



STATISTIEK IN HET LABORATORIUM VAN DE ZIEKENHUISAPOTHEEK: ENKELE VOORBEELDEN; DEEL 2.

M.C. de Brouwer¹

M.C.J. Langen^{1,2}

¹ Laboratorium van de ziekenhuis-apotheek Midden-Brabant, Maria ziekenhuis, Dr. Deelenlaan 5, 5042 AD Tilburg

² Correspondentie

Samenvatting

De variatie coëfficiënt, standaard deviatie en betrouwbaarheidsintervallen worden besproken aan de hand van Kwaliteitsbewaking Klinische Geneesmiddelenanalyse en Toxicologie (KKGt) testen voor clonazepam en kinidine. De testen worden kritisch bekeken en er wordt een alternatief gegeven voor het bepalen van de behaalde scores.

Voor het gebruik van de F-toets en t-toets wordt een onderzoek beschreven naar de mate van adsorptie van tricyclische antidepressiva aan de barrière van serum-separator-bloedafnamebuizen. De twee toetsen worden gebruikt om aan te tonen of er een afname plaats vindt van amitriptyline bij gebruik van een bloedafnamebuis met serum-separator.

De bepaling van lood in heparine bloed wordt gebruikt om de lineaire regressie te beschrijven. Hierbij wordt gesteld dat niet de correlatie coëfficiënt maar de uitkomst van een ANOVA-analyse als maat voor de lineariteit moet worden genomen.

Lineaire regressie wordt ook gebruikt om twee methoden voor de bepaling van lithium in serum te vergelijken. Als alternatieve methode wordt de t-toets voor gepaarde waarnemingen beschreven.

Tenslotte wordt de hervalidering van de bepaling van amitriptyline beschreven, waarbij een aantal statistische parameters worden gebruikt om vast te stellen of de methode voldoet.

Inleiding

In dit artikel worden een aantal analyses besproken zoals deze worden toegepast in het laboratorium van de ziekenhuisapotheek Midden-Brabant (ZAMB). In deze analyses worden statistische begrippen gebruikt die in het eerste gedeelte van dit tweeluik zijn verklaard. Op deze manier wordt duidelijk gemaakt welke rol de statistiek speelt in het laboratorium. De voorbeelden geven aan dat een analyse niet ophoudt op het moment dat een resultaat uit de apparatuur rolt, maar dat de resultaten vervolgens kritisch bekeken moeten worden. Dit geldt voor de resultaten die verkregen worden met patiënt monsters en controle monsters, zoals interne- en KKGt controles.

Variatie coëfficiënt, standaard deviatie en betrouwbaarheidsintervallen bij KKGt testen

Bij de uitslagen van KKGt testen worden het gemiddelde van de resultaten en de variatie coëfficiënt gegeven voor iedere analyse tech-

niek afzonderlijk en voor alle analyse technieken samen. De behaalde score is gerelateerd aan de spike waarde. Veel laboratoria kijken misschien alleen naar de behaalde score en vluchtig naar wat de overige laboratoria hebben gescoord. Een nadere analyse van de resultaten kan echter een aantal vraagtekens oproepen bij de behaalde score.

Bij clonazepam in test D van 1995 wordt door de deelnemers gemiddeld 108% teruggevonden met een variatie coëfficiënt van 14%, zoals gegeven in tabel 1. Dit houdt in dat gemiddeld 19,36 µg clonazepam /L wordt teruggevonden met een standaard deviatie van 2,711 µg/L. Met behulp van formule (6) wordt een 95% betrouwbaarheidsinterval berekend voor het gevonden gemiddelde van 19,36 µg/L $\pm 0,8663$ µg/L. De theoretische waarde van 17,93 µg/L valt buiten dit betrouwbaarheidsinterval. Er is hier sprake van een systematische afwijking.

Bij de bepaling van kinidine in test B 1995 (tabel 1) wijkt de gemeten

KKGt test D 1995 voor clonazepam [17,93 µg/l].				
METHODE	N(Nr)	Gemiddelde, %	VC, %	Range, %
TOTAAL	40 (1)	108	14	78 - 282
G GLC no der	2			(107; 89)
S HPLC - SP	9 (1)	108	15	89 - 282
R HPLC - RP	28 (1)	107	13	78 - 152
KKGt test B 1995 voor kinidine [2,84 mg/l].				
METHODE	N(Nr)	Gemiddelde, %	VC, %	Range, %
TOTAAL	36 (1)	105	6	95 - 154
R HPLC - RP	17 (1)	105	8	95 - 154
F FPIA, TDx	14	105	4	100 - 116
I ELISA	1			(103)
O FLUORIM	4			(100; 109; 107; 102)
KKGt test C 1995 voor kinidine [4,24 mg/l].				
METHODE	N(Nr)	Gemiddelde, %	VC, %	Range, %
TOTAAL	34 (1)	104	6	91 - 144
R HPLC - RP	16 (1)	103	5	91 - 144
F FPIA, TDx	15	105	6	96 - 122
O FLUORIM	3			(101; 109; 101)

Tabel 1: KKGt testen en behaalde scores per analyse techniek.

gemiddelde waarde ook significant af van de theoretische waarde. Het betrouwbaarheidsinterval is 2,98 mg/L $\pm$ 0,06 mg/L. De theoretische waarde van 2,84 mg/L valt buiten het betrouwbaarheidsinterval. In het geval van clonazepam is sprake van een afwijking die alleen bij test D 1995 voorkomt. Bij kinidine treedt de afwijking ook op bij test C 1995. Daar heeft het gevonden gemiddelde een betrouwbaarheidsinterval van 4,41 mg/L $\pm$ 0,09 mg/L. De theoretische waarde van 4,24 mg/L valt hier buiten (tabel 1).

Er is hier sprake van een systematische afwijking in de bepaling van kinidine, die optreedt bij zowel de HPLC als de FPIA methode. Vanuit statistisch oogpunt moet deze test nader worden bekeken om na te gaan waar deze afwijking vandaan komt.

Er zijn drie mogelijke manieren om de doelwaarde te bepalen; de spike waarde, het algemeen gemiddelde van alle methoden en het gemiddelde per analyse methode. De KKGt hanteert als doelwaarde de spike waarde die het resultaat is van zo nauwkeurig mogelijke handelingen van één enkel laboratorium - in dit geval de KKGt. Het Heathcontrol kwaliteitscontrole programma geeft aan hierin een nauwkeurigheid van $\pm$ 3 tot 4 % over de verschillende stappen te behalen [1]. Het algemeen gemiddelde is het statistisch resultaat van een groot aantal analyses door verschillende laboratoria. Theorie voorspelt dat bij een normaal verdeling van de analyse resultaten het gemiddelde een betrouwbaardere schatting van de werkelijke doelwaarde in het monster oplevert dan de spike waarde. Andere kwaliteitsprogramma's waaraan wij deelnemen - zoals het al eerder genoemde Heathcontrol External Quality Assessment Scheme en Trace Elements Quality Assessment Scheme - bepalen hun doelwaarde aan de hand van het gevonden algemeen gemiddelde [1,2].

Klinisch farmaceutische laboratoria die werken met immuno-assay analysers kennen een ander probleem.

Er zijn verschillende immuno-assay methodieken, zoals FPIA, EMIT, KIMS, ELISA en RIA. Al deze technieken hebben een andere werking en leveren andere analyse resultaten. Bovendien kunnen analyses met eenzelfde immuno-assay methodiek op analysers van verschillende leveranciers ook nog eens afwijkende resultaten geven. Leveranciers van commercieel verkrijgbare controle monsters hebben dit probleem onderkend en leveren bij een charge controle monsters een produkt informatieblad met doelwaarden en ranges per analyser en analyse techniek [3,4]. Met betrekking tot een kwaliteitscontrole programma is het in het geval van immuno-assay analyses zinvol om de doelwaarde per analyser en analyse techniek te bepalen. Voorwaarde is wel dat een voldoende groot aantal resultaten voorhanden is.

Het gebruik van de F-toets en de t-toets voor het vergelijken van twee experimenten

Door Langen en Ros is onderzoek gedaan naar de mate van adsorptie van tricyclische antidepressiva (TAD's) aan de barrière van serumseparator-bloedafnamebuizen [5]. Bij dit onderzoek werden twee series bloed gespiked met TAD's, verdeeld en bewaard in bloedafnamebuizen met en zonder serum-separator. Analyse vond na extractie plaats met vloeistof chromatografie (HPLC). De monsters werden geanalyseerd direct na centrifugatie (T = 0), 1 dag (T = 1) en 7 dagen (T = 2) na centrifugatie. Vanuit statistisch oogpunt kan dit experiment vertaald worden naar het vergelijken van twee gemiddelden uit twee verschillende reeksen bepaald met één analysemethode op drie tijdstippen. In tabel 2 zijn de analyse resultaten voor amitriptyline gegeven. De nulhypothese is dat er geen verschil is tussen de gemiddelde concentratie amitriptyline in buizen met serumseparator en de gemiddelde concentratie amitriptyline in buizen zonder serum-separator. Hiertoe zullen met formule (7) en (8) de student's t en

de gepoolde standaard deviatie bepaald moeten worden. Eerst wordt gecontroleerd of formule (8) gebruikt mag worden om de gepoolde standaard deviatie te bepalen. Dit mag alleen als de standaard deviaties van de afzonderlijke reeksen in dezelfde orde van grootte liggen. Hiertoe wordt formule (9) gebruikt. Na substitutie van alle gegevens blijkt dat $F_{(T=0)} = 1,67$, $F_{(T=1)} = 1,01$ en $F_{(T=2)} = 1,35$. De kritische waarde voor F uit tabel 2 is 9.60 ($F_{4,4} = 9,60$; $p = 0,05$, twee-zijdig). De gepoolde standaard deviaties kunnen met formule (8) bepaald worden: $s_{(T=0)} = 2,53$, $s_{(T=1)} = 5,29$ en $s_{(T=2)} = 5,36$; allen met 8 vrijheidsgraden. Hieruit volgt voor t volgens formule (7): $t_{(T=0)} = 0,25$, $t_{(T=1)} = 5,06$ en $t_{(T=2)} = 7,52$. De kritische waarde voor t uit de t-tabel is 2,306 ($t = 2,306$; 8 vrijheidsgraden, $p = 0,05$). Hieruit volgt dat bij bewaring van amitriptyline in een bloedafnamebuis met serumseparator na 1 dag met een betrouwbaarheid van 95 % een significante afname van amitriptyline optreedt.

Het gebruik lineaire analyse bij de bepaling van lood in heparine bloed

In het laboratorium van de Ziekenhuisapotheek Midden-Brabant wordt lood in heparine bloed bepaald met behulp van atomaire

Tijdstip	[Amitriptyline] (μ g/L)	
	zonder serum-separator	met serum-separator
T = 0	192	193
	190	188
	187	191
	192	192
	192	188
T = 1	206	182
	200	185
	199	191
	206	187
	209	196
T = 2	190	185
	203	186
	198	179
	198	178
	201	173

Tabel 2: Analyse resultaten amitriptyline (spike concentratie 200 μ g/L) bij opslag in bloedafnamebuizen zonder en met serum-separator.

absorptie spectrometrie (AAS) door middel van de standaard additie methode. Aan het monster wordt respectievelijk 0 µg, 30 µg en 75 µg Pb/L toegevoegd en iedere concentratie wordt drie maal gemeten. In plaats van het afsnijpunt op de x-as te bepalen, wordt de concentratie bepaald van een blanco reagensmonster. Op deze wijze wordt gecorrigeerd voor absorptie van de reagentia. Voor elke patiënt wordt een regressie analyse uitgevoerd met een regressie applicatie voor Excel®. Hierbij wordt de lijn getest op lineariteit, de reagens blanco geïnterpoleerd en het betrouwbaarheidsinterval van de uitslag bepaald. Voorbeeld 1 toont de regressie ana-

lyse van een ander monster gegeven. Bij deze bepaling wordt eveneens een goede correlatiecoëfficiënt verkregen. De regressielijn voldoet echter niet aan het LOF criterium. Hieruit volgt dat een ander regressiemodel gekozen moet worden. Het monster moet nader onderzocht worden.

Het gebruik van lineaire regressie en de t-toets voor de vergelijking van twee methoden.

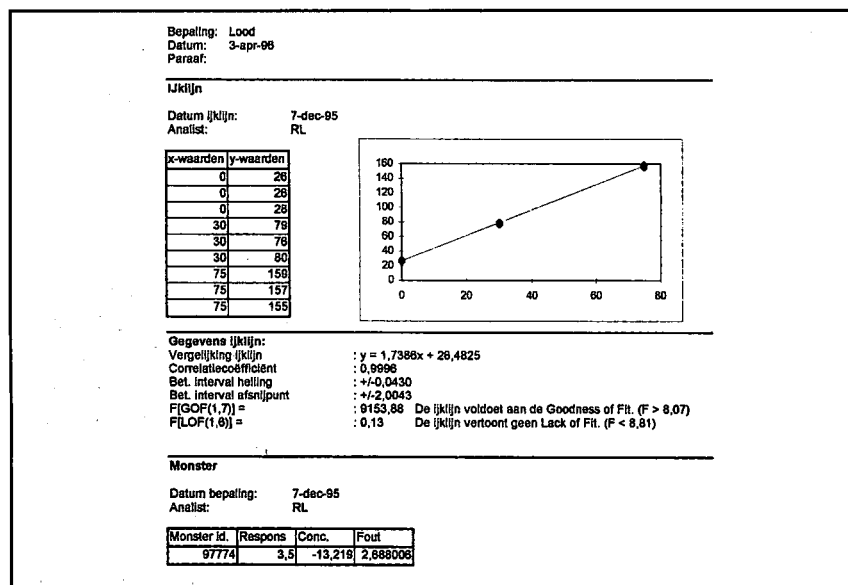
Voor de bepaling van lithium in serum met behulp van atomaire emissie spectrometrie (AES) werd een oplossing van natrium en kalium gebruikt voor het bereiden en verdunnen van ijkstandaarden. Dit

werd gedaan als correctie voor matrix effecten van natrium en kalium in serum. Er bestond een wens om een methode op te zetten zonder de toevoeging van natrium en kalium.

Om na te gaan of er een verschil tussen de oude en nieuwe methode bestond werden 29 patiënt monsters gemeten op twee ijklijnen, één met en één zonder toevoeging van natrium en kalium aan de ijkstandaarden. In tabel 3 zijn de resultaten gegeven.

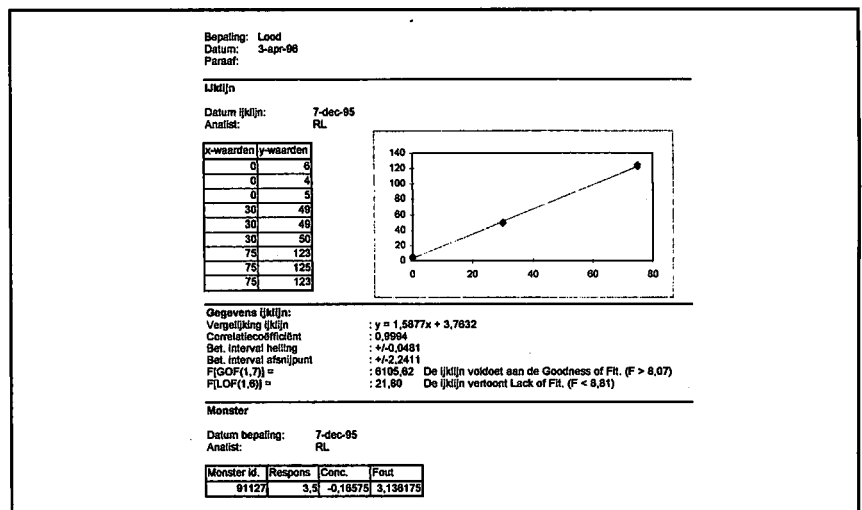
Concentratie Li met Na en K (mmol/L)	Concentratie Li zonder Na en K (mmol/L)	Vershil (mmol/L)
1,22	1,32	0,10
1,10	1,24	0,14
0,81	0,94	0,13
0,62	0,70	0,08
0,68	0,77	0,09
0,23	0,26	0,03
0,83	0,94	0,11
0,81	0,92	0,11
0,49	0,54	0,06
0,74	0,88	0,12
0,49	0,57	0,08
0,70	0,80	0,10
0,75	0,86	0,11
0,90	1,02	0,12
0,85	0,97	0,12
0,92	1,06	0,14
0,23	0,26	0,03
0,68	0,80	0,12
0,53	0,62	0,09
0,52	0,60	0,08
0,79	0,90	0,11
0,56	0,64	0,08
0,91	1,02	0,11
0,49	0,56	0,07
0,58	0,66	0,08
0,20	0,23	0,03
0,42	0,47	0,05
0,93	1,05	0,12
0,77	0,88	0,11

Tabel 3: Resultaten lithium met en zonder toevoeging van Na en K aan de ijkstandaarden.



Voorbeeld 1: Regressie-analyse voor een bepaling van lood in heparine bloed.

lyse voor de bepaling van lood. Bij deze patiënt wordt een goede correlatie coëfficiënt verkregen en de lijn voldoet aan zowel het GOF als LOF criterium. Hieruit volgt dat de regressielijn lineair kan zijn. De hoeveelheid lood in het monster is $13,22 \pm 2,66$ µg/L. Dit betekent dat de eigenlijke waarde $\pm 20\%$ kan afwijken. Een fout van deze grootte wordt verontrustend als de toxische waarde van 260 µg Pb/L binnen het betrouwbaarheidsinterval komt te liggen. In dit soort gevallen zal het afhankelijk zijn van de situatie wat met het resultaat wordt gedaan. In voorbeeld 2 is de regressie analy-



Voorbeeld 2: Regressie-analyse voor een bepaling van lood in heparine bloed.

Om te controleren of er een significant verschil is tussen de twee methoden werd een regressielijn berekend, waarbij de concentraties gemeten met natrium en kalium op de x-as en die zonder natrium en kalium op de y-as werden uitgezet. Er is gebruik gemaakt van een regressie programma waarbij x foutloos wordt verondersteld. Bij methode vergelijking is dit niet correct - zowel x en y bevatten afwijkingen van de werkelijke waarde. Hier moet dan gebruik worden gemaakt van orthogonale regressie waarbij ervan uit wordt gegaan dat x en y fouten bevatten. Een software pakket met deze rekenmethode is niet in ons bezit. Vandaar dat volstaan wordt met een benadering via regressie analyse waarbij de oude methode (x) foutloos wordt gesteld. In het geval dat er geen verschil tussen de twee methoden bestaat wordt een regressielijn verkregen met een helling (b) van 1 en een afsnijpunt (a) op de x-as van 0. De gegevens van de berekende regressielijn zijn gegeven in voorbeeld 3.

is $0,0157 \pm 0,0181$. Het interval omvat het punt (0,0). Hieruit volgt dat er geen fout in het afsnijpunt zit. Berekening van de helling van de lijn geeft $1,1137 \pm 0,0255$. Dit betekent dat de helling groter is dan 1 en er sprake is van een systematische fout in één van de methoden. De monsters die zonder natrium en kalium worden gemeten liggen gemiddeld $1,11$ * hoger (de helling van de ijklijn) dan gemeten op de oude ijklijn. Uit nader literatuur onderzoek blijkt dat lithium kan ioniseren in een waterig milieu zonder een overmaat kalium, natrium of cesium [6]. Er werd geconcludeerd dat het noodzakelijk is om de standaarden te bereiden met een oplossing die voldoende natrium bevat om ionisatie van lithium tegen te gaan. Om het verschil te toetsen tussen de twee methoden kan ook de t-toets voor gepaarde waarnemingen worden gebruikt. Hierbij wordt het verschil bepaald tussen de concentratie van het monster gemeten met en zonder natrium en kalium. Indien er geen verschil tussen de methoden

0. Het gemiddelde van de verschillen is $0,093$ met een standaard deviatie van $0,032$. Uit deze gegevens volgt voor t volgens formule(6), $t = 15,83$. De kritische waarde voor t bij 28 vrijheidsgraden en $P = 0,05$ is $2,048$. Dit bevestigt dat er een verschil is tussen de twee methoden.

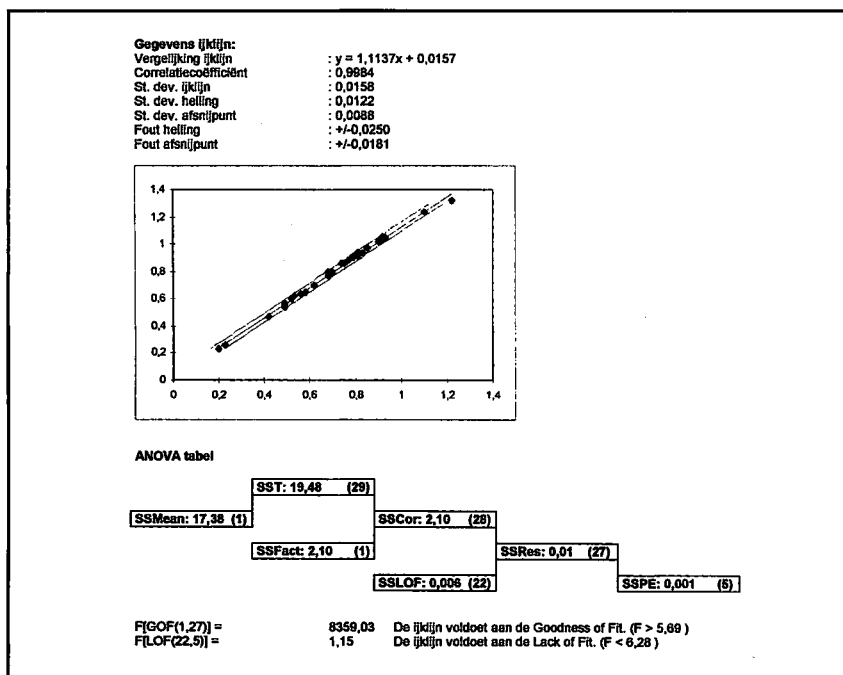
In dit geval is een regressie analyse statistisch gezien beter, omdat hiermee een beter inzicht kan worden verkregen in het soort fout. Een afwijking van de lineariteit wijst op een ander soort fout dan een fout in het afsnijpunt of in de helling van de lijn. Met behulp van een t-toets is deze informatie niet te verkrijgen.

Het valideren van een analyse methode

Tricyclische antidepressiva in serum worden bepaald met behulp van vloeistof chromatografie (HPLC) en UV/VIS detectie [7]. De bepaling van amitriptyline is opnieuw gevalideerd volgens een standard operating procedure (SOP) voor het valideren van methoden in de bio-analyse [8]. Zoals omschreven in de SOP worden achtereenvolgens de juistheid, de extractie opbrengst, de herhaalbaarheid, de lineariteit, de detectiegrens en de bepalingsgrens bepaald.

Als eerste stap werd de juistheid bepaald door middel van recovery. Hiermee worden systematische fouten opgespoord. Standaarden in serum werden gemaakt die 40 , 80 en $125 \mu\text{g}$ amitriptyline /L bevatten. De standaarden werden in zesvoud opgewerkt en bepaald. De recovery werd bepaald als (gemiddelde gevonden conc. / theoretische conc.)*100%. De resultaten zijn gegeven in tabel 4. Voor alle concentratie niveaus valt de theoretische waarde buiten het betrouwbaarheidsinterval, wat kan wijzen op een systematische fout.

Met het bepalen van de recovery kan niet worden nagegaan of amitriptyline volledig wordt geëxtraheerd. Dit kan wel op de volgende wijze: de extractie opbrengst werd bepaald door standaarden in serum



Voorbeeld 3: Regressie-analyse voor het vergelijken van de oude en nieuwe methode van lithium.

Aan de hand van de ANOVA analyse mag worden geconcludeerd dat de regressielijn lineair is. Het afsnijpunt

bestaat is het gemiddelde van de verschillen 0. Deze hypothese wordt getoetst met formule (5), waarbij $\mu =$

[amitriptyline] 40 µg/L	[amitriptyline] 80 µg/L	[amitriptyline] 125 µg/L
40,559	83,658	128,437
42,011	84,967	129,844
41,425	83,429	130,125
41,933	86,735	130,660
41,700	83,818	129,661
41,608	85,985	130,595
gem. = 41,539	gem. = 84,765	gem. = 129,887
recovery = 103,8 %	recovery = 106,0 %	recovery = 103,9 %
bet. interval: ±0,551	bet. interval: ±1,432	bet. interval: ±0,854

Tabel 4: Resultaten bepaling juistheid door recovery.

en standaarden in eluens te maken. Tevens werd de extractie opbrengst van de interne standaard doxepine bepaald. De standaarden in serum werden opgewerkt volgens het vigerende protocol en de standaarden in eluens werden direct geïnjecteerd. Bij de standaarden in eluens is rekening gehouden met een concentratie factor van 20x, zoals bij de standaarden in serum plaatsvindt. De extractie opbrengst werd bepaald als (gevonden conc. serum/gevonden conc. eluens)*100%. De resultaten

betekent dat door een efficiëntere extractie een hogere gevoeligheid kan worden verkregen. Vervolgens werd de herhaalbaarheid van de methode bepaald. Hiervoor werden dezelfde concentraties amitriptyline gebruikt als bij de bepaling van de juistheid. Deze werden tien keer opgewerkt en bepaald. De herhaalbaarheid wordt door middel van de variatie coëfficiënt bepaald. De resultaten zijn gegeven in tabel 7. Als waarschuwingsgrens voor de controles werd gesteld dat deze bin-

[amitriptyline]					
40 µg/L	800 µg/L	80 µg/L	1600 µg/L	125 µg/L	2500 µg/L
piekhoogte in µV					
6145	7390	12490	15120	19357	22722
6230	7378	12524	15260	19685	22670
6444	7395	11887	15164	19229	22657
6256	7302	13244	15262	19959	22811
6192	7326	12556	15173	18297	22663
5808	7321	13458	15282	18508	22876
gem. = 6179	gem. = 7369	gem. = 12693	gem. = 15210	gem. = 19289	gem. = 22733
83,9%		83,4 %		84,9 %	

Tabel 5: Extractie-opbrengst.

zijn gegeven in tabel 5 en 6. Uit de gegevens blijkt dat ±84% amitriptyline wordt geëxtraheerd. Dit

[interne standaard] 2000 µg/L	
extract	eluens
19023	20036
19070	18586
18665	19037
19702	18942
18792	18963
18552	18872
gem. = 18967	gem. = 19073
99,4%	

Tabel 6: Extractie-opbrengst interne standaard (doxepine).

elke standaard werd een onafhankelijke duplo gemaakt. Vervolgens werd de lineariteit bepaald aan de hand van een ANOVA-analyse met behulp van een Excel® applicatie. De resultaten zijn gegeven in tabel 8. Uit de gegevens wordt voor de goodness of fit berekend $F[GOF(1,10)] = 8528,29$, met als eis $F[GOF(1,10)] > 6,937$. Voor de lack of fit wordt berekend $F[LOF(4,6)] = 1,91$, met als eis $F[GOF(1,10)] < 6,227$. Hieruit volgt dat de ijklijn lineair is tot 800 µg/L.

De selectiviteit van het systeem werd bepaald om te controleren of amitriptyline goed gescheiden is van de overige pieken. Hiertoe werd de resolutie (R) van amitriptyline bepaald ten opzichte van de naast gelegen pieken. De eis voor een goede resolutie is dat $R > 1,5$ moet zijn. De resolutie wordt bepaald als $R = (t_{r2} - t_{r1}) / (0,5 \times (w_{r1} + w_{r2}))$. De enige naast gelegen piek voor amitriptyline is nortriptyline. De resolutie amitriptyline - nortriptyline wordt berekend op $R = 1,97$. Het systeem geeft een goede scheiding tussen amitriptyline en nortriptyline. Tot slot werden de bepalingsgrens en de detectiegrens vastgesteld. De detectiegrens werd vastgesteld op 3x de ruis en de bepalingsgrens op 10x de ruis van het systeem. De eis aan het systeem, zoals deze in het laboratorium wordt gehanteerd, is dat de ruis niet groter mag zijn dan 100 µV. Hieruit volgt dat de detectiegrens 300 µV is en de bepalingsgrens 1000 µV. Als deze gegevens worden in gevuld op de ijklijn geeft dit een detectiegrens van 2,0 µg/L en een bepalingsgrens van 6,6 µg/L. De bepalingsgrens werd door ons voor de praktijk vastgesteld op 10 µg/L.

Conclusie

Bij het analyseren van een monster behoort ook het kritisch bekijken van het behaalde resultaat.

Bij de berekening van de scores voor KKGt testen wordt gesuggereerd om uit te gaan van het gemiddelde van de resultaten van de deelnemende laboratoria, waarbij uitbijters niet worden meegenomen.

[amitriptyline] 40 µg/L	[amitriptyline] 80 µg/L	[amitriptyline] 125 µg/L
41,32	83,46	129,8
42,22	85,23	131,5
39,42	81,76	126,3
42,38	80,01	131,5
43,40	83,55	131,9
41,40	85,00	132,8
42,18	85,20	135,2
40,09	75,97	114,3
40,25	77,99	122,7
39,64	78,64	120,1
gem. = 41,230	gem. = 81,681	gem. = 127,61
s = 1,334	s = 3,349	s = 6,645
VC = 3,24 %	VC = 4,10 %	VC = 5,21 %
bet. interval: ± 1,400	bet. interval: ± 3,514	bet. interval: ± 6,972

Tabel 7: Resultaten bepaling herhaalbaarheid.

Een aantal KKGt testen, waarbij regelmatig te hoog of te laag wordt gescoord door alle laboratoria, zoals bijvoorbeeld kinidine, verdienen de aanbeveling om nader bekeken te worden.

Met behulp van de F-toets en de t-toets kan op een eenvoudige wijze worden vastgesteld of verschillende

handelingen of omstandigheden tot een verschillend effect kunnen leiden.

Bij het gebruik van een regressielijn blijkt dat niet de correlatie coëfficiënt als maat voor de lineariteit moet worden aangehouden. De ANOVA-analyse, waarbij zowel naar de goodness of fit als de lack of fit wordt gekeken, geeft meer informatie over de lineariteit.

Voor het vergelijken van twee methoden kan zowel de t-toets (voor gepaarde waarnemingen) als lineaire regressie worden gebruikt. Lineaire regressie heeft hierbij de voorkeur, omdat de afwijking van de regressielijn inzicht kan geven in de aard van de fout die optreedt.

Bij het valideren van een methode spelen statistische hulpmiddelen

[amitriptyline] µg/L	ratio piekhoogte amitriptyline/interne standaard
40	0,340
40	0,328
80	0,645
80	0,668
160	1,329
160	1,350
250	2,041
250	2,083
400	3,206
400	3,284
800	6,351
800	6,224

Tabel 8: Resultaten lineariteit ijklijn.

een onmisbare rol. Hierbij moet duidelijk zijn omschreven wat de te meten parameters inhouden en op welke wijze ze moeten worden bepaald.

Dankwoord

Graag willen wij dr. A.B. de Vries, Hanzehogeschool Groningen, en drs. J.J.W. Ros, ziekenhuisapotheek Midden-Brabant, bedanken voor het kritisch lezen van dit artikel en het constructief meedenken.

Literatuur

1. Heathcontrol External Quality Assessment Scheme. Participant Handbook 1996. Cardiff UK.
2. Trace Elements Quality Assessment Scheme. A guide to the TEQAS six monthly report 1995. University of Surrey UK.
3. Produkt informatieblad BIO-RAD Lyphochek® Therapeutic Drug Monitoring Control (TDM) Levels 1, 2 and 3.
4. Produkt informatieblad Instrumentation Laboratory TheraChem® TDCTM Therapeutic Drug Controls.
5. M.C.J. Langen en J.J.W. Ros, Ziekenhuisfarmacie, 11(1995) 64-66.
6. L.M. Voth, AA Instruments at work, 16(1981) Varian application note.
7. R. Kaletsky en R. Langen, Extract, 3(1992) 15-19.
8. F.J. van de Vaart, Extract, 2(1993), 13-23.

Statistiek

Hieronder volgt de reactie van de stichting KKGt op het in dit nummer geplaatste artikel 'Statistiek in het laboratorium van de ziekenhuisapotheek' deel 2. (redactie)

DOELWAARDE VAN KWALITEITSCONTROLEMONSTERS

Ingewogen hoeveelheid versus gemiddelde na statistische bewerking.

De via afweging verkregen doelwaarde van een controlemonster voor een te bepalen stof is onafhankelijk van de analysetechniek. De

waarde staat vooraf vast: er wordt in feite een standaardoplossing gemaakt (in serum). Uiteraard is daarbij aan een aantal analytische criteria voldaan: nauwkeurige weging, zuivere grondstof, nauwkeurige wijze van oplossen/aanvullen/verdunden. Het lyofiliseren omvat een nauwkeurige (analytische) dispensing en een via weging berekende reconstitutiefactor; de fout is normaliter zeer klein. De totale fout is destijds door Dijkhuis (proefschrift 1979) voor fenobarbital berekend op 0,5%; bij erg lage concentraties wordt extra verdund en dan een pipetfout inge-

voerd: de totale fout zal dan oplopen tot ca. 1 à 2 %.

In de jaren rond '79 was de fout bij de 'true value' volgens de methode van o.a. Heath Control tientallen malen hoger, zijnde een gemiddelde van waarden, bepaald via veelal slechte analysemethoden. Uiteraard zijn alle bepalingsmethoden sindsdien sterk verbeterd, maar het blijven extra handelingen, zoals de metingen en het maken van eigen (via weging verkregen) standaardoplossingen, waarmee de KKGt-oplossing wordt "gecontroleerd". De inweegmethode wordt nog steeds voor de KKGt monsters

gehanteerd. Gebruik van het gemiddelde van een aantal gemeten waarden en statistische bewerking om uitbijters te verwijderen betekent dus het extra inbrengen van variabelen. Immers elke techniek die ingesloten wordt, kan een andere uitkomst geven. De doelwaarde wordt derhalve mede bepaald door het scala aan gebruikte technieken en de frequentie waarmee elk van de technieken voorkomt. Verschuiving in analysetechniek frequentie kan tot andere doelwaarden van het controlemonster leiden, hetgeen niet wenselijk is.

In het geval van immunoassays wor-

den bovendien resultaten verkregen met standaarden die door de fabrikant van de analysetechniek worden geleverd. Hoe aan deze standaarden een waarde wordt toegekend, is zelden bekend bij de gebruiker.

Voor interne controle kan een waarde over een controlemonster worden toegekend op basis van de eigen analysetechniek. Voor externe controle dient naar het oordeel van de KKGZ zoveel mogelijk een "gouden standaard", zoals ingewogen concentraties, gebruikt te worden.

Alléén als er een duidelijk vermoeden bestaat op ontleding tijdens het bereidingsproces, wordt door ons

uitgeweken naar de methode van gemiddelde na statistische bewerking

Vanzelfsprekend zijn er nog talloze aspecten in de discussie te betrekken, zoals de zuiverheid van de stof, ontleding, curve fitting, matrix effecten, voldoende aantal waarnemingen voor statistische bewerking etc. Deze zijn nu verder buiten beschouwing gebleven om de discussie overzichtelijk te houden.

Namens het KKGZ-bestuur,
Dr. P.J. Helmsing.
Dr. I.C. Dijkhuis.