

# Meetonzekerheid

Dr Teun van Herwaarden  
Klinisch Chemicus

Laboratoriumgeneeskunde

Juni 2017

Radboudumc



Hoe goed moet het?

SKML congres  
De ReeHorst Ede, 6 juni 2017



## Disclosure

De spreker heeft

- geen financiële banden met de IVD industrie
- geen sponsoring door belanghebbende industrie
- geen honoraria van belanghebbende industrie
- geen aandeelhouder van belanghebbende industrie
- geen andere relaties met belanghebbende industrie die gezien kunnen worden als belangenverstrengeling

Radboudumc

---

## Meetonzekerheid in ISO15189

### 5.5.1.4 Meetonzekerheid (MO) van gemeten kwantitatieve waarden

Het laboratorium moet de **meetonzekerheid vaststellen** voor elke meetprocedure in de onderzoeksfase die wordt toegepast om in monsters van patiënten gemeten kwantitatieve waarden te rapporteren. Het laboratorium moet de **prestatie-eisen** definiëren voor de meetonzekerheid van elke meetprocedure en de geschatte waarden van meetonzekerheid **beoordelen**.

#### Inhoud

Wat is meetonzekerheid?

Welke prestatie eis en beoordeling?

Hoe zouden we de meetonzekerheid kunnen vaststellen voor hormonen?

Voorbeelden van MO mbt hormoon analyses

---

## ISO15189 verwijzingen naar MO

- Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement JCGM100:2008 GUM

Belangrijke basis MO; echter theorie en methode ontwikkeld voor calibratie en test laboratoria voor analytische chemie en fysica; adresseert niet specificaties voor kwantitatief medische testen

initiatief tot richtlijnen die praktische invulling MO in medische laboratoria, adhv limitaties biologische metingen en basale principes MO.

- Requirements for the estimation of measurement uncertainty (NPAAC) National Pathology Accreditation Advisory Council (AU). (2007)

## Andere bronnen MO interpretatie

- ISO 21748 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in MU estimation (2010).
- EA-4/16 on the expression of uncertainty in quantitative testing.
  - EA european accreditation: moederorganisatie nationale accreditatie (zoals RvA).
- CLSI EP29 Expression of MU in Laboratory Medicine. (2012)
  - in samenwerking met IFCC. Consistent met GUM en ISO (ISO21748 en ISO15189 (2007))
- Diverse wetenschappelijke publicaties.

In deze presentatie: info vanuit GUM; EP29; NCAAP en geciteerde literatuur

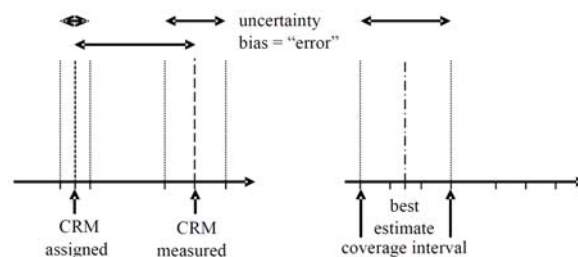
Radboudumc

## Wat is Meetonzekerheid? “onzekerheidsmodel”

Meetonzekerheid: een niet-negatieve parameter die de spreiding van de waarden van een grootheid toegeschreven aan een gemeten grootheid karakteriseren.

*ISO/IEC Guide 99, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) definitie 2.26*

Definieert interval waarin, naar verwachting, “juiste” waarde ligt (confidentie).



EP29

Radboudumc

---

## Bronnen van onzekerheid

### 1 Pre-analyse

Patientvoorbereiding, monsterafnametechniek, transport, opslag monster  
Effect hoeveelheid analyte in monster.

Labs moeten SOP hebben om deze effecten te minimaliseren / elimineren tot acceptabele niveaus.

Daarnaast patient-specifieke effecten (HAMA, medicatie interferentie etc)

### 2 Meetonzekerheid (MO)

Enkel effecten op resultaat vanuit meetmethode zelf.

### 3 Post-analyse

Passend aantal decimalen.

### 4 Resultaat interpretatie

Ziekte en fysiologische factoren (biol variatie; stress; dieet) effect op hoeveelheid analyte in monster

---

NPAAC en EP29

Radboudumc

---

## Inkaderen meetonzekerheid

### 2 Meetonzekerheid (MO)

OPMERKING 1 De relevante onzekerheidscomponenten zijn de componenten die samenhangen met het feitelijke meetproces, te beginnen met de aanbieding van het monster de meetprocedure en eindigend met de output van de gemeten waarde.

- vanaf interactie monster met eerste technische stap (vb extractie of plaatsing in RA).
- incl calibrator en reagens batch variatie; pipetteerstap; intra-apparaat variatie (onderhoud); inter-operator; omgevingseffecten; component specifieke onzekerheden.

---

Radboudumc

---

## Schatten van meetonzekerheid

**Bottom-up:** elke bron van meetonzekerheid identificeren en kwantificeren (type A en B).

Combineren deze onzekerheden tot combined standard uncertainty

- Imprecisie (binnen en tussen run, inter lab, inter instrument)
- kalibratie
- Juistheid kalibratie toegewezen waarden, commuteerbaarheid
- Sample gerelateerde effecten (matrix, interferentie)
- Batch verschillen reagens, product calibratoren, referentiematerialen)
- Verschillen tussen operators
- Variatie in materialen (weegschaal, pipetten, onderhoud instrumenten)
- omgevingsfactoren (temp, vochtigheid, spanning etc)

GUM: ontwikkelt primair voor kalibratie / test laboratoria fysica en analytische chemie:

Potentiële bronnen MU identificeerbaar, schatbaar en combineerbaar

Voordeel: elke individuele relevantie ge-evalueerd: startpunt voor methode verbetering;

Nadeel: tijdrovend; complex.

---

Radboudumc

---

## Schatten van meetonzekerheid

**Top down:** uitgangspositie "normale" presteren meetmethode.

Directe schatting overall MO op basis van eerder verzamelde prestatie karakteristieken.

ISO15189: OPMERKING 2

Meetonzekerheden kunnen worden berekend met **gebruikmaking** van kwantitatieve waarden die verkregen zijn door het meten van **kwaliteitscontrolematerialen** onder gemiddelde precisievoorwaarden waarbij zoveel routinewijzigingen zijn begrepen als redelijkerwijs in het standaardbedrijf van een meetprocedure mogelijk zijn, bijv. verandering van partijen reagentia en calibratoren, verschillende bedieners, gepland onderhoud van instrumenten.

IQC veelal "whole-of procedure": direct  $u_c$  schatten (aannee commuteerbaarheid)

EQC : wordt niet in eerste instantie aanbevolen (NCAAP – EP29)

gehele meetprocedure – voldoende data – relevante range – commuteerbaar – RMP

MU doel niet gehaald? overweeg bottom-up identificeren (te optimaliseren) onzekerheden

Moeite en kosten moeten in relatie staan tot technische en klinische vereisten.

---

Radboudumc

---

## Terminologie Meetonzekerheid (MO)

$u(x)$  = Standard MO, expressed als SD

$u_c(y)$  = Combined standard MO =  $(y) = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2}$

$U(x)$  = expanded MO = coverage factor  $k * u_c$  (k = 2; 95% confidence)

Het interval " $x \pm 2 * u_c$ " bevat de juiste waarde met 95% confidentie.

---

Radboudumc

---

## Klinisch nut meetonzekerheid

ISO15189 OPMERKING 3 Voorbeelden van het praktisch nut van meetonzekerheidswaarden kunnen zijn de bevestiging dat de waarden van de patiënt voldoen aan de door het laboratorium vastgestelde kwaliteitsdoelen, en zinvolle vergelijking van een patiëntenwaarde met een voorgaande waarde van het zelfde soort of met een medische beslissingswaarde.

- Voldoet de analyse aan de kwaliteitsnormen
  - effect van analytische kwaliteit op klinische outcome
  - componenten van biologische variatie
  - state of art
  - expert group recommendation; clinical or laboratory opinion  
meerdere criteria obv klinische applicaties.

Indien niet voldoet aan criteria identificeer oorzaken (vb tussen lot verschillen; pipetteer stappen; stabiliteit calibrator) en poog bewerkstelligen reductie MO.

- Vergelijk tussen 2 patientresultaten: verschil  $> 2,77 * u_c$
- Vergelijk met referentiewaarde: verschil  $> 2 u_c$

---

Sandberg et al. 2015 Clin Chem Lab Med 53:833

Radboudumc

## MO in relatie tot Bias en traceerbaarheid

Wens traceerbaarheid

- patient mobiliteit verschillende laboratoria
- algemene klinische beslisgrenzen en refs intervals

“opm3 : zinvolle vergelijking met medische besliswaarde”

“kwaliteits norm Milaan criteria: outcome studie

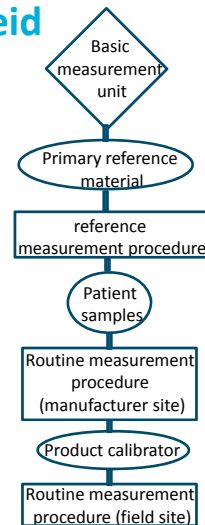
Bias ( $\bar{x} - x_{ref}$ ) vaststellen

methode vergelijk RMP; commuteerbare CRM

GUM:

- Bias ge-elimineerd / gecorrigeerd in meetresultaat (of onbekend)
- Onzekerheid bias correctie is onderdeel meetonzekerheid.  
Corrigeren bias verhoogd dus trueness, en ook MO.

Maar hoe in te vullen in medische laboratoria.....



13

Radboudumc

## Bias in medische laboratoria

“Binnen lab bias”: in IQC; “binnen methode en tussen methode bias”

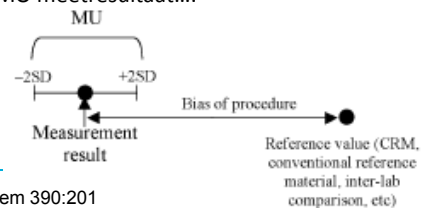
- Niet significant (statistisch of tov benodigde MO)
- Oorzaak onbegrepen
  - kalibratie imperfectie
  - matrix effect
  - varierende specificiteit immunochemie reagentia
- Niet economisch/praktisch/mogelijk bestuderen

Methode Bias veelal niet (traceerbaar / correct) vast te stellen;  
Correctie in meetresultaat niet mogelijk;

... behoort MO ongecorrigeerde bias wel/niet MO meetresultaat....

.... bias zélf in MO meetresultaat....

Discussie in het veld.



Magnusson en Ellison (2008) Anal Bioanal Chem 390:201

---

## Bias in medische laboratoria

Toch klinisch en technisch vaak wel belang om vergelijk uit te voeren  
 conventionele ref material,  
 reference methods  
 externe rondzendingen  
 Indien niet mogelijk: bias onbekend en negeren.

Opties:

Rapporteer ongecorrigeerd resultaat en zijn MO;  
 en beschik over bias gegevens en zijn MO.

Rapporteer ongecorrigeerd resultaat; neem bias én zijn onzekerheid op in MO

---

NPAAC; EP29

Radboudumc

---

## Vaststellen en Rapportage MO

### Vaststellen

- 1: definieer measurand
- 2: stel eis vast
- 3: identify possible sources of uncertainty
  - kalibrator
  - imprecisie
  - bias (methode) (MO)
- 4: beoordeel geschiktheid
- 5: bereken gecombineerde onzekerheid  $u_c$  en expanded onzekerheid U

### Rapportage

- $u_c$  en een indicatie voor welke range het geldt.  
 mogelijke meerdere  $u_c$  voor verschillende ranges
- eenheid (vb mmol/L of %)
- expanded uncertainty met k factor en level of confidence  $U(x) = k \cdot u_c$  (95%CI)
- Rapportage in de kliniek: op aanvraag.

---

Radboudumc



## Testosteron (RA)

1) Testosteron in serum; amount of substance concentration, nmol/L; middels immuno assay.

2) MU criterium: 4,7% ( $I = 0,5$  CVi; Westgard)

3) Identificeren alle onzekerheden

- Calibrator MO: niet gegeven.
- Imprecisie (IQC 1,5 jaar) gem 1,6 nmol/L 8,1%; gem 27,4 nmol/L 4,3%.
- Bias -2,3% (jaarrapport SKML tov consensus).

4) Fit-for-purpose action:

- suboptimaal voor klinisch beslisniveau vrouwen (bovengrens referentiewaarde 2,0)
- adequaat voor klinisch beslisniveau mannen (ondergrens referentiewaarden 10,5)

5) MO  $u_c = \pm 0,1$  nmol/L bij  $\sim 1,6$  nmol/L; 1 nmol/L bij  $\sim 27$  nmol/L.

$$U = u_c * k \text{ (k=2; 95% CI)}$$

$$\text{Vb } 1,6 \text{ nmol/L} \pm 0,2 \text{ nmol/L (95% CI) (indien gevraagd)}$$

Bias niet MO meetprocedure opgenomen

Radboudumc

## SHBG (RA)

1) SHBG in serum; amount of substance concentration, nmol/L; middels immuno assay.

2) MU criterium: 6,5% ( $I = 0,5$  CVi; Westgard)

3) Identificeren alle onzekerheden

- Calibrator MO: niet gegeven.
- Imprecisie (IQC 1,5 jaar) gem 17 nmol/L 3,2%; gem 36 nmol/L 3,5%.
- Bias 2,3% (jaarrapport SKML tov consensus).

4) Fit-for-purpose action:

-adequaat

5) MO  $u_c = \sqrt{(u_a^2 + u_b^2)} = \sqrt{(3,4^2 + 2,3^2)} = 4\%$

$$U = u_c * k = 8\% \text{ (k=2)}$$

$$\text{Vb } 20 \pm 1,6 \text{ nmol/L (95% CI) (indien gevraagd)}$$

Bias zélf in MO meetprocedure opgenomen  
(aannee wel commuteerbaar; voldoende data etc).

Radboudumc

## ACTH (RA)

- 1) ACTH in EDTA plasma; amount of substance conc, pmol/L; middels immuno assay.
- 2) MU criterium: < 2 pmol/L of < 10% (CLIA)
- 3) Identificeren alle onzekerheden
  - Calibrator MO: niet gegeven. Eigen standaard.
  - Imprecisie (IQC 1,5 jaar) gem 2,2 pmol/L 5,9%; gem 20 pmol/L 2,1%.
  - Bias -40% (jaarrapport SKML tov consensus).  
.....ging intern iets mis in stabiliteit SKML monster (uitverdelen).....
- 4) Fit-for-purpose action:  
-adequaat
- 5) MO  $u_c = \pm 0,15$  pmol/L bij  $\sim 2$  pmol/L;  $0,5$  pmol/L bij  $\sim 20$  pmol/L.  
 $U = u_c * k$  ( $k=2$ ; 95% CI)  
 Vb 20 pmol/L  $\pm 1$  pmol/L (95% CI) (indien gevraagd)

Bias zélf NIET in MO meetprocedure opgenomen  
 Met bias erbij:  $u_c = 40\%$ . Zou niet weergave zijn van patientmonster situatie.

Radboudumc

## Cortisol (LCMSMS)

- 1) Cortisol in serum, amount of substance concentration, nmol/L; middels LCMSMS.
- 2) MO criterium: 7,6% ( $I = 0,5$  CVi; Westgard)
- 3) identificeren onzekerheden
  - Imprecisie (1,5 jaar) gem 312 nmol/L SD = 3,6% =  $u_i$
  - Bias (NIST SRM971) Target 296,8 nmol/L; SD =  $u = 1,4\%$ ;  
 Gemeten: gem. 305,8; SD =  $u_c(\bar{x}) = 0,43\%$ ; Bias =  $\bar{x} - x_{SRM} = 305,8 - 296,8 = 9$  nmol/L  
 $u_c(b) = \sqrt{(u(x_{CRM}))^2 + (u_c(\bar{x}))^2} = \sqrt{(1,4^2 + 0,43^2)} = 1,5\%$
- $U_{bias} = 2 * u_c = 2 * (1,5/100 * 305,8) = 9,2$  nmol/L ; bias (net) binnen confidence interval:  
 considereer recalibratie / correctie. Besluit niet te corrigeren.
- 4) Criterium of  $I < 0,5$  CVi: accept.
- 5) MO  $u_c = \sqrt{(u_i^2 + u_b^2)} = \sqrt{(3,6^2 + 1,5^2)} = 3,9\%$   
 $U = u_c * k = 8\%$  ( $k=2$ )  
 Vb 300  $\pm 24$  nmol/L (95% CI) (indien gevraagd)

Bias zelf niet in MO meetresultaat opgenomen; wel zijn MO

Radboudumc

## Testosteron (RA) met EQC

EQC materiaal SKML endocrinologie

- ingevroren matrix materiaal, soms met additie
- enkel voor IGF1 en GH commutabiliteit onderzocht.
- proberen relevante niveaus (vb laag Thyro; laag vitD)
- 12 monsters / jaar.
- Veelal consensus – geen RMP

Vb gebruik van EQC data voor MO schatting. Van der Vuurst et al.

- 1) Testosteron in serum; amount of substance conc., nmol/L; middels immuno assay.
- 2) MU criterium: 4,7% (I = 0,5 CVi; Westgard)
- 3) Identifieren alle onzekerheden
  - Calibrator MO: niet gegeven.
  - Imprecisie : jaarrapport SKML
  - Bias: jaarrapport SKML tov consensus.

4) Fit-for-purpose action: op basis van Sigma score (afgeleid van biol variatie of SA)

5) MO  $u_c = TE (2 I + B)$   $U = u_c * k (k=2; 95\% CI)$

Bias in MO meetresultaat opgenomen

Noot: vele voorstellen hoe bias in MO te verrekenen

Radboudumc

## Testosteron (RA) met EQC

Analiët	Uncertainty Data SKML (%)			Beoordeling door SKML		Root Analysis Uncertainty		Beleid
	Juistheid	Precisie	Total Error	Sigma-TE	Sigma-SA	% Bijdrage Bias	% Bijdrage Imprecisie	
Testosteron	-2,30	3,20	8,70	5	6,0	26%	74%	

Het SKML rapport vermeldt de juistheid en de precisie van een analyse.

Hieruit kan de Totale analytische fout berekend worden met de formule:  
 Total Error = juistheid + 2x Precisie

Het SKML rapport vermeldt de Sigma t.o.v. de biologisch error (Sigma-TE) En de Sigma t.o.v. andere gebruikers (Sigma-SA; Sigma state of the Art).

Hiermee wordt gekeken wat de oorzaak is van een eventuele mindere analyse. Komt dit vooral door de bias of de imprecisie.

Berekening zijn als volgt:  
 % Bijdrage Bias= juistheid/Total Error  
 % Bijdrage Imprecisie= Precisie/Total Error

Het beleid is gebaseerd op de SKML (Sigma) grenzen. Het beste is om een zo hoog mogelijke Sigma t.o.v. de biologische error te hebben (Sigma TE). Echter dit is niet altijd analytisch haalbaar en is het zaak de analyse net zo goed of beter dan andere gebruikers te hebben (Sigma-SA)

- Sigma-TE ≥6: Zeer goed; intensiteit kwaliteitscontrole kan verminderd worden
- Sigma-TE 4,5-6: Goed
- Sigma-TE <4,5 & Sigma-SA >4,5: Voldoet; beter is niet haalbaar
- Sigma-TE <4,5 & Sigma-SA 2-4,5: Voldoet; wel mogelijkheid tot verbetering
- Sigma-TE <2 & Sigma-SA <2: Slechte performance; ingrijpen noodzakelijk

I én bias zelf opgenomen in MO meetresultaat (MO bias niet gegeven)

Adapted van Van der Vuurst et al. NTKC (2016) 41:193

Radboudumc

---

## Voorbeelden Klinisch nut MO

### Monitoren patient

verschil tussen 2 resultaten

minimale verschil =  $k * \sqrt{u^2(x_1) + u^2(x_2)} = 2\sqrt{2} u(x)$ .

CA15.3 85 E/mL en  $u = 3,9\%$ .

Significant minimal dif =  $2\sqrt{2} * (85 * 3,9/100) = 9,4$  E/mL

Incl biol variatie (6,1%):  $2\sqrt{2} * \sqrt{u^2(x) + cv_{biol,i}(x)^2} = 20,5\% = 17,4$  E/mL

### Vergelijk resultaat met een medische beslisgrens

minimale verschil ( $k=1,65$  one tailed) =  $k * u(x) = 1,65 * u(x)$ .

Cortisol 500 nmol/L and  $u = 3,9\%$ .

Significant minimal dif =  $1,65 * (500 * 3,9/100) = 32$  nmol/L.

---

Radboudumc

---

## Conclusie

Meerdere onzekerheden beïnvloeden de resultaat interpretatie

- pre en post analyse geen onderdeel meetonzekerheid.
- MO Gerelateerd aan de meting zelf

Meetonzekerheid

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2}$$

Bron gegevens MO

- lange termijn IQC
- calibratie bias en onzekerheid op schatting van bias

Nut MO

- Voldoet analyse aan kwaliteitsnorm
- Zinvolle vergelijking patiëntenwaarde met voorgaande waarde of medische beslissingswaarde.

---

Radboudumc

---

## Met dank aan:

Dr. Judith Bons  
Dr. Eef Lentjes  
Dr. Martin Schuijt

voor geven van commentaar op de presentatie

---

Radboudumc

