnen die Möglichkeit, die Analytik und damit die Analysenergebnisse zu verbessern. Ihre Anwendung allein garantiert dies aber keineswegs. Eine Standard Operating Procedure muß in jedem Labor neu validiert werden. Das heißt, unter Verwendung der SOP müssen u.a. Präzision, Richtigkeit, Empfindlichkeit, Nachweisgrenze, Spezifität, Linearitätsbereich des Verfahrens im jeweiligen Labor erarbeitet werden. Unter anderem dienen dazu Kontroll- und zertifizierte Referenzmaterialien (s. o.).

### **Field Blanks**

Bei einem Human-Biomonitoring im umwelttoxikologischen Bereich sind Stoffkonzentrationen nachzuweisen, die, wie z. B. bei den polychlorierten Dibenzodioxinen, bis in den Bereich von pg pro Liter Körperflüssigkeit (ppq) hinabreichen. Bei Konzentrationen dieser Größenordnung nimmt die Bedeutung von Substanzeinschleppungen, z. B. durch Probenahmebestecke, Transportgefäße, ubiquitär auftretende Stoffkonzentrationen etc. überproportional zu. Unter den Bedingungen dieser extremen Spurenanalytik reicht es nicht aus, wie üblich bei jeder Analysenserie Reagenzienleerwerte zu analysieren. Diese "klassischen" Reagenzienleerwerte sind natürlich in verstärktem Maß auch bei umwelttoxikologischen Untersuchungen durchzuführen. Zusätzlich sind aber sogenannte Field Blanks mitzuführen. Bei dieser Art von Leerwerten handelt es sich um Proben, im einfachsten Fall ultrareines Wasser, das im weiteren Verlauf der Untersuchung so behandelt wird, als sei es Blut, Harn bzw. Muttermilch. Diese Field Blanks durchlaufen wie die biologischen Proben die gesamte präanalytische Phase und sollen auf diese Weise alle Spureneinschleppungen, die während des Transports der Probengefäße zum Probenahmestort, der Probenahme, des Transports und der Probenlagerung auftreten können, erfassen.

### **Protokoll der präanalytischen Phase**

Grundsätzlich sollte bei allen umwelttoxikologischen Analysen ein Protokoll erarbeitet werden, in dem alle relevanten Daten der präanalytischen Phase enthalten sind. Darin ist u. a. zu dokumentieren:

- Art der verwendeten Entnahmebestecke, der Transport- und Lagergefäße sowie deren Vorbehandlung,
- Hinweise zur Entnahme des biologischen Materials (Vorbereitung der Probanden zur Probenahme, Zeitpunkt der Probenahme, Probenvolumen etc.),
- Hinweise für die Behandlung der Field Blanks,
- Transport der Proben,
- Lagerung der Proben.

Dieses Protokoll ist vor der Durchführung der Untersuchungen allen Beteiligten zur Verfügung zu stellen und mit diesen im Detail zu besprechen. Änderungen, die sich während der Untersuchungen ergeben, sind zu dokumentieren. Letztendlich ist dieses Protokoll fester Bestandteil der Beurteilung der Ergebnisse der jeweiligen Studie.

### **LITERATUR:**

Deutsche Norm DIN 38 402 (1984)

Ringversuche. Planung und Organisation (Teil 41)

Ringversuche, Auswertung (Teil 42)

Deutsche Norm DIN 55 513 (1989)

Versandverpackungen für medizinisches und biologisches Untersuchungsgut

Beuth Verlag, Berlin

Amtliche Sammlungen § 35 LMBG (1983)

Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen

Angerer J., Schaller K.H. (1985 - 1991)

Analysis of hazardous substances in biological materials Vol. 1 - 3

VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim

Angerer, J., Schaller K.H., Lehnert, G. (1993)

Erfahrungen mit der statistischen Qualitätssicherung im arbeits- und medizinisch-toxikologischen Laboratorium

Sichere Arbeit 3, 6 - 11

Technische Regel 410 (TRGS 410 (1991)

Statistische Qualitätssicherung

In: Weinmann W, Thomas H.D. (Hrsg.)

Gefahrstoffverordnung, Carl Heymanns Verlag, Köln

Angerer J., Schaller K.H., (1976 - 1991)

Analysen in biologischem Material, Lieferungen 1 - 10. Henschler D. (Hrsg.) Deutsche Forschungsgemeinschaft VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim

Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung der statistischen Qualitätskontrolle und von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde

Deutsches Ärzteblatt 13, 959

Niosh. Manual of analytical-methods. Third edition (1990)

US Department of Health and Human Services. National Institute of Occupational Safety and Health

Guder WG (1980)

Einflußgrößen und Störfaktoren bei klinisch-chemischen Untersuchungen.

Internist 21, 533-542

Deutsche Norm DIN 58936 (1989)

Begriffe zur Qualität und Anwendung von Klassierungs-, Zähl- und Meßsystemen (Teil 2)

Präanalytik, Einflußgrößen, Störfaktoren (Teil 8) (1993).