

Raad voor Accreditatie (RvA)

**Toelichtend document
Hydrobiologie**

Documentcode: | **RvA-T039-NL**
| **Versie 2, 20-5-2019**

Een RvA-Toelichting beschrijft het beleid en/of de werkwijze van de RvA met betrekking tot een specifiek accreditatieonderwerp. Indien het beleid en/of de werkwijze betreffende een accreditatieonderwerp, dat in een RvA-Toelichting is beschreven, in een EA-, ILAC- of IAF-document wordt vastgelegd, zal de RvA zijn beleid en werkwijze in overeenstemming brengen met dit EA-, ILAC- of IAF-document.

Een actuele versie van de Toelichtingen is via de website van de RvA (www.rva.nl) te verkrijgen.

Inhoud

1	Inleiding	4
2	De scope van hydrobiologische verrichtingen	4
2.1	Monsterneming	5
2.2	Analyse	5
3	Verwijzen naar referentiemethoden op scopes	6
3.1	Referentiemethoden	6
4	Validatie van hydrobiologische methoden	7
4.1	Inleiding	7
4.2	Prestatiekenmerken	9
5	Naspeurbaarheid en herleidbaarheid	13
5.1	Naspeurbaarheid	13
5.2	Herleidbaarheid	14
6	Toepassing van kwaliteitscontroles	15
6.1	Algemene kwaliteitscontroles	15
6.2	Eerstelijnscontrole	15
6.3	Tweedelijnscontrole	16
6.4	Derdelijnscontrole	16
7	Wijzigingen ten opzichte van voorgaande versie	17
8	Literatuur	17

1 Inleiding

De norm die algemene eisen stelt aan de bekwaamheid van beproevings- en kalibratielaboratoria (EN ISO/IEC 17025) geeft voor hydrobiologische verrichtingen geen eenduidige interpretatie van een aantal voor kwaliteitsborging relevante aspecten. Om het accreditatieproces te uniformeren wordt in dit document, dat is opgesteld in samenwerking met de Technische Commissie Hydrobiologie van de Federatie Nederlandse Laboratoria (Fenelab), een toelichting gegeven op de volgende onderwerpen/begrippen:

- de scope van verrichtingen;
- conform, gelijkwaardig en eigen methode;
- validatie en verificatie van methoden;
- meetonzekerheid;
- naspeurbaarheid en herleidbaarheid;
- toepassing van kwaliteitscontroles.

De genoemde onderwerpen/begrippen komen (indien relevant) voor zowel hydrobiologische bemonsteringen als voor (veld)analyses aan de orde. De interpretaties in dit document zijn gebaseerd op de eisen geformuleerd in EN ISO/IEC 17025. Daarnaast wordt in de tekst ook verwezen naar andere (inter)nationale normen en naar documenten die in het kader van accreditatie zijn opgesteld door de RvA.

2 De scope van hydrobiologische verrichtingen

In de scope wordt een zo nauwkeurig mogelijke omschrijving gegeven van een hydrobiologische verrichting. Daarbij mag conform RvA-T025 gerefereerd worden aan zowel referentiemethoden als eigen methoden. Tegelijkertijd worden de volgende matrices onderscheiden:

- oppervlaktewater (zoet, brak of zout);
- proceswater ((drink)water in verschillende stadia van zuivering);
- waterbodem (hard of zacht);
- substraat (natuurlijk of kunstmatig).

Het overgrote deel van de hydrobiologische verrichtingen wordt uitgevoerd in het kader van het monitoren van de ecologische toestand van oppervlaktewateren. Daartoe worden in een meetnet monsters genomen in een bepaalde frequentie, waarna de verzamelde hydrobiologische gegevens veelal worden gebruikt voor het uitvoeren van ecologische beoordelingen (onder andere de Kaderrichtlijn Water, 2000/60/EG). Overwegingen die ten grondslag liggen aan hydrobiologische meetprogramma's worden niet in alle gevallen scherp geformuleerd door de opdrachtgever.

Laboratoria moeten zich bewust zijn van de verschillende toepassingen en moeten de eisen die hieruit voortvloeien tot uiting te brengen in de analysemethode en de bijbehorende scope. Daarnaast is het veelal nodig dat een laboratorium per onderzoeksproject aangeeft in hoeverre een bepaalde verrichting geschikt is voor het beoogde doel.

2.1 Monsterneming

In aquatische ecosystemen zijn organismen veelal heterogeen verdeeld als gevolg van variatie in (micro)habitatkenmerken. Tegelijkertijd treden vaak sterke tijdgebonden wisselingen in abundantie op. Dientengevolge worden resultaten van hydrobiologische analyses in sterke mate beïnvloed door de wijze van bemonstering, waarbij de gebruikte apparatuur, de gekozen locatie, de tijd van het jaar en het tijdstip van de dag een doorslaggevende betekenis kunnen hebben.

Er moet worden aangetoond dat de manier waarop de bemonstering plaatsvindt past bij het beoogde doel, waarbij de gemaakte keuzes moeten worden vastgelegd. In RvA-T021 komen de algemene eisen die worden gesteld aan de accreditatie van monsterneming aan de orde. In de scope moet, naast een specifieke aanduiding van het toepassingsgebied, vastgelegd worden ten behoeve van welke hydrobiologische verrichting de bemonstering wordt uitgevoerd. Indien mogelijk wordt ook de bemonsteringmethode specifiek aangeduid.

Bijvoorbeeld:

Nr.	Materiaal of product	Verrichting/Onderzoeksmethode	Intern referentienummer
Monsterneming			
a	Waterbodem (zacht) en oppervlaktew ater (zoet)	Bemonstering voor het bepalen van de soortensamenstelling van de macro-evertebraten; multihabitatmethode.	HYD-M1 eigen methode
b	Oppervlaktew ater (zoet)	Bemonstering ten behoeve van het bepalen van de soortensamenstelling, de dichtheid en het biovolume van het fytoplankton; w aterhapper.	HYD-M2 eigen methode

Indien de bemonstering niet onder accreditatie heeft plaatsgevonden, kan slechts een uitspraak worden gedaan over de samenstelling van het aangeleverde monster. Opgemerkt wordt dat er ook hydrobiologische verrichtingen worden toegepast, waarbij bemonstering en analyse gedeeltelijk samenvallen (inventarisatie van water- en oeverflora, bestandsopname van vis). Feitelijk gaat het daarbij om de uitvoering van veldanalyses.

2.2 Analyse

Een hydrobiologische analyse is een verrichting waarbij in het laboratorium aan de hand van een monster of direct in het veld, de taxonomische samenstelling en/of de biomassa (biovolume) van één of meerdere groepen van aquatische organismen wordt bepaald. Moleculairbiologische methoden (onder andere DNA-technieken) en chemische analyses (zoals het bepalen van de concentratie chlorofyl) vallen buiten deze definitie. In de scope moet, naast een specifieke aanduiding van het toepassingsgebied en de methode, ondubbelzinnig aangegeven worden tot op welk taxonomisch niveau organismen worden gedetermineerd (waar mogelijk tot op soort). Daarnaast moet ook de gebruikte analysetechniek worden vermeld.

Bijvoorbeeld:

Nr.	Materiaal of product	Verrichting / Onderzoeksmethode	Intern referentienummer
Hydrobiologische analyses			
1	Waterbodem (zacht) en oppervlaktewater (zoet)	Het bepalen van de abundantie en de bedekking van water- en oeverflora; vegetatieopname volgens Tansley.	HYD-A1 Handboek Hydrobiologie - Bijkerk R. (2010), (hoofdstuk 11)
2	Oppervlaktewater (zoet)	Het bepalen van de soortensamenstelling, de dichtheid en het biovolume van het fytoplankton; cuvetmethode (microscopie en beeldanalyse).	HYD-A2 NEN-EN 15204

3 Verwijzen naar referentiemethoden op scopes

3.1 Referentiemethoden

In de scope van accreditatie moet per verrichting op ondubbelzinnige wijze verwezen worden naar de gehanteerde methode. Daarbij verdient het de voorkeur om uit te gaan van referentiemethoden die zijn vastgelegd in:

- referentienormen op nationaal (NEN), Europees (EN) of wereld- (ISO) niveau;
- (wetenschappelijke) publicaties die algemeen geaccepteerd zijn binnen de sector en die tevens openbaar beschikbaar zijn.

Voor hydrobiologische analyses is momenteel slechts een beperkt aantal (internationale) normen beschikbaar. Om in Nederland tot harmonisatie van methoden te komen is in 2010 het Handboek Hydrobiologie (Bijkerk, 2010) verschenen. Aangezien deze publicatie algemeen geaccepteerd wordt binnen de sector en bovendien openbaar beschikbaar is, wordt het toegestaan om conformiteit te claimen overeenkomstig de hierin beschreven hydrobiologische methoden (zie ook paragraaf 2.2).

Per 1 april 2019 is de RvA gestopt met het gebruik van de begrippen 'conform' en 'gelijkwaardig aan' in de scope van accreditatie. Het gebruik van de begrippen conform en gelijkwaardig aan door de laboratoria blijft wel vereist. Van de laboratoria wordt verwacht dat zij hun klanten informeren over de toe te passen (zoals in offertes) en toegepaste (zoals in rapportages) methoden. Voor meer informatie zie RvA T001.

3.1.1 Conform

Voor een hydrobiologische methode kan conformiteit geclaimd worden wanneer op kritische onderdelen niet wordt afgeweken van de referentiemethode. Het laboratorium moet aantonen dat de methode volgens de beschreven specificaties wordt uitgevoerd en tegelijkertijd de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid door eigen onderzoek vaststellen. Daarnaast moet het laboratorium vaststellen of de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid voldoen aan de geldende interne en/of externe eisen. Zie RvA-T001 paragraaf 2.2.

3.1.2 Gelijkwaardig

Een hydrobiologische methode kan gelijkwaardig worden genoemd wanneer de wijze van uitvoering afwijkt van de referentiemethode, maar daarbij gelijkwaardige analyseresultaten worden verkregen. Als de referentiemethode de benodigde flexibiliteit (op basis van wensen van bijvoorbeeld de opdrachtgever) niet toestaat, is geen sprake meer van gelijkwaardigheid, maar van een eigen methode, die buiten de accreditatie valt of waarvan het (aanvullende) analyseprotocol apart moet worden geaccrediteerd. Ook voor gelijkwaardige methoden moet het laboratorium de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid door eigen onderzoek vaststellen. Er is alleen dan sprake van gelijkwaardigheid wanneer de prestatie van de alternatieve methode niet slechter is dan die van de referentiemethode. In dit kader wordt ook verwezen naar NEN 7778.

3.1.3 Eigen methode

Indien voor een hydrobiologische methode noch conformiteit, noch gelijkwaardigheid kan worden geclaimd, dan wordt op de verrichtingenlijst verwezen naar een 'eigen methode'. In geval van een eigen methode is het laboratorium eveneens verplicht om een validatie van de methode uit te voeren, waarbij de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid moeten worden bepaald en getoetst aan interne en/of externe eisen.

4 Validatie van hydrobiologische methoden

4.1 Inleiding

Hydrobiologische verrichtingen (conform, gelijkwaardig aan, eigen methode) die worden aangeboden voor accreditatie moeten gevalideerd zijn. Dit geldt zowel voor de bemonsterings- als voor de analysemethoden. Onder validatie wordt verstaan: het redelijkerwijs aantonen dat de beschreven methode geschikt is voor het beoogde gebruik. Voor hydrobiologische verrichtingen moet de validatie ten minste de volgende kwaliteitsaspecten omvatten:

- geschiktheid van de bemonstering;
- invloed van voorbereidingen;
- aantoonbaarheid en terugvinding van taxa;
- betrouwbaarheid van tellingen en abundantieschattingen;
- herleidbaarheid/naspeurbaarheid van identificatie en naamgeving van organismen.

Voor elke analyse dienen de afzonderlijk deelstappen te worden geïdentificeerd. Alleen de deelstappen waarvan verwacht mag worden dat deze een significante bijdrage leveren aan de totale meetonzekerheid moeten gevalideerd worden.

Als algemene leidraad voor kwaliteitsborging en methodevalidatie kan gebruik worden gemaakt van EN 14996. Naast meer beschrijvende aspecten, dient de validatie zich ook te richten op het kwantitatief vaststellen van prestatiekenmerken en de meetonzekerheid van de methode. Hiervoor moeten NEN 7777 en NEN 7779 als uitgangspunt worden gehanteerd. Opgemerkt wordt dat de genoemde normen bedoeld zijn voor validatie van chemische meetmethoden en daarom voor hydrobiologische verrichtingen vragen om een eigen interpretatie. Het accuraat vaststellen van

prestatiekenmerken wordt bemoeilijkt doordat er veelal sprake is van een meervoudig analyseresultaat, waarbij soortenlijsten in veel gevallen een kleine deelverzameling vormen uit een veel groter geheel aan soorten. Accurate informatie over juistheid ontbreekt bovendien veelal en is mede afhankelijk van uiteenlopende taxonomische opvattingen en ontwikkelingen. Het wel of niet waarnemen van soorten wordt vooral bepaald door de abundantie in combinatie met de bemonsterings- of telstrategie en de taxonomische kennis van de uitvoerende. Prestatiekenmerken van hydrobiologische verrichtingen zullen daarom veelal een indicatief karakter hebben en winnen aan betekenis naarmate deze zijn gebaseerd op meer gegevens, zoals deze onder andere afkomstig kunnen zijn uit lijncontroles. Vanuit dit oogpunt verdient het ook aanbeveling om bij het vaststellen van prestatiekenmerken uit te gaan van monsters die verschillen qua herkomst en dientengevolge ook qua soortensamenstelling, uiteraard binnen de begrenzing van de scope.

In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de prestatiekenmerken die voor hydrobiologische methoden vastgesteld moeten worden in het kader van accreditatie. Bij de keuze van te bepalen prestatiekenmerken is uitgegaan van relevantie en is bovendien rekening gehouden met praktische mogelijkheden en beperkingen. Voor een meer uitputtend overzicht van prestatiekenmerken wordt verwezen naar NEN 7777. Overigens is dit T-document niet bedoeld om gedetailleerd aan te geven hoe prestatiekenmerken van hydrobiologische methoden bepaald dienen te worden. Hiervoor bestaan uiteenlopende mogelijkheden, die nog niet nader zijn vastgelegd in (inter)nationale normdocumenten.

Tabel 1. Prestatiekenmerken (en meetonzekerheid) die bepaald dienen te worden voor geaccrediteerde hydrobiologische verrichtingen.

Prestatiekenmerk	aantoonbaarheidsgrens	trefkans	herhaalbaarheid	reproduceerbaarheid	juistheid (determinatie)	juistheid (telling/abundantie)	Meetonzekerheid*
Verrichting							
monsterneming macro-evertebraten		X	X	X			X
monsterneming diatomeeën		X	X	X			X
monsterneming fytoplankton		X	X	X			X
monsterneming zoöplankton		X	X	X			X
veldanalyse w ater- en oeverflora				X	X	X	X
veldanalyse visbestand				X	X		X
laboratoriumanalyse macro-evertebraten	X			X	X	X	X
laboratoriumanalyse diatomeeën	X		X	X	X	X	X
laboratoriumanalyse fytoplankton	X		X	X	X	X	X
laboratoriumanalyse zoöplankton	X		X	X	X	X	X

* Meetonzekerheid heeft betrekking op het analytisch resultaat van een verrichting (zie 4.2.6), terwijl prestatiekenmerken betrekking hebben op de meetmethode.

De prestatiekenmerken moeten na vaststelling getoetst worden aan de geformuleerde (interne of externe) eisen. Dit steeds in relatie tot de doelstellingen van de bepaling.

4.2 Prestatiekenmerken

In deze paragraaf volgt voor hydrobiologische verrichtingen een toelichting op de vast te stellen prestatiekenmerken, als onderdeel van de methodevalidatie.

4.2.1 Aantoonbaarheidsgrens

De aantoonbaarheidsgrens is het minimum aantal waarnemingen van een specifiek taxon dat nog met een bepaalde betrouwbaarheid kan worden vastgesteld.

analyse

Door middel van het vaststellen van de aantoonbaarheidsgrens kan bepaald worden of alle voor het onderzoek relevante taxa doorgaans gedetecteerd zullen worden. De benodigde betrouwbaarheid kan verschillen afhankelijk van de vraagstelling. Zo volstaat het soms wanneer alleen de meest abundante soorten worden teruggevonden, terwijl het ook van belang kan zijn om soorten met een veel lagere abundantie terug te vinden, aangezien ze een belangrijke indicatiewaarde hebben voor waterkwaliteit. De wijze waarop organismen worden verzameld of geteld is van grote invloed op het waarnemen van taxa. Zo is het tellen van een beperkt aantal cellen in een soortenrijk monster niet verdedigbaar wanneer ook informatie over niet-dominante soorten gewenst is. Het op het laboratorium analyseren van een klein aantal deelmonsters kan bij macro-evertebraten eveneens sterk van invloed zijn op het aantal gevonden taxa.

4.2.2 Trefkans

De trefkans is de kans waarmee een taxon dat voorkomt in een waterlichaam met de geselecteerde methode kan worden gedetecteerd.

monsterneming

Wanneer de uiteindelijke doelstelling van een onderzoeksproject slechts gericht is op het vaststellen van de meest abundante taxa die voorkomen in een waterlichaam, dan zal de bemonsteringsinspanning beperkt kunnen zijn. Wanneer men echter een zo volledig mogelijk beeld van de soortensamenstelling wenst, dan zullen aanzienlijk meer monsters genomen moeten worden dan wel meer specifieke monstermethodes moeten worden toegepast. De bemonsteringsinspanning moet afgestemd zijn op de eisen die gesteld worden aan de trefkans, ook in relatie tot de aantoonbaarheidsgrens van de analyse. Afhankelijk van de vraagstelling kan de trefkans uitgedrukt worden als de kans op het aantreffen van een specifiek taxon of als een schatting van het percentage van het totaal aantal aanwezige taxa in een waterlichaam dat met een bepaalde bemonsteringsmethode kan worden gevonden.

4.2.3 Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid is de mate van overeenstemming tussen meetresultaten verkregen door opeenvolgende metingen van hetzelfde object of gelijkende objecten in herhaalbaarheidsomstandigheden.

monsterneming

De herhaalbaarheid van de bemonstering heeft tot doel om vast te stellen in hoeverre de taxonomische samenstelling vergelijkbaar is wanneer monsters onder dezelfde omstandigheden worden verzameld. Bij het vaststellen van de herhaalbaarheid moet op een zodanige wijze worden bemonsterd dat de afzonderlijke bemonsteringen elkaar niet beïnvloeden. Vergelijkbaarheid wordt over het algemeen vastgesteld door de aanwezige individuen van één of meer goed herkenbare taxa of groepen te tellen en de gevonden spreiding in de meetresultaten te bepalen.

analyse

De herhaalbaarheid van de analyse heeft tot doel om vast te stellen in hoeverre vergelijkbare resultaten worden verkregen wanneer een analyse onder dezelfde omstandigheden opnieuw wordt uitgevoerd. In tegenstelling tot bijvoorbeeld chemische meetmethoden kan het geheugen van de uitvoerende een rol spelen bij het vaststellen van de herhaalbaarheid. Hierdoor en door methodologische beperkingen wordt het vaststellen van de herhaalbaarheid van veldanalyses en de analyse van de macro-vertebraten minder zinvol geacht. De herhaalbaarheid dient echter wel vastgesteld te worden voor het determineren en tellen van planktonische organismen (diatomeeën, fytoplankton, zoöplankton). Bij het vaststellen van de herhaalbaarheid moet gekozen worden voor een opzet waarbij het geheugen van de uitvoerende geen prominente rol speelt.

4.2.4 Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid is de mate van overeenstemming tussen meetresultaten van opeenvolgende metingen van hetzelfde object of gelijkende objecten in reproduceerbaarheidsomstandigheden.

monsterneming

De reproduceerbaarheid van bemonstering heeft tot doel om vast te stellen in hoeverre overeenkomstige resultaten worden verkregen wanneer monsters onder verschillende omstandigheden worden genomen. Variatie wordt onder andere geïntroduceerd door uit te gaan van verschillende uitvoerenden, verschillen in de bemonsteringsapparatuur en verschillende (maar representatieve) locaties. De monsters dienen echter wel binnen een beperkt tijdvenster worden genomen om variatie als gevolg van populatie-ontwikkeling te voorkomen. Vergelijkbaarheid wordt over het algemeen vastgesteld door de aanwezige individuen van één of meer goed herkenbare taxa of groepen te tellen en de gevonden spreiding in de meetresultaten te bepalen.

(veld)analyse

De reproduceerbaarheid van de analyse heeft tot doel om vast te stellen in hoeverre vergelijkbare analyseresultaten worden verkregen wanneer monsters onder verschillende omstandigheden worden

geanalyseerd. Daarbij valt te denken aan verschillende uitvoerenden, die de analyses op verschillende dagen met verschillende apparatuur (onder andere microscopen) uitvoeren. Per monster worden veelal de aanwezige individuen van verschillende taxa geteld, waarna de spreiding in de meetresultaten wordt bepaald. De reproduceerbaarheid van abundante en gemakkelijk determineerbare taxa zal over het algemeen beter zijn dan die van minder abundante moeilijker te determineren taxa. Tegelijkertijd wordt nooit een volledige indruk van de reproduceerbaarheid van een analyse verkregen, aangezien om praktische redenen slechts een relatief beperkt aantal taxa of groepen kunnen worden betrokken bij het vaststellen van dit prestatiekenmerk.

4.2.5 Juistheid

De juistheid is de mate van overeenstemming tussen het gemiddelde van een oneindig aantal opeenvolgende meetresultaten/waarnemingen en de juiste waarde/waarneming (referentiewaarde).

(veld)analyse

De juistheid heeft betrekking op systematisch fouten zoals het gemiddelde percentage verkeerd gedetermineerde taxa en het percentage gemiste taxa. Een indruk van de juistheid kan onder andere verkregen worden door gebruik te maken van resultaten van ringonderzoeken en/of materiaal afkomstig uit referentiecollecties (individuen of foto's). Het nadeel van veel ringonderzoeken is dat de juiste waarde niet bekend is en dat gebruik wordt gemaakt van een consensuswaarde (gemiddelde van een telling) of de mening van een taxonomisch deskundige (naamgeving). Het vaststellen van de juistheid aan de hand van individuen en/of foto's afkomstig uit referentiecollecties heeft ook nadelen, aangezien slechts de juistheid van een deelaspect van de analyse wordt bepaald. Hoewel dit acceptabel is, moet wel aangegeven worden wat de specifieke beperkingen zijn van de wijze waarop de juistheid is bepaald.

4.2.6 Meetonzekerheid

De meetonzekerheid is een met het resultaat van een meting in verband staande parameter die de spreiding van waarden, die redelijkerwijs aan de meetgrootte kunnen worden toegekend, karakteriseert.

In deze paragraaf volgt voor hydrobiologische verrichtingen een toelichting op het vaststellen van de meetonzekerheid.

Er bestaat vooralsnog geen eenduidige methode voor het vaststellen van de meetonzekerheid van hydrobiologische verrichtingen. Niettemin moet zoveel mogelijk de systematiek van NEN 7779 gevolgd worden. Daarbij wordt aangetekend dat de wijze waarop de meetonzekerheid wordt uitgedrukt afgestemd moet worden op het onderzoeksdoel. Wanneer de analyse bijvoorbeeld gericht is op het vaststellen van de waterkwaliteit kan volstaan worden met het vertalen van de meetonzekerheid naar het niveau van de beoordelingsmethode (bijvoorbeeld KRW-maatlat).

De meetonzekerheid van de bemonstering en de analyse moeten apart worden vastgesteld wanneer beide aspecten onder accreditatie worden uitgevoerd. Als alleen de analyse onder accreditatie wordt

uitgevoerd is de meetonzekerheid van de bemonstering over het algemeen opgenomen in de meetonzekerheid van de analyse.

Bij het vaststellen van de meetonzekerheid maakt men allereerst een inventarisatie van de beschikbare gegevens en een stapsgewijze beoordeling van bronnen van onzekerheid die de beste dekking geven. Als grondslag van de meetonzekerheid worden over het algemeen de reproduceerbaarheid en de juistheid gebruikt, omdat hierin de meeste bronnen van onzekerheid zijn verdisconteerd. Voor hydrobiologische analyses is het veelal praktisch om de reproduceerbaarheid van deelaspecten te bepalen (bijvoorbeeld de voorbewerking en de telling), terwijl de juistheid vooral betrekking zal hebben op de naamgeving van organismen.

De gecombineerde standaardonzekerheid kan op de volgende wijze worden berekend, wanneer we ervan uit gaan dat in de hydrobiologie zowel toevallige als systematische fouten optreden:

$$U_{RC} = \sqrt{U_{R1}^2 + U_{R2}^2 + \dots + \delta^2}$$

Waarin:

- U_{RC} = standaardonzekerheid (%)
- U_{R1} = toevallige afwijking: reproduceerbaarheid (relatieve standaarddeviatie in %) van deelaspect 1
- U_{R2} = toevallige afwijking: reproduceerbaarheid (relatieve standaarddeviatie in %) van deelaspect 2
- δ = systematische afwijking: onjuistheid (100 – de juistheid in %)

Opgemerkt wordt dat sommige deelaspecten van de analyse niet geheel onafhankelijk van elkaar zijn. Zo zal een taxon dat niet als zodanig wordt herkend, ook ontbreken bij de telling.

Uit het voorafgaande kan de geëxpandeerde meetonzekerheid gekwantificeerd worden als het (procentuele) interval dat met een waarschijnlijkheid van 95% de waarde van de meetgrootte omvat:

$$U_R = k \times U_{RC}$$

Waarin:

- U_R = de relatieve geëxpandeerde meetonzekerheid (%)
- k = de dekkingsfactor

De dekkingsfactor wordt gegeven als de t-waarde die geldig is voor een eenzijdige overschrijdingskans van 97,5% (voor n-1 metingen). Indien aan de bepaling van de gecombineerde standaardonzekerheid steeds ten minste acht metingen ten grondslag liggen, kan de dekkingsfactor redelijkerwijs gelijk gesteld worden aan de waarde twee.

Als laatste stap benoemt en evalueert men de bronnen die niet zijn vertegenwoordigd in de geëxpandeerde meetonzekerheid.

4.2.7 Validatierapport

De validatie van een hydrobiologische verrichting moet in de vorm van een validatierapport worden vastgelegd. In het validatierapport moeten in ieder geval de volgende aspecten aan de orde komen:

- de naam van de verantwoordelijke uitvoerende(n) en het laboratorium;
- een ondubbelzinnige verwijzing naar de gevalideerde verrichting;
- het toepassingsgebied en de uiteindelijke doelstelling van de gevalideerde verrichting;
- motivatie voor het wel of niet vaststellen van specifieke prestatiekenmerken;
- de wijze waarop de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid, methodisch en rekenkundig zijn bepaald;
- de waarden van de prestatiekenmerken met in begrip van de oorspronkelijke meetresultaten;
- de aspecten van de verrichting die wel of niet zijn opgenomen in de meetonzekerheid;
- de interne of externe eisen waaraan de verrichting moet voldoen in relatie tot de doelstelling;
- beoordeling van de prestatiekenmerken tegen de vooraf vastgestelde interne of externe eisen.

5 Naspeurbaarheid en herleidbaarheid

Voor hydrobiologische verrichtingen zijn de begrippen naspeurbaarheid en herleidbaarheid van groot belang. In dit hoofdstuk volgen enkele aspecten van naspeurbaarheid en herleidbaarheid die onlosmakelijk zijn verbonden met de accreditatie van hydrobiologische verrichtingen.

5.1 Naspeurbaarheid

Onder de naspeurbaarheid wordt verstaan het verschaffen van inzicht over de wijze waarop resultaten tot stand zijn gekomen en de keuzes die hierbij zijn gemaakt.

Voor monsterneming/veldanalyse:

- eenduidige identificatie en omschrijving van de specifieke bemonsteringslocatie (aan de hand van locatiecode, locatiennaam, XYZ-coördinaten, foto's et cetera);
- beschrijving van de bemonsteringsstrategie en de daarbij gemaakte keuzes;
- registratie van bijzonderheden die van invloed kunnen zijn op het (analyse)resultaat (weersomstandigheden, temperatuur, beschaduwing et cetera).

Voor analyse:

- de wijze waarop eventuele deelmonsters tot stand zijn gekomen;
- de gehanteerde telstrategie (planktonanalyses) in relatie tot de doelstelling;
- een overzicht van de in gebruik zijnde (en algemeen geaccepteerde) determinatieliteratuur en de beschikbaarheid van handleidingen en procedures voor het gebruiken, selecteren en up-to-date houden hiervan (zie ook EN 16164);
- het aantoonbaar effectief gebruik van de beschikbare determinatieliteratuur. Niet alleen om de naamgeving van onbekende taxa vast te stellen, maar ook ter verificatie van de juistheid van de naamgeving van taxa waarvan verondersteld wordt dat men deze op basis van visuele kenmerken herkent;

- registratie van wijzigingen in de naamgeving van organismen en in de gebruikte determinatieliteratuur (zie ook paragraaf 5.2);
- een referentiecollectie (individuen of foto's) om de naspeurbaarheid en de juistheid van determinaties te verifiëren en de beschikbaarheid van handleidingen en procedures voor het gebruik en up-to-date houden van de collectie. Opgemerkt wordt dat in de referentiecollectie zoveel mogelijk soorten opgenomen moeten worden (met uitzondering van zeer gemakkelijk herkenbare soorten), waarbij soorten waarvan de determinatie kritisch is zeker vertegenwoordigd moeten zijn.

5.2 Herleidbaarheid

Onder herleidbaarheid wordt verstaan dat metingen terug te leiden zijn naar (inter)nationale standaarden.

Monsterneming/veldanalyse

Specifieke apparatuur die gebruikt wordt bij de bemonstering of bij de uitvoering van veldanalyses moet herleidbaar zijn. Zo dienen voor bijvoorbeeld handnetten, planktonnetten en zeven de maaswijdtes vastgesteld te zijn met behulp van een herleidbare standaard (bijvoorbeeld een meetoculair dat gekalibreerd is door een geaccrediteerde kalibratie-instelling).

Analyse

Bij de analyse gebruikte meetmiddelen (oculairmicrometers, balansen etc.) dienen aantoonbaar gekalibreerd te zijn aan de hand van herleidbare standaarden.

Determinatie

De namen en de schrijfwijze van door een laboratorium gerapporteerde taxa dienen herleidbaar te zijn tot de nationale standaard Taxa Waterbeheer Nederland (TWN). Door verwijzing naar de TWN wordt in principe ook de herleidbaarheid van de determinatie aangetoond, mits de in de TWN vermelde determinatieliteratuur ook daadwerkelijk wordt gebruikt.

Van ieder taxon dat voor het eerst door een instelling wordt aangetroffen en op naam gebracht, moet eenmalig vastgelegd worden welke keuzes met betrekking tot de determinatie en de naamgeving zijn gemaakt. Dit betreft in ieder geval de volgende aspecten:

- routinematig op naam gebracht of een incidentele determinatie;
- determinatieliteratuur uit de TWN waaraan wordt gekoppeld en vanaf welke datum of voor welk project de betreffende naam wordt gebruikt;
- problemen ten aanzien van de nomenclatuur, taxonomie of herkenning van een taxon; minimaal moet de beschikbare informatie zoals vermeld in de TWN geraadpleegd worden;
- eenduidige keuze en consequent gebruik van taxa in een hogere rangorde (bijvoorbeeld niet de ene keer de orde en de andere keer de klasse voor eenzelfde niet tot op soort te determineren organisme rapporteren).

Opgemerkt wordt dat deze informatie niet direct voor alle in het verleden aangetroffen taxa wordt geëist. Volstaan kan worden met een geleidelijke opbouw van de documentatie vanaf een gekozen startdatum.

Er moet aantoonbaar een actief beleid zijn om ontbrekende kennis en vaardigheden op het vlak van determinatie aan het licht te brengen. Dit kan bijvoorbeeld door in overleg te treden met collega's en door screening van de referentiecollectie (individuen of foto's) door deskundigen. Vermeden moet worden dat de ene uitvoerende een soort wel op naam kan brengen en de een andere niet.

6 Toepassing van kwaliteitscontroles

In dit hoofdstuk volgt een nadere toelichting op de mogelijke toepassing van lijncontroles in de hydrobiologie (zie ook RvA-T002).

6.1 Algemene kwaliteitscontroles

Naast lijncontroles moeten algemene kwaliteitscontroles er voor zorgen dat potentiële fouten worden vermeden. Op dit vlak dienen minimaal de volgende stappen te worden ondernomen:

- vaststellen of monstergegevens correct zijn overgenomen op (digitale) analyseformulieren;
- (steekproefsgewijs) de juistheid van handmatig overgedragen analysegegevens controleren;
- gevalideerde rekenbladen toepassen indien berekeningen noodzakelijk zijn;
- consulteren van collega's (interne of externe deskundigen) bij twijfel over de juistheid van determinaties en de uitkomsten van de consultatie vastleggen;
- beschikken over een stapsgewijze inwerkprocedure, waarbij specifieke aandacht wordt besteed aan het ontwikkelen van determinatievaardigheden (niet alleen het herkennen van taxa), en criteria op basis waarvan een uitvoerende bevoegd wordt verklaard;
- vaststellen of het aantreffen van bepaalde taxa plausibel is gezien de herkomst van het monster;
- periodieke onderlinge afstemming van werkwijzen tussen verschillende uitvoerenden van bemonstering (in overeenstemming met RvA-T021) en analyse.

6.2 Eerstelijnscontrole

Met behulp van de eerstelijnscontrole moet een uitvoerende bepalen of de uitgevoerde werkzaamheden voldoen aan de gestelde eisen. Dit betekent dat op basis van resultaten van deze procescontrole, resultaten wel of niet worden vrijgegeven voor rapportage aan de opdrachtgever. Eerstelijnscontroles zoals die binnen andere vakgebieden worden gehanteerd - waarbij monsters met een bekende samenstelling routinematig worden geanalyseerd - ontbreken vrijwel geheel binnen de hydrobiologie. Wel is het onder bepaalde omstandigheden mogelijk om aan monsters een interne standaard toe te voegen in de vorm van een gemakkelijk herkenbaar taxon (dat niet in de te analyseren praktijkmonsters voorkomt), of gebruik te maken van kunstmatige partikels die in de juiste dichtheid teruggevonden dienen te worden. Aangezien voor de hydrobiologie slechts in zeer beperkte mate inhoud kan worden gegeven aan de eerstelijnscontrole, zal de uitvoering van een tweedelijnscontrole over het algemeen verplicht zijn.

6.3 Tweedelijscontrole

De tweedelijscontrole is een interne procescontrole die onafhankelijk van de uitvoerenden wordt georganiseerd. Waar relevant en mogelijk dient ook een toetsing te worden uitgevoerd waarbij grenzen vooraf worden vastgesteld en bewaakt. Daarbij valt te denken aan het volgende:

- Periodiek wordt door een onafhankelijk persoon referentiemateriaal (individuen of foto's) geselecteerd, waarna de taxa door de bevoegde uitvoerenden op naam worden gebracht. Per uitvoerende wordt de juistheid van de determinatie vastgesteld. Wanneer gebruik wordt gemaakt van individuen kan eventueel ook relevant matrixmateriaal aan het samengestelde monster worden toegevoegd. Voor de analyse van de macro-evertebraten is het ook mogelijk om ringonderzoekmonsters te gebruiken voor een dergelijke controle. Opgemerkt wordt dat op deze wijze veelal alleen deelaspecten van de analyse worden gecontroleerd en dat slechts zelden sprake is van een volledige procescontrole.
- Periodiek worden aan de hand van praktijkmonsters dublobepalingen uitgevoerd door de bevoegde uitvoerenden. Vervolgens wordt vastgesteld in hoeverre sprake is van overeenkomstige analyseresultaten op basis van vooraf gestelde criteria.

Bevindingen en acties die voorkomen uit tweedelijscontroles moeten op een zodanige wijze schriftelijk vastgelegd worden dat trends (prestaties in de tijd en leemtes in de aanwezige taxonomische kennis) worden opgemerkt. Indien maar één analist bevoegd is voor een bepaalde verrichting, kan de controle ook worden uitgevoerd in samenwerking met bevoegde medewerkers van andere hydrobiologische laboratoria.

6.4 Derdelijscontrole

De derdelijscontrole is een externe kwaliteitscontrole door middel van de deelname aan ringonderzoeken. Wanneer een derdelijscontrole niet georganiseerd wordt, is een extra tweedelijscontrole verplicht, die bij voorkeur wordt uitgevoerd in samenwerking met een extern laboratorium. Het laboratorium moet een (meerjaren)plan hebben voor deelname aan ringonderzoeken.

De derdelijscontrole is bedoeld als een directe toetsing van de eigen prestaties in vergelijking met die van andere laboratoria (onder andere het vaststellen van systematische afwijkingen). Bij de beoordeling van resultaten van ringonderzoeken is het van belang om niet alleen de afzonderlijke prestatie te beoordelen in relatie tot die van anderen, maar de resultaten ook zo vast te leggen dat trends (prestaties in de tijd en leemtes in de aanwezige taxonomische kennis) worden opgemerkt.

Voor hydrobiologische analyses is een beperkt aantal nationale en internationale ringonderzoeken beschikbaar. Bij de keuze voor een ringonderzoek moet niet alleen gelet worden op de accreditatie van de organiserende instantie, maar ook op de opzet van het ringonderzoek en de rapportage van de resultaten. Daarbij moet getoetst worden in hoeverre de resultaten relevant zijn voor de wijze waarop de eigen verrichting wordt uitgevoerd (in relatie tot de doelstelling).

In overeenstemming met RvA-T030 is het geoorloofd om in samenwerking met andere laboratoria bilaterale of multilaterale vergelijkingen te organiseren wanneer voor verrichtingen geen ringonderzoeken beschikbaar zijn die door een onafhankelijke en geaccrediteerde instantie worden georganiseerd.

7 Wijzigingen ten opzichte van voorgaande versie

Ten opzichte van versie 12 van maart 2014 zijn hoofdstuk 3 en naar aanleiding hiervan ook de voorbeeldscope in hoofdstuk 2 gewijzigd. De aanleiding voor deze wijziging is het gewijzigde beleid van de RvA met betrekking tot het vermelden van verwijzingen naar referentiemethoden in de scope van accreditatie (zie ook RvA-T001).

8 Literatuur

- Bijkerk R. (red.) (2010). Handboek Hydrobiologie. Biologisch onderzoek voor de ecologische beoordeling van Nederlandse zoete en brakke oppervlaktewateren. Rapport 2010-28, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Amersfoort.
- NEN 7777, Milieu en voedingsmiddelen - Prestatiekenmerken van meetmethoden
- NEN 7778, Milieu – Gelijkwaardigheid van meetmethoden
- NEN 7779, Milieu – Meetonzekerheid
- EN 14996, Water – Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu
- EN 15204, Kwaliteit van water – Richtlijn voor het tellen van fytoplankton met behulp van omgekeerde microscopie (Utermöhl-techniek)
- EN 16164, Water – Richtlijn voor het ontwerp en selectie van determinatiewerken
- EN ISO/IEC 17025, Algemene eisen voor de competentie van beproevings- en kalibratielaboratoria
- RvA-T001, Verwijzing naar referentiemethoden op scopes van testlaboratoria
- RvA-T021, Accreditatie van monsterneming
- RvA-T025, Scope van testlaboratoria
- RvA-T030, Interlaboratoriumvergelijkingen.