



Federaal Agentschap
voor de Veiligheid
van de Voedselketen

Bestuur Laboratoria



Procedure

BEPALING VAN DE MEETONZEKERHEID VOOR KWANTITATIEVE CHEMISCHE ANALYSES

Datum van toepassing :

- zie datum goedkeuring voor nieuwe methoden waarvoor men een erkenning aanvraagt;
- ten laatste op 01/01/2011 voor alle methoden waarvoor een erkenning bekomen is.

	Naam – functie / dienst	Datum	Handtekening
Opgesteld door:	Ronny Martens FLVVM	31/10/2008	
Nagezien door	Frans De Volder QAM	31/10/2008	
Goedgekeurd door:	Geert De Poorter Directeur-generaal Bestuur Laboratoria	03/11/2008	

Overzicht herziening van het document

Herziening door/datum*	Reden van herziening	Tekstdeel / draagwijdte van de herziening

* Het verschil tussen de huidige datum en de laatste herziening mag niet meer dan 5 jaar bedragen.

Revisienummer en indien van toepassing het jaar aanpassen. Na goedkeuring de datum van toepassing aanpassen rekening houdend met de tijd om de betrokken medewerkers te informeren.

Bestemmingen

Alle erkende laboratoria :

- FAVV laboratoria
- NRL
- Externe laboratoria

De documenten zijn beschikbaar op de website van het FAVV (www.favv.be > Beroepssectoren > Laboratoria > Erkende laboratoria > Dienstnota's).

Voor de medewerkers van het FAVV zijn de documenten ook beschikbaar op de centrale server. De versies opgeslagen onder A zijn de van toepassing zijnde versies.

Trefwoorden: meetonzekerheid
kwantitatieve chemische analyses

BEPALING VAN DE MEETONZEKERHEID VOOR KWANTITATIEVE CHEMISCHE ANALYSES

INHOUDSTABEL

1	DOEL	4
2	TOEPASSINGSGBIED	4
3	WETTELIJKE EN NORMATIEVE DOCUMENTEN	4
4	DEFINITIES EN AFKORTINGEN	4
5	ALGEMEEN	5
6	TOP-DOWN BENADERING VIA JUISTHEID EN REPRODUCEERBAARHEID	5
6.1	ALGEMEEN	5
6.2	ACHTERGROND	6
6.3	INTRA-REPRODUCEERBAARHEID.....	8
6.3.1	<i>Intra-reproduceerbaarheid uit de controlekaart van een CRM of van een matrixidentiek controlemonster</i>	9
6.3.2	<i>Intra-reproduceerbaarheid uit de controlekaart van een CRM of van een controlemonster aangevuld met gegevens van duplobepalingen op routinemonsters</i>	9
6.3.3	<i>Intra-reproduceerbaarheid uit ringtesten</i>	10
6.3.4	<i>Intra-reproduceerbaarheid alleen uit routinemonsters</i>	11
6.4	JUISTHEID / BIAS	12
6.4.1	<i>Bepaling van de juistheid / bias uit de controlekaart van een gecertificeerd referentiemonster (CRM)</i>	12
6.4.2	<i>Bepaling van de juistheid / bias uit ringtesten</i>	14
6.4.3	<i>Bepaling van de juistheid / bias uit recovery-experimenten</i>	15
6.5	BEREKENEN VAN DE UITGEBREIDE MEETONZEKERHEID U	17
6.6	MEETONZEKERHEID BIJ VERSCHILLENDE CONCENTRATIES	18
7	CONTROLE OP DE BEREKENING	18
8	VERWIJZING NAAR BIJHORENDE PROCEDURE, INSTRUCTIES, DOCUMENTEN, FORMULIEREN OF LIJSTEN	18

BEPALING VAN DE MEETONZEKERHEID VOOR KWANTITATIEVE CHEMISCHE ANALYSES

1 Doel

Dit document heeft tot doel om richtlijnen te geven voor het bepalen van de meetonzekerheid van chemische analyses zodat die tussen de laboratoria op een éénduidige en consistente manier bepaald wordt.

2 Toepassingsgebied

Deze procedure beschrijft de werkwijze voor het bepalen van de meetonzekerheid op analyseresultaten voor chemische analyses.

3 Wettelijke en normatieve documenten

De uitvoerinstrucities zijn opgesteld in overeenstemming met de eisen van de norm NBN EN ISO/IEC 17025 clausule 5.4.6.

4 Definities en afkortingen

b en %b	bias / relatieve bias
C_{belast}	de waarde waarop een proefmonster belast (gespiked) werd
C_{cons}	de consensuswaarde bij een ringtest
C_{ref}	de referentiewaarde
CRM	gecertificeerd referentiemateriaal (certified reference material)
%d	relatief duploverschil
k	dekkingsfactor om over te gaan van de relatieve meetonzekerheid %u naar de uitgebreide relatieve meetonzekerheid %U
$\%MS_{\text{bias}}$	de gemiddelde relatieve kwadratensom (Mean Square) van de bias
R	de reproduceerbaarheid (= $2,8 s_R$)
$\%R_{\text{gem}}$	de relatieve gemiddelde range (voor duplo's : het gemiddelde van de relatieve duploverschillen %d tussen twee gepaarde waarden)
RSD	de relatieve standaardafwijking, berekend als $RSD = 100 * s/X$ met s de standaardafwijking en X de meetwaarde. RSD wordt uitgedrukt in %.
RSD_{bias}	de relatieve standaardafwijking van de bias
RSD_{CC}	de relatieve standaardafwijking afgeleid uit een controlekaart
s	de standaardafwijking
s_{CRM} en RSD_{CRM}	de (relatieve) standaardafwijking afgeleid uit de controlekaart van een CRM
s_r en RSD_r	de (relatieve) standaardafwijking onder herhaalbaarheidsomstandigheden
s_R en RSD_R	de (relatieve) standaardafwijking onder reproduceerbaarheidsomstandigheden
u_{bias} en $\%u_{\text{bias}}$	de (relatieve) meetonzekerheid op de bias
u_c	de gecombineerde meetonzekerheid
u_{Rw} en $\%u_{\text{Rw}}$	de (relatieve) meetonzekerheid op de intra-lab reproduceerbaarheid
u_{Cref} en $\%u_{\text{Cref}}$	de (relatieve) meetonzekerheid verbonden met de referentiewaarde van een CRM
%u	de relatieve meetonzekerheid, $\%u = 100 * u/X$ met X de meetwaarde.

$\%u_{\text{belast}}$	$\%u$ wordt uitgedrukt in %. de relatieve meetonzekerheid op de belaste waarde (spike) bij een terugvindings(recovery)experiment
$\%u_{\text{Cref, belast}}$	de relatieve meetonzekerheid op de standaardoplossing die gebruikt werd bij een terugvindings(recovery)experiment
$\%u_{\text{Cons}}$	de relatieve meetonzekerheid van de consensuswaarde bij een ringonderzoek
$\%u_{\text{ref}}$	de relatieve meetonzekerheid van alle consensuswaarden bij meerdere ringonderzoekingen
$\%u_{\text{p}}$	de relatieve bias van het pipetvolume zoals gebruikt bij een terugvindings(recovery)experiment
$\%u_{\text{v}}$	de relatieve meetonzekerheid van het pipetteren bij een terugvindings(recovery)experiment
U en $\%U$	de (relatieve) uitgebreide meetonzekerheid

5 Algemeen

Bij het berekenen van de meetonzekerheid op een analyseresultaat kan men in principe twee benaderingen toepassen: de 'Bottom-up' benadering, waarbij alle mogelijke bronnen van variatie op het resultaat afzonderlijk opgelijst worden en de bijdrage tot de meetonzekerheid van elke bron bepaald wordt, en de 'Top-down' benadering waarbij men uitgaat van een statistische evaluatie van analyseresultaten die de volledige analysegang doorlopen hebben.

Wegens de moeilijkheid om bij een 'Bottom-up' benadering van een chemische analyse alle mogelijke bronnen van variatie vast te leggen, werd er in dit document gekozen voor een 'Top-down' benadering.

De uitgebreide meetonzekerheid **U** wordt gedefinieerd als 2 maal de gecombineerde meetonzekerheid u_c . De veronderstelling hierbij is dat de gecombineerde meetonzekerheid voldoende vrijheidsgraden bezit (= afgeleid is uit een voldoende aantal meetwaarden) zodat bij het bepalen van het 95% interval de afgeronde waarde van 2,0 van de *t*-verdeling mag gebruikt worden.

De berekeningen worden uitgevoerd met een voldoende aantal significante cijfers; afronden gebeurt slechts op het einde van de berekening van de uitgebreide meetonzekerheid **U**.

6 Top-down benadering via juistheid en reproduceerbaarheid

6.1 Algemeen

Bij het berekenen van de uitgebreide meetonzekerheid **U** kunnen verschillende benaderingen toegepast worden afhankelijk van de beschikbare gegevens. De drie belangrijkste benaderingen zijn :

- uitgaan van de gegevens die verkregen werden bij de originele validatie van de toegepaste genormaliseerde methode,
- uitgaan van gegevens die verkregen werden bij deelname aan ringonderzoekingen en

- uitgaan van gegevens die verkregen werden in het eigen laboratorium bij het routinematig uitvoeren van de methode.

De eerste benadering heeft als voordeel dat de uitgebreide meetonzekerheid \mathbf{U} kan afgeleid worden uit de resultaten van het ringonderzoek waarmee de genormaliseerde methode oorspronkelijk gevalideerd werd. Dan geldt dat $\mathbf{U} = 2\mathbf{s}_R$, met \mathbf{s}_R de standaardafwijking van de reproduceerbaarheid. Het aandeel van de spreiding tussen laboratoria is op die manier al in \mathbf{s}_R inbegrepen. De nadelen van deze benadering zijn dat dit alleen geldt indien de methode **exact** uitgevoerd wordt zoals beschreven in de norm, dat men moet kunnen aantonen dat de eigen bias verwaarloosbaar is en dat bij routine-analyses de gegevens op de controlekaarten steeds binnen de waarden voor de herhaalbaarheid r (spreiding van de duplobepalingen) en reproduceerbaarheid R (spreiding over langere termijn) moeten vallen. Een bijkomend nadeel is dat de eigen meetonzekerheid beter kan zijn dan die afgeleid uit het ringonderzoek voor de validatie en men dus de eigen meetonzekerheid overschat. En natuurlijk kan dit alleen maar toegepast worden wanneer er gegevens van een dergelijk ringonderzoek beschikbaar zijn.

De tweede benadering – uitgebreide meetonzekerheid \mathbf{U} uit ringonderzoekingen waaraan men deelgenomen heeft – heeft eveneens als voordeel dat de spreiding tussen laboratoria al in de meetonzekerheid inbegrepen is. \mathbf{U} wordt dan op een analoge manier berekend als $\mathbf{U} = 2\mathbf{s}_R$, met \mathbf{s}_R de standaardafwijking van de reproduceerbaarheid bij de ringonderzoekingen. Een voorwaarde om deze benadering te mogen toepassen is dat het eigen laboratorium goed gescoord heeft bij deze ringonderzoekingen. Ook hier is het nadeel dat de eigen meetonzekerheid beter kan zijn dan die afgeleid uit de ringonderzoekingen en men de eigen meetonzekerheid daardoor kan overschatten. En ook hier kan dit alleen toegepast worden als er ringonderzoekingen voor de betreffende methode en parameter georganiseerd worden.

De derde benadering – uitgebreide meetonzekerheid \mathbf{U} uit gegevens verkregen in het eigen laboratorium – heeft een aantal voordelen ten opzichte van de vorige benaderingen: het resultaat heeft betrekking op de methode zoals die werkelijk in het laboratorium toegepast wordt (dus met inbegrip van de wijzigingen t.o.v. de norm) en men kan resultaten gebruiken die in het kader van de routine-analyses verkregen worden (controlekaarten, duploverschillen e.d.). Indien gewenst kan men er ook de resultaten van ringonderzoekingen bij betrekken. En tenslotte is het mogelijk om bij deze benadering een beter inzicht te krijgen in het relatieve belang van de verschillende bronnen van meetonzekerheid.

Het is de derde benadering die in deze procedure verder uitgewerkt wordt.

6.2 Achtergrond

Bij het bepalen van de uitgebreide meetonzekerheid \mathbf{U} uit gegevens die verkregen worden in het eigen laboratorium zijn er twee factoren van belang: enerzijds de juistheid of bias en anderzijds de precisie of intra-reproduceerbaarheid. De bias kan beschouwd worden als de systematische fout en de precisie als de toevallige fout op een meting.

De bias zelf kan nog opgesplitst worden in enerzijds \mathbf{b} , de waarde van de bias, en anderzijds \mathbf{u}_{bias} , de onzekerheid op die waarde. Naast deze twee componenten die met de bias

verbonden zijn, moet er ook rekening gehouden worden met u_{Rw} , de onzekerheid afkomstig van het analyseproces zelf die gekarakteriseerd wordt door de intra-reproduceerbaarheid (Rw staat hier voor within-lab Reproducibility). Het zijn deze drie componenten, een 'systematische' en twee 'toevallige', waaruit de uitgebreide meetonzekerheid U berekend wordt.

Nu zijn er verschillende manieren waarop de biascomponenten b en u_{bias} kunnen berekend worden.

Bij de methode van de kwadratische combinatie wordt de uitgebreide meetonzekerheid U beschouwd als de som van twee toevallige componenten u_{bias} en u_{Rw} . Dit impliceert dat, indien er een significante bias aanwezig is, er voor deze bias gecorrigeerd wordt. Wanneer er geen significante bias bestaat of wanneer deze klein is of wanneer er niet voor de bias gecorrigeerd wordt, dan wordt de waarde ervan opgenomen in u_{bias} , de onzekerheid verbonden met de bias. De formule voor de uitgebreide meetonzekerheid U wordt dan (met een dekkingsfactor $k=2$) :

$$U = 2\sqrt{(u_{bias}^2 + u_{Rw}^2)}.$$

Opmerking : zelfs wanneer de bias niet significant verschilt van 0 moet men toch rekening houden met u_{bias} , de onzekerheid erop. De bias wordt immers geschat, en u_{bias} karakteriseert de onzekerheid op die schatting. Het op 0 stellen van de bias b komt dan overeen met een verschuiving van de referentiewaarde en dat heeft geen effect op de spreiding rond die waarde.

Het hiernavolgend schema voor het bepalen van de meetonzekerheid verloopt als volgt :

- bepaal de intra-reproduceerbaarheid,
- bepaal de bias en de spreiding erop,
- bereken de volledige meetonzekerheid door alle factoren samen te nemen.

De berekeningen kunnen zowel uitgevoerd worden met de absolute waarden van de standaardafwijkingen s als met de relatieve waarden ervan (**RSD**, de relatieve standaardafwijking). Hierbij geldt dat

$$RSD = 100 * s/X$$

met X de waarde van de parameter.

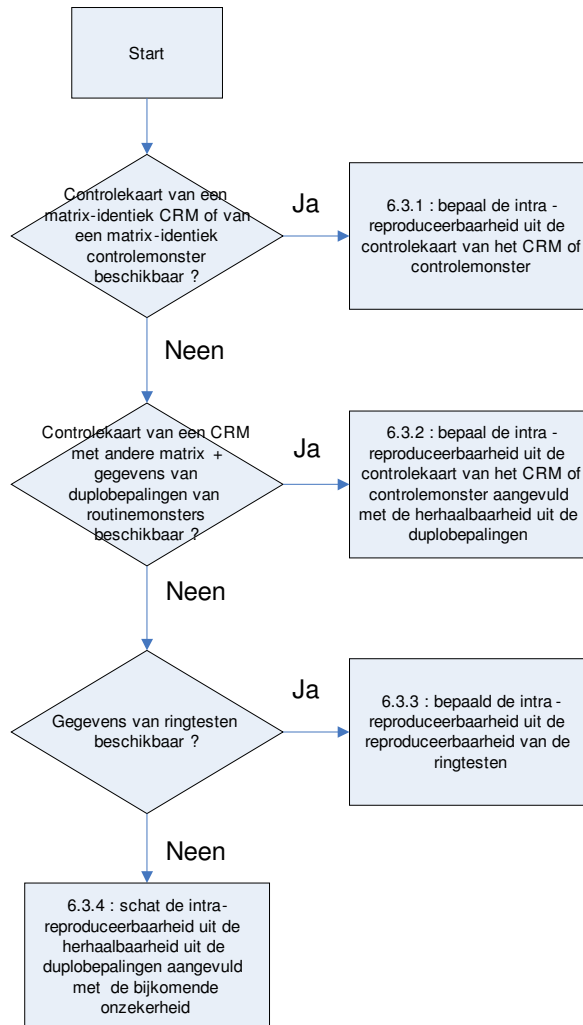
Voorbeeld: als de standaardafwijking s van een meting 2,4 mg/kg bedraagt op een niveau $X = 200$ mg/kg, dan is **RSD** = $100 * 2,4/200 = 1,2\%$.

Het voordeel van het werken met relatieve waarden is dat resultaten verkregen bij verschillende concentratieniveaus (vb. verschillende CRM's) gemakkelijk kunnen gecombineerd worden. Het is omwille van deze reden dat in wat volgt er met de relatieve waarden gewerkt wordt.

6.3 Intra-reproduceerbaarheid

De relatieve **intra-reproduceerbaarheid** $\%u_{RW}$ is een maat voor de spreiding van de analyseresultaten binnen eenzelfde laboratorium op langere termijn. Die langere termijn is belangrijk omdat pas op langere termijn de invloed van sommige factoren (verschillende analisten, verschillende apparatuur indien aanwezig, verschillende batches reagentia en standaarden, verschillende tijdstippen, verschillende omgevingscondities,...) tot uiting kan komen in de meetonzekerheid.

Afhankelijk van de gegevens waarover men beschikt kan deze parameter op verschillende manieren bepaald worden. Deze verschillende procedures worden hierna gegeven **in afnemende volgorde van voorkeur**, wat impliceert dat men de eerste procedure gebruikt waarvoor men de nodige gegevens kan verkrijgen. Dit wordt voorgesteld in het stroomdiagram hiernaast.



6.3.1 Intra-reproduceerbaarheid uit de controlekaart van een CRM of van een matrixidentiek controlemonster

Het CRM of het controlemonster moeten de volledige analysegang ondergaan en **qua matrix representatief zijn voor de routinemonsters**. Wanneer hieraan voldaan is, dan is de relatieve variantie van de intra-reproduceerbaarheid gelijk aan RSD_{CC}^2 , de relatieve variantie zoals afgeleid uit de controlekaart van het CRM of van het controlemonster :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_{CC}^2$$

Voorbeeld: uit een controlekaart van een CRM werden een gemiddelde waarde $X = 30,5$ mg/kg en een standaardafwijking s van 1,52 mg/kg berekend.

De relatieve standaardafwijking $RSD_{CC} = 100 \cdot 1,52 / 30,5 = 4,98\%$ en de relatieve variantie $RSD_{CC}^2 = (4,98)^2 = 24,84 = \%u_{Rw}^2$.

6.3.2 Intra-reproduceerbaarheid uit de controlekaart van een CRM of van een controlemonster aangevuld met gegevens van duplobepalingen op routinemonsters

Deze werkwijze is aangewezen wanneer het gebruikte CRM of het controlemonster **niet representatief zijn voor de matrices van de routinemonsters**. Omdat in een dergelijk geval de intra-reproduceerbaarheid die afgeleid wordt uit de controlekaart de werkelijke spreiding kan onderschatten, wordt de intra-reproduceerbaarheid vermeerderd met de herhaalbaarheid zoals die geschat wordt uit de duplobepalingen van routinemonsters. De werkwijze is als volgt :

- bepaal uit de controlekaart de relatieve variantie van het controlemonster RSD_{CC}^2 ,
- bereken de relatieve range $\%d$ (de relatieve duploverschillen) van elk routinemonster als

$$\%d = 100 \cdot |x_1 - x_2| / X$$

waarbij x_1 en x_2 de individuele meetwaarden van de duplobepaling zijn en X hun gemiddelde.

- bereken de gemiddelde relatieve range $\%R_{gem}$, het gemiddelde van de relatieve duploverschillen $\%d$,
- bereken uit $\%R_{gem}$ de relatieve standaardafwijking van de herhaalbaarheid RSD_r :

$$RSD_r = \%R_{gem} / 1,128$$

- de relatieve variantie van de meetonzekerheid afkomstig van de intra-reproduceerbaarheid is dan de som van de twee varianties :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_{CC}^2 + RSD_r^2$$

Voorbeeld: er is een controlekaart beschikbaar van een referentiemateriaal voor dezelfde analytische parameter maar een andere matrix dan bij de routinemonsters. De statistische parameters afgeleid uit deze controlekaart zijn: gemiddelde waarde $\bar{X} = 40,5$ mg/kg en standaardafwijking $s = 0,84$ mg/kg. Hieruit volgt dat $RSD_{cc} = 100 \cdot 0,84 / 40,5 = 2,07\%$ en $RSD_{cc}^2 = (2,07)^2 = 4,30$.

Uit de duplobepalingen van routinemonsters worden de relatieve duploverschillen %d berekend (zie tabel, x_1 en x_2 zijn de duplowaarden, \bar{X} is het gemiddelde van de duplowaarden, $|x_1 - x_2|$ is het absolute verschil tussen de duplowaarden en %d is het relatieve verschil $100 \cdot |x_1 - x_2| / \bar{X}$).

Opmerking : in de praktijk meer duplowaarden gebruiken dan in de tabel !

x_1	x_2	\bar{X}	$ x_1 - x_2 $	%d
45,2	40,1	42,65	5,1	11,96
62,8	60,4	61,60	2,4	3,90
83,5	87,6	85,55	4,1	4,79
59,0	53,3	56,15	5,7	10,15
39,1	43,5	41,30	4,4	10,65
25,5	28,4	26,95	2,9	10,76
Relatieve gemiddelde range % R_{gem} :				8,70

De relatieve gemiddelde range % R_{gem} (het gemiddelde van kolom %d) = 8,70%.

RSD_r is dan % $R_{gem} / 1,128 = 8,70 / 1,128 = 7,72\%$ en $RSD_r^2 = (7,72)^2 = 59,51$.

% u_{Rw} ² is de som van de twee varianties : % u_{Rw} ² = 4,30 + 59,51 = 63,82.

6.3.3 Intra-reproduceerbaarheid uit ringtesten

Deze werkwijze kan toegepast worden **indien er geen interne informatie beschikbaar is waaruit de intra-reproduceerbaarheid kan geschat worden**. Als schatting van de intra-reproduceerbaarheid kan dan de relatieve waarde voor de reproduceerbaarheid van de ringtest(en) RSD_R gebruikt worden :

$$\%u_{Rw}^2 = RSD_R^2$$

Indien de resultaten van meerdere ringtesten moeten gecombineerd worden, doet men dat best door het gewogen gemiddelde van alle RSD_R^2 's te berekenen :

- bepaal voor elke ringtest RSD_R^2 en vermenigvuldig die met het aantal vrijheidsgraden van die ringtest m-1 (het aantal deelnemende laboratoria - 1),
- bereken de gecombineerde RSD_R^2 als som van alle termen en deel die door het totale aantal vrijheidsgraden (= totale aantal deelnemende laboratoria - aantal ringtesten).

Voorbeeld: er werd deelgenomen aan 6 ringtesten met de volgende resultaten (Conc. = referentiewaarde, s_R = standaardafwijking van de reproduceerbaarheid, m = aantal deelnemers, $RSD_R = 100 \cdot s_R / \text{Conc.}$) :

Conc. (mg/kg)	s _R (mg/kg)	m	RSD _R (%)	RSD _R ² *(m-1)
42,3	5,6	20	13,24	3330
51,1	7,8	18	15,26	3961
65,9	9,0	15	13,66	2611
55,3	8,1	21	14,65	4291
72,8	6,3	18	8,65	1273
31,2	8,2	21	26,28	13815
Totaal aantal deelnemers :		113	Som :	29281

Het aantal vrijheidsgraden is het totale aantal deelnemers – het aantal ringtesten = 113 – 6 = 107.

De gecombineerde $RSD_R^2 = 29281/107 = 273,65 = \%u_{RW}^2$.

6.3.4 Intra-reproduceerbaarheid alleen uit routinemonsters

Wanneer er **geen controlemonster beschikbaar** is en er ook **geen gegevens van ringtesten** zijn, dan kan men als laatste toevlucht de intra-reproduceerbaarheid schatten met als startpunt de duploverschillen van routinemonsters. Deze werkwijze moet in de mate van het mogelijke vermeden worden !

Uit de duploverschillen wordt eerst de relatieve range %d en vervolgens de gemiddelde relatieve range %R_{gem} berekend, waaruit dan de relatieve standaardafwijking van de herhaalbaarheid RSD_r afgeleid wordt (zie hoger).

Omdat de herhaalbaarheid een onderschatting is van de intra-reproduceerbaarheid, moet een bijkomende component RSD_{Rb} in rekening gebracht worden die verband houdt met de verschillen tussen dagen e.d. Om deze component te schatten moeten alle mogelijke bijkomende gegevens over die analyse gebruikt worden; bij gebrek daaraan (wat het geval kan zijn bij het invoeren van een nieuwe analyse) kan desnoods een 'educated guess' gebruikt worden op basis van de ervaring met analoge methoden e.d.

De relatieve variantie van de intra-reproduceerbaarheid is dan de som van de twee varianties:

$$\%u_{RW}^2 = RSD_{Rb}^2 + RSD_r^2$$

Voorbeeld: uit duplobepalingen (zie tabel onder 6.3.2) werd afgeleid dat %R_{gem} = 8,70 en daaruit dat RSD_r = 8,70/1,128 = 7,72%.

Uit de controlekaart van een analoge analyse schat men dat de bijkomende component RSD_{Rb} = 2,5%.

Daaruit volgt dat $\%u_{RW}^2 = (7,72)^2 + (2,5)^2 = 65,76$.

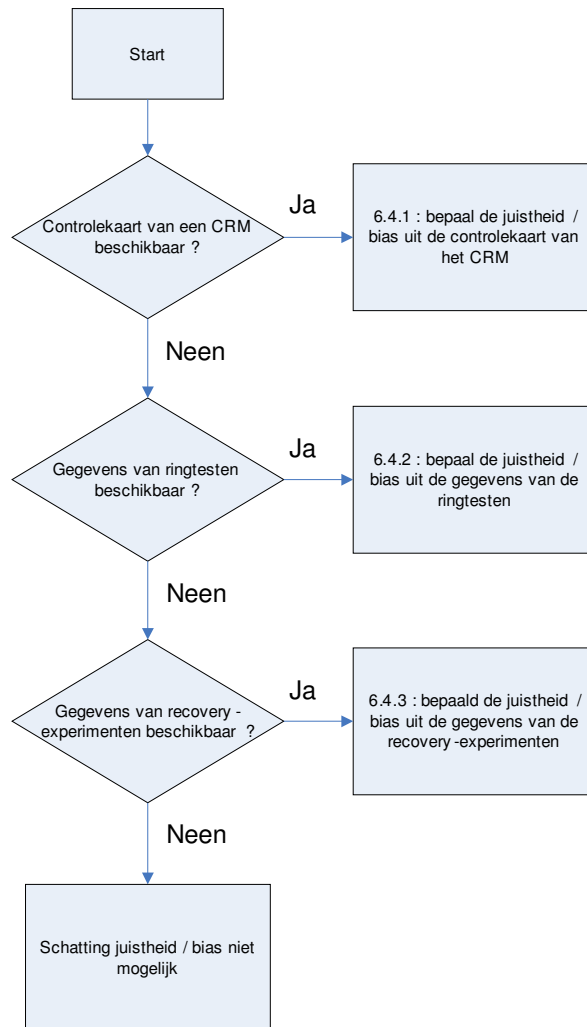
6.4 Juistheid / bias

De **juistheid** is de mate van overeenstemming tussen de gemiddelde waarde verkregen uit een reeks meetwaarden en de 'ware' waarde. Deze laatste parameter is echter niet gekend en wordt bij voorkeur geschat met behulp van gecertificeerd referentiemateriaal (CRM); de gecertificeerde waarde wordt dan beschouwd als de 'ware' waarde. De resultaten verkregen na analyse van het CRM worden vergeleken met de gecertificeerde waarde en op basis daarvan wordt de bias berekend.

Indien er geen CRM beschikbaar is, kan de bias afgeleid worden uit de gegevens van ringtesten, waarbij de 'consensus value' van het onderzochte materiaal dan beschouwd wordt als de 'ware' waarde.

Als ander alternatief kan men de bias schatten uit terugvindings(recovery)-experimenten van belaste monsters, waarbij de belaste hoeveelheid dan als surrogaat voor de 'ware' waarde dient.

Dit wordt voorgesteld in het stroomdiagram hiernaast.



6.4.1 Bepaling van de juistheid / bias uit de controlekaart van een gecertificeerd referentiemonster (CRM)

Een CRM wordt gekenmerkt door 2 parameters : C_{ref} , de gecertificeerde referentiewaarde en U_{Cref} , de uitgebreide meetonzekerheid op die referentiewaarde. De referentiewaarde wordt gebruikt om de waarde van de bias te bepalen, U_{Cref} moet in rekening gebracht worden bij het bepalen van de onzekerheid op de bias.

De procedure verloopt als volgt :

- bereken uit de opgegeven uitgebreide meetonzekerheid U_{Cref} de relatieve meetonzekerheid $\%u_{Cref}$ als

$$\%u_{Cref} = (100 * U_{Cref}) / (k * C_{ref})$$

waarbij k de dekkingsfactor is die bij de berekening van U_{Cref} gebruikt werd (dit wordt vermeld op het certificaat en is meestal gelijk aan 2) en C_{ref} de gecertificeerde referentiewaarde. De relatieve meetonzekerheid $\%u_{Cref}$ is dan een maat voor de onzekerheid die verbonden is met het feit dat de 'ware' waarde van het CRM niet gekend is maar geschat werd uit analyses.

- voer minstens 6 analyses uit op het CRM en bereken uit de analyseresultaten de gemiddelde meetwaarde X en de standaardafwijking s_{CRM} , en daaruit de relatieve standaardafwijking RSD_{CRM} ,
- bereken de relatieve bias $\%b$ uit de gecertificeerde waarde C_{ref} en de gemiddelde meetwaarde X als

$$\%b = 100 * (X - C_{ref})/C_{ref}$$

- bereken de relatieve variantie van de bias als

$$RSD_{bias}^2 = RSD_{CRM}^2/n$$

waarbij n het aantal waarden is waaruit het gemiddelde X berekend werd.

- indien de relatieve bias $\%b$ niet significant is of klein is (wat van de bias overblijft na uitvoeren van een correctie met een vaste waarde) dan wordt die in $\%u_{bias}^2$ opgenomen :

$$\%u_{bias}^2 = \%b^2 + RSD_{bias}^2 + \%u_{Cref}^2$$

Opmerking : indien het gebruikte CRM niet representatief is voor de matrix van de routinemonsters, dan moet men ervoor zorgen dat de spreiding, veroorzaakt door de verschillende matrices, in $\%u_{Rw}$ begrepen is, anders wordt de meetonzekerheid onderschat !

Voorbeeld:

Voor de bepaling van de bias wordt een CRM gebruikt waarvan het certificaat vermeldt: $C_{ref} = 425,0$ mg/kg en $U_{Cref} = 9,0$ mg/kg bepaald met $k = 2$.

Hieruit wordt $\%u_{Cref}$ berekend als $(100*9,0)/(2*425,0) = 1,06\%$.

Er werden op dit CRM 12 analyses uitgevoerd met als gemiddelde waarde $X = 427,5$ mg/kg en $s_{CRM} = 18,2$ mg/kg. Daaruit volgt dat $RSD_{CRM} = 100*18,2/427,5 = 4,26\%$

De relatieve bias $\%b = 100*(427,5 - 425,0)/425,0 = 0,59\%$.

De relatieve variantie van de bias $RSD_{bias}^2 = RSD_{CRM}^2/n = (4,26)^2/12 = 1,51$.

De relatieve bias %b van 0,59% wordt als klein beschouwd en kan dan in de formule voor $\%u_{\text{bias}}^2$ opgenomen worden: $\%u_{\text{bias}}^2 = (0,59)^2 + 1,51 + (1,06)^2 = 2,98$.

6.4.2 Bepaling van de juistheid / bias uit ringtesten

Voor het berekenen van de bias zijn er minstens 6 resultaten van ringtesten nodig voor een voldoende betrouwbaar resultaat.

Elke ringtest wordt hier gekenmerkt door 3 parameters : de consensuswaarde C_{cons} die door de organisator opgegeven wordt, de waarde x die het eigen laboratorium behaald heeft en de standaardafwijking van de reproduceerbaarheid s_R afgeleid uit de ringtest. De bias %b wordt dan geschat uit de verschillen tussen de consensuswaarde en het resultaat van het eigen laboratorium.

De procedure verloopt als volgt :

- bepaal voor elke ringtest i de relatieve bias $\%b_i$ als

$$\%b_i = 100 * (x_i - C_{\text{cons}, i}) / C_{\text{cons}, i}$$

- bereken de gemiddelde relatieve kwadratensom (Mean Square) van de bias $\%MS_{\text{bias}}$ als :

$$\%MS_{\text{bias}} = \Sigma \%b_i^2 / n$$

waarbij n het aantal ringtesten is.

- bereken voor elke ringtest de relatieve onzekerheid op de consensuswaarde C_{cons} uit de reproduceerbaarheid van de ringtest RSD_R en het aantal deelnemers aan die ringtest m :

$$\%u_{\text{cons}} = RSD_R / \sqrt{m}$$

- bereken de gemiddelde relatieve onzekerheid op alle n consensuswaarden als

$$\%u_{\text{ref}} = \Sigma \%u_{\text{cons}} / n$$

- de relatieve variantie van de bias, $\%u_{\text{bias}}^2$, wordt dan berekend als :

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{ref}}^2$$

Voorbeeld: er werd deelgenomen aan 7 ringtesten met de volgende resultaten (C_{con} is de consensuswaarde zoals gegeven in het rapport van de organisator; x is het eigen resultaat):

nr.	C _{con} (mg/kg)	x	bias	%b	%b ²
1	1,05	1,10	0,05	4,76	22,68
2	2,23	2,18	-0,05	-2,24	5,03
3	1,48	1,54	0,06	4,05	16,44
4	1,66	1,65	-0,01	-0,60	0,36
5	2,46	2,50	0,04	1,63	2,64
6	2,03	1,99	-0,04	-1,97	3,88
7	1,88	1,95	0,07	3,72	13,86
Som :					64,89

De kwadratensom $\Sigma \%b^2$ bedraagt 64,89; de gemiddelde kwadratensom $\%MS_{bias} = 64,89/7 = 9,27$.

Nu moet van elke ringtest de onzekerheid op de consensuswaarde C_{con} berekend worden. Daarvoor zijn voor elke ringtest de waarden van s_R en van het aantal deelnemers m nodig (beide gegeven in het rapport van de organisator):

nr.	C _{con} (mg/kg)	s _R	m	RSD _R	RSD _R /√m
1	1,05	0,35	15	33,33	8,61
2	2,23	0,42	18	18,83	4,44
3	1,48	0,38	20	25,68	5,74
4	1,66	0,38	20	22,89	5,12
5	2,46	0,56	23	22,76	4,75
6	2,03	0,72	18	35,47	8,36
7	1,88	0,39	20	20,74	4,64
Gemiddelde = %u_{ref}:					5,95

$$\%u_{bias}^2 = \%MS_{bias} + \%u_{ref}^2 = 9,27 + (5,95)^2 = 44,67.$$

6.4.3 Bepaling van de juistheid / bias uit recovery-experimenten

De resultaten van recovery-experimenten met belaste monsters worden analoog behandeld als in het geval van ringtesten maar met dit verschil dat de onzekerheid op de belaste waarde moet berekend worden met een bottom-up methode.

Voor het berekenen van de bias zijn er minstens 6 resultaten van recovery-experimenten nodig voor een voldoende betrouwbaar resultaat.

Opgelet : indien er experimenten uitgevoerd worden op verschillende concentratieniveau's die sterk van elkaar verschillen, dan verdient het de voorkeur om de bias voor elk niveau afzonderlijk te berekenen en pas daarna na te gaan of een gemiddelde waarde kan gebruikt worden.

Elk recovery-experiment wordt hier gekenmerkt door 3 parameters: de waarde van de belasting C_{belast}, de onzekerheid op die waarde en de waarde x van de analyse. De bias

wordt dan geschat uit de verschillen tussen de waarde van de belasting en het analyseresultaat.

De procedure verloopt als volgt :

- bepaal van elk recovery-experiment i de relatieve bias $\%b_i$ als

$$\%b_i = 100 * (x_i - C_{\text{belast}, i}) / C_{\text{belast}, i}$$

- bereken de gemiddelde relatieve kwadraten som (Mean Square) van de bias $\%MS_{\text{bias}}$ als :

$$\%MS_{\text{bias}} = \Sigma \%b_i^2 / n$$

waarbij n het aantal recovery-experimenten is.

- in principe moeten nu $\%u_{\text{belast}}^2$, de onzekerheid op het volume van de belasting, en $\%u_{\text{Cref, belast}}^2$, de onzekerheid van de standaardoplossing waarmee belast werd, bepaald worden. Deze twee componenten zijn meestal klein ten opzichte van $\%MS_{\text{bias}}$ en kunnen dan verwaarloosd worden, zodat dan geldt dat

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}}$$

- Opmerking : indien beide moeten bepaald worden, dan gebeurt dit als volgt :
 - ⇒ bereken voor elk recovery-experiment $\%u_{\text{belast}}^2$, de relatieve onzekerheid op het volume van de belasting, uit de bias van het pipetvolume $\%u_p^2$ (de systematische afwijking van het pipetvolume, af te leiden uit de specificaties van de fabrikant) en de precisie (de herhaalbaarheid) van het pipetteren zelf $\%u_v^2$:

$$\%u_{\text{belast}}^2 = \%u_p^2 + \%u_v^2$$

- ⇒ bereken $\%u_{\text{Cref, belast}}^2$, de onzekerheid van de standaardoplossing waarmee belast werd, uit het certificaat van de leverancier,
- ⇒ dan wordt de variantie van de bias, $\%u_{\text{bias}}^2$, berekend als

$$\%u_{\text{bias}}^2 = \%MS_{\text{bias}} + \%u_{\text{belast}}^2 + \%u_{\text{Cref, belast}}^2$$

Voorbeeld: er werd een reeks van 7 recovery-experimenten uitgevoerd met de volgende resultaten (C_{belast} is de waarde van de belasting (spike); x is het eigen resultaat):

nr.	C _{belast} (mg/kg)	x	bias	%b	%b ²
1	4,9	5,1	0,2	4,08	16,66
2	5,1	5,0	-0,1	-1,96	3,84
3	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
4	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
5	4,9	4,8	-0,1	-2,04	4,16
6	5,0	5,1	0,1	2,00	4,00
7	5,0	5,0	0,0	0,00	0,00
Som :					36,67

De kwadratensom $\Sigma \%b^2$ bedraagt 36,67; de gemiddelde kwadratensom $\%MS_{bias} = 36,67/7 = 5,24$.

Omdat dit een eerste reeks testen is, is nog niet bekend wat de waarden van $\%u_{belast}^2$ en $\%u_{Cref, belast}^2$ zijn en of die mogen verwaarloosd worden. Beide moeten daarom berekend worden met de bottom-up methode. Bij elk experiment werd dezelfde pipet gebruikt waarbij 5 ml verdeeld werd. De bias op het pipetvolume u_p bedraagt 0,05 ml en het pipetteren zelf heeft een precisie (standaardafwijking) u_v van 0,02 ml.

Daaruit kan afgeleid worden dat $\%u_p = 100 \cdot 0,05/5 = 1,0\%$ en $\%u_v = 100 \cdot 0,02/5 = 0,4\%$. Daaruit volgt dat $\%u_{belast}^2 = \%u_p^2 + \%u_v^2 = (1,0)^2 + (0,4)^2 = 1,16$.

Bij het maken van de oplossing waarmee de recovery-experimenten uitgevoerd werden, werd een standaardoplossing gebruikt van 5,00 mg/kg waarbij het certificaat van de leverancier vermeldt dat de onzekerheid erop (standaardafwijking) 0,02 mg/kg bedraagt. Daaruit volgt dat $\%u_{Cref, belast} = 100 \cdot 0,02/5 = 0,40\%$ en $\%u_{Cref, belast}^2 = (0,40)^2 = 0,16$.

$$\%u_{bias}^2 = \%MS_{bias} + \%u_{belast}^2 + \%u_{Cref, belast}^2 = 5,24 + 1,16 + 0,16 = 6,56.$$

In dit geval is $\%u_{belast}^2 + \%u_{Cref, belast}^2 = 1,16 + 0,16 = 1,32$ niet verwaarloosbaar ten opzichte van $\%MS_{bias}$.

6.5 Berekenen van de uitgebreide meetonzekerheid U

Bij de berekening van de uitgebreide relatieve meetonzekerheid $\%U$ is de basisformule :

$$\%U = 2\sqrt{(\%u_{bias}^2 + \%u_{RW}^2)}.$$

waarin $\%u_{bias}^2$ bepaald werd in 6.4 en $\%u_{RW}^2$ bepaald werd in 6.3.

Voorbeeld: in 6.3.2 werd voor $\%u_{RW}^2$ een waarde van 63,82 gevonden en in 6.4.1 een waarde van 2,98 voor $\%u_{bias}^2$.

De uitgebreide relatieve meetonzekerheid is dan $\%U = 2\sqrt{(2,98 + 63,82)} = 16,35\%$ of afgerond 16%.

6.6 Meetonzekerheid bij verschillende concentraties

Bereken de meetonzekerheid bij lage, middel en hoge waardes.

	Bereik	Hoe
laag	Van LOQ tot 0,5x norm	Rapporteer de onzekerheid op LOQ-niveau als een absolute waarde (= %U * LOQ/100)
middel	Van 0,5x norm tot 1,5x norm	Rapporteer als een absolute waarde (= %U * waarde/100)
hoog	Boven 1,5x norm	Rapporteer als een absolute waarde (= %U * waarde/100)

Indien er geen norm is, wordt eenzelfde aanpak gevolgd met de gegevens (3 validatieniveau's) uit het validatiedossier.

7 Controle op de berekening

Aan de hand van onderstaande tabel kan nagegaan worden of de verkregen meetonzekerheid realistisch is :

Te controleren gegevens	De meetonzekerheid
Opgelegd door de prestatiecriteria	$\%U < 1 - \text{max recovery} + 2 \times \text{RSD}_{\text{Rmax}}$
Methode-vergelijkende of laboratorium-vergelijkende studies (enkel de laboratoria met dezelfde methode beschouwen)	Is slechts uitzonderlijk meer dan 2 keer kleiner dan de interlaboratorium-reproduceerbaarheid voor die methode.
Een willekeurige laboratorium-vergelijkende studie	Is slechts uitzonderlijk veel kleiner dan de bekomen interlaboratorium-reproduceerbaarheid.
Herhaalbaarheidsgegevens of duplogegevens	Is uitzonderlijk kleiner dan $4.5 \times \text{RSD}_r$
Reproduceerbaarheidsgegevens of controlekaarten	Is uitzonderlijk kleiner dan $3 \times \text{RSD}_{\text{RW}}$
De z-scores bij intervergelijkingen	<ul style="list-style-type: none"> Het gemiddelde van de z-scores is nul en nooit groter dan 2-3 : de grootte-orde van de meetonzekerheid is 2 x de target RSD van de organisator. Het gemiddelde van de z-scores is significant verschillende van nul en regelmatig groter dan 1 of 2 : de meetonzekerheid is nooit kleiner dan 2 x de target RSD van de organisator.
Kwalificatiegegevens kritische apparatuur, operatoren	Is ruim groter dan de gestelde herhaalbaarheids- / reproduceerbaarheids-criteria.

8 Verwijzing naar bijhorende procedure, instructies, documenten, formulieren of lijsten

- Template voor de berekeningen volgens bovenstaande procedure : LAB-P-508-Meetonzekerheid-v.01-bijlage-F-001_2008-11-04_nl.xls
- Cursus 'Bepaling van de meetonzekerheid voor testen op voedingsmiddelen en veevoeders' P. Vermaercke (05 en 07 september 2007)
- Nordtest Report TR 537