

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**  
**FACULTAT DE MEDICINA**

**ESTUDIO DE LA INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS  
RESULTADOS OBTENIDOS CON CIERTOS PROCEDIMIENTOS  
DE MEDIDA BIOQUÍMICO-CLÍNICOS**

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR BERNARDINO GONZÁLEZ DE LA PRESA  
PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

DIRIGIDA POR EL DOCTOR XAVIER FUENTES ARDERIU

**BARCELONA 2002**

A Alicia

Xavier Fuentes i Arderiu, Doctor en Farmàcia, Professor Associat Mèdic del Departament de Bioquímica i Biologia Molecular IV de la Universitat de Barcelona, Cap de Secció del Servei de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge, l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona,

CERTIFICA:

Que la Tesi Doctoral titulada ESTUDIO DE LA INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON CIERTOS PROCEDIMIENTOS DE MEDIDA BIOQUÍMICO-CLÍNICOS, de la què és autor Bernardino González de la Presa, s'ha realitzat sota la meva direcció en el Servei de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge per optar al grau de Doctor en Biologia, y que es troba en condicions de ser defensada davant el tribunal corresponent.

L'Hospitalet de Llobregat, 18 de setembre de 2002

Dr. Xavier Fuentes i Arderiu

Francesca Canalías Reverter Profesora asociada del Departamento de Bioquímica y Biología molecular de la Universitat Autònoma de Barcelona

Hace constar

Que la tesis doctoral titulada ESTUDIO DE LA INCERTIDUMBRE ASOCIADA A LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON CIERTOS PROCEDIMIENTOS DE MEDIDA BIOQUÍMICO-CLÍNICOS presentada por Bernardino González de la Presa en el Servei de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitaria de Bellvitge, bajo la dirección del Doctor Xavier Fuentes Arderiu y tutorizada por mí, reúne las condiciones necesarias para ser defendida ante el tribunal nombrado al efecto.

L'Hospitalet de Llobregat, 18 de septiembre de 2002

Dra. Francesca Canalías Reverter

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas e instituciones que han hecho posible la realización de este trabajo.

Al Doctor Xavier Fuentes Arderiu, director de esta tesis, por la ayuda inestimable, perseverancia y paciencia que ha demostrado durante la realización de esta tesis.

A los participantes voluntarios que de forma desinteresada han hecho posible este trabajo.

A mis amigos y compañeros Moisés Labrador Horrillo y José Miguel Martínez Cervera, por toda la ayuda que me han prestado siempre que se lo he solicitado.

A todo el personal del Servei de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge que han colaborado de manera directa o indirecta en esta trabajo, en especial al Doctor Antonio Torralba y a las Doctoras Maria José Castiñeiras, Carmen Ferrè y Montserrat Vives por las facilidades que me ofrecieron para la utilización de las instalaciones de la sección de Bioquímica I, y a Joaquín Alcoba y Fina por la paciencia que mostraron ante las interferencias que pude provocar en su trabajo.

A mi familia, y especialmente a mi padre, por la fe y apoyo que me han demostrado durante todo este tiempo.

La realización de esta tesis ha sido financiada con la beca 98/0479 del Fondo de Investigación Sanitaria del Ministerio de Sanidad y consumo.

<b>1.Introducción</b> .....	Pag 1
1.1. Variabilidad de las magnitudes biológicas e incertidumbre de los resultados.....	Pag 1
1.2.Variabilidad de las magnitudes biológicas.....	Pag 3
1.2.1.Variabilidad biológica.....	Pag 3
1.2.1.1.Variabilidad fisiológica.....	Pag 3
1.2.1.1.1.Variabilidad biológica intraindividual.....	Pag 4
1.2.1.1.2. Variabilidad biológica interindividual.....	Pag 5
1.2.1.2. Variabilidad patológica.....	Pag 5
1.2.2. Variabilidad yatrogénica.....	Pag 6
1.2.3. Variabilidad metrológica.....	Pag 6
1.2.3.1. Variabilidad premetrológica.....	Pag 6
1.2.3.2. Variabilidad posmetrológica.....	Pag 8
1.2.3.3. Variabilidad metrológica.....	Pag 8
1.3. Error de medida.....	Pag 9
1.3.1. Error aleatorio.....	Pag 10
1.3.1.1. Precisión e imprecisión, repetibilidad y reproducibilidad.....	Pag 11
1.3.2. Error sistemático.....	Pag 14
1.3.2.1. Veracidad y exactitud.....	Pag 15
1.3.3. Error espurio.....	Pag 16
1.4. Incertidumbre.....	Pag 16
1.4.1. Definición de la incertidumbre.....	Pag 16
1.4.2. Evaluación de la incertidumbre.....	Pag 18
1.4.2.1. Especificación de la magnitud.....	Pag 19
1.4.2.2. Identificación de las fuentes de incertidumbre.....	Pag 22
1.4.2.3. Cuantificación de la incertidumbre.....	Pag 26
1.4.2.3.1.Evaluación de tipo A.....	Pag 27
1.4.2.3.2. Evaluación de tipo B.....	Pag 29
1.4.2.4. Cálculo de la incertidumbre combinada. ....	Pag 33
1.4.3.Informe de la incertidumbre.....	Pag 37
1.4.4. Expresión numérica de los resultados.....	Pag 39
<b>2. Objetivos</b> .....	Pag 40

**3. Material y métodos**.....Pag 41

3.1 Especificación de las magnitudes objeto de estudio y materiales usados para su medición.....Pag 41

3.1.1.Especificación de las magnitudes objeto de medición.....Pag 41

3.1.2. Materiales utilizados.....Pag 44

3.1.2.1. Materiales de control y calibración..... Pag 44

3.1.2.2. Analizadores utilizados.....Pag 46

3.1.2.3. Procedimientos de medida utilizados.....Pag 47

3.2. Identificación de los componentes de incertidumbre.....Pag 54

3.3. Cuantificación de los diversos componentes de incertidumbre.....Pag 56

3.3.1. Incertidumbre asociada a la fase premetrológica.....Pag 57

3.3.2. Incertidumbre asociada a la fase metrológica.....Pag 59

3.3.3. Incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores.....Pag 67

3.3.4. Incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes.....Pag 70

3.3.5.Cálculo de la incertidumbre típica combinada y de la incertidumbre expandida..... Pag 71

**4. Resultados**..... Pag

73

4.1. Resultados de los componentes individuales de la incertidumbre evaluados.....Pag 73

4.1.1. Resultados de la incertidumbre debida a la variabilidad premetrológica.....Pag 73

4.1.2. Resultados de la incertidumbre producida por la variabilidad metrológica.....Pag 75

4.1.3. Resultados de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores.....Pag 107

4.1.4. Resultados de la incertidumbre asociada al efecto de las magnitudes influyentes.....Pag 107

4.2. Resultados de la incertidumbre típica combinada..... Pag 112

4.3. Informe de los resultados de la incertidumbre típica combinada y de la incertidumbre expandida..... Pag

114	
4.3.1. Informe de la incertidumbre típica combinada.....	Pag
114	
4.3.2. Informe de la incertidumbre típica expandida .....	Pag
114	
<b><u>5.Discusión</u></b> .....	Pag 116
5.1. Incertidumbre premetrológica.....	Pag
122	
5.2.Incertidumbre metrológica.....	Pag 126
5.3.Incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes.....	Pag 129
5.4.Otros componentes de incertidumbre no estudiados.....	Pag 131
5.4.1. Estabilidad de las magnitudes.....	Pag 131
5.4.2.Valoración de los calibradores.....	Pag131
5.4.3.Variabilidad biológica intraindividual.....	Pag133
5.5.Dificultades que plantea el cálculo de la incertidumbre y soluciones a algunos de los problemas planteados.....	Pag 135
<b><u>6.Conclusiones</u></b> .....	Pag 139
<b><u>7.Referencias</u></b> .....	Pag
141	

## **1.Introducción**

### 1.1. Variabilidad de las magnitudes biológicas e incertidumbre de los resultados

La misión fundamental de las ciencias de laboratorio clínico es proporcionar información que contribuya a la prevención, detección precoz, diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las enfermedades. Esta información proviene de los resultados de la medición de magnitudes biológicas con interés clínico.

Para conseguir este fin es necesario, además, contar con la información de una serie de elementos que permitan la correcta interpretación de los resultados, como pueden ser los valores de referencia, la descripción del procedimiento de medida utilizado o una información sobre la incertidumbre asociada a los resultados. Cuando los resultados de las mediciones se usan para la toma de decisiones clínicas es importante que junto a estos se informe de la incertidumbre con la que han sido obtenidos.

La incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de una medición que refleja la falta de conocimiento del valor verdadero del mensurando (1,2). Los organismos científicos y de normalización recomiendan que se conozca la incertidumbre de los resultados de los pacientes obtenidos en los laboratorios clínicos (3-5).

Tradicionalmente se ha considerado que el resultado de una medición se puede desglosar en un valor verdadero del mensurando y en un cierto número de contribuciones positivas y negativas denominadas errores. Algunas veces estos errores son de pequeña importancia en relación al valor verdadero pero en otras muchas ocasiones no ocurre así. Por tanto, desde este punto de vista, el concepto de la incertidumbre de un resultado se podría establecer en función del error ya que son los errores los causantes de la incertidumbre. Algunos de estos errores son de origen sistemático y pueden ser conocidos y corregidos,

mientras que otros son desconocidos y, ya sean de origen sistemático o aleatorio, no es posible corregirlos.

Una aproximación más actual al análisis de la incertidumbre consiste en la descripción de la incertidumbre de un resultado en función de sus principales componentes. Estos pueden ser independientes o estar correlacionados y ser estimados mediante procedimientos basados en repeticiones de mediciones o basados en la información disponible sobre el procedimiento, pero todos son informados en forma de desviaciones típicas, o derivados de ella, que son sumadas cuadráticamente para obtener la incertidumbre final del resultado (2).

El conocimiento de todos los factores que, además de la enfermedad, pueden causar variación en un resultado es necesario para la estimación de la incertidumbre y fundamental para la correcta interpretación del mismo. Los resultados de la medición de cualquier magnitud observados en individuos diferentes son generalmente distintos, así mismo para un individuo no es frecuente observar los mismos resultados en diferentes momentos de su vida. Por otro lado, si se realizan mediciones repetidas en una misma muestra los resultados obtenidos tampoco suelen ser los mismos. El resultado de una medición es simplemente uno de los posibles entre un número infinito de ellos. Todas estas observaciones son debidas a la existencia del fenómeno de la variabilidad. La variabilidad está originada por factores de muy diverso origen que en principio pueden dividirse en aquellos que están relacionados con el proceso de medida, que incluye a los factores premetroológicos, metroológicos y posmetroológicos, y los biológicos que afectan al individuo, que a su vez pueden dividirse en los relacionados con la enfermedad y los fisiológicos (6).

La identificación de los componentes de variabilidad y la estimación de su valor son los objetivos primordiales de la metrología y su conocimiento es necesario para estimar la incertidumbre asociada a los resultados de medida y para la correcta interpretación de los mismos. La incertidumbre que afecta a un resultado de laboratorio clínico es la incertidumbre típica combinada obtenida

a partir de la adecuada combinación de las variancias de las diferentes fuentes de incertidumbre producidas por los diversos componentes de variabilidad que afectan al procedimiento de medida (2, 7).

## 1.2. Variabilidad de las magnitudes biológicas

### 1.2.1. Variabilidad biológica

Bajo este término se incluye a la variabilidad que está producida por factores de tipo fisiológico y patológico. Cuando estas variaciones están producidas por causas de tipo fisiológico se denomina variabilidad fisiológica, o simplemente biológica, mientras que cuando está producida por enfermedades la variabilidad se denomina patológica.

#### 1.2.1.1. Variabilidad fisiológica

Los principales factores que influyen en la variabilidad fisiológica son los de tipo metabólico, genético y ambiental (8-10). La variabilidad fisiológica se puede dividir a su vez en variabilidad fisiológica intraindividual y variabilidad fisiológica interindividual. La variabilidad fisiológica intraindividual es la responsable de las diferencias que se producen en los valores de una magnitud en un mismo individuo a lo largo del tiempo, mientras que la variabilidad fisiológica interindividual es la causante de las diferencias que se producen en los valores de una magnitud entre diferentes individuos de una población. Existen factores que afectan a la variabilidad intraindividual, otros a la interindividual y algunos a ambas. De manera que los factores de variación intraindividual son difíciles de aislar completamente de los de variación interindividual (8, 9). Algunos de estos factores, como la edad, el sexo o la raza, son inherentes al individuo y le afectan de manera permanente, mientras que otros factores sólo actúan en determinados momentos como pueden ser los

factores emocionales o climáticos.

#### 1.2.1.1.1.Variabilidad fisiológica intraindividual

Es la causante de las variaciones que se producen en un mismo individuo a lo largo del tiempo. Estas variaciones se pueden producir tanto a largo como a corto plazo. Los factores que la producen son de muy diverso origen siendo los más importantes (11):

- el ejercicio físico,
- la alimentación y sus variaciones,
- los cambios emocionales,
- los cambios climáticos,
- los ritmos biológicos,
- el crecimiento y envejecimiento,
- la regulación homeostática de las magnitudes.

Estas variaciones pueden ser de tipo aleatorio o sistemático. Hay, fundamentalmente, dos tipos de factores que producen variaciones aleatorias: por un lado los factores producidos durante el periodo de preparación del paciente, como la alimentación o el ejercicio físico y por otro los factores relacionados con la regulación homeostática (11). Existen magnitudes que tienen una regulación homeostática muy fina cuyos valores varían muy poco dentro del mismo individuo, mientras que otras pueden sufrir grandes cambios en sus valores sin que esto afecte de manera especial al organismo.

Las variaciones de tipo sistemático están causadas por factores que producen variaciones a largo plazo como la edad y los ritmos biológicos. Los ritmos biológicos son producidos por una serie de factores que afectan de distinta manera al individuo dependiendo del momento en que se obtiene la muestra dando lugar a cambios cíclicos en las concentraciones de ciertos componentes a lo largo del tiempo (12, 13). Los ritmos más interesantes de conocer y de

caracterizar desde el punto de vista clínico son los ritmos circadianos, mensuales y los anuales. La principal aplicación de la caracterización de los ritmos es evitar los posibles errores diagnósticos que se cometen cuando se usan intervalos de referencia obtenidos en una hora o época distinta a aquella en la que se ha obtenido la muestra, también permite elegir entre varias magnitudes de parecido valor semiológico aquella que posea menor variabilidad intraindividual.

#### 1.2.1.1.2. Variabilidad fisiológica interindividual

Es la causante de que los valores de una magnitud sean diferentes entre los individuos de una población. Esta variabilidad depende de las características de los individuos que conforman la población y en su existencia se basan los valores de referencia poblacionales cuyo objetivo es reflejar las diferencias que hay entre los distintos individuos de una población (8, 9, 14, 15).

#### 1.2.1.2. Variabilidad patológica

Las variaciones patológicas son aquellas que se producen en un individuo como consecuencia de una enfermedad. Son los cambios producidos en un individuo como consecuencia de esta variabilidad los que se quieren detectar, una vez excluidas otras causas de variabilidad, cuando se mide una magnitud biológica. Los factores patológicos que pueden producir cambios en la concentración de un componente son muy diversos y así los cambios pueden producirse por una alteración en la síntesis de dicho componente, una alteración en su capacidad de excreción, un cambio de la permeabilidad de la membrana de las células de algún tipo de tejido, etc. Estos factores producen cambios de diverso tipo en la concentración de los componentes biológicos (16, 17, 18). Estas alteraciones son las responsables de síntomas o signos clínicos mientras que otras no tienen ningún efecto clínico y son sólo un reflejo de la

enfermedad.

### 1.2.2. Variabilidad yatrogénica

La variabilidad yatrogénica es aquella que está causada por fármacos o por intervenciones realizadas con fines terapéuticos o diagnósticos. Las variaciones producidas por los fármacos pueden ser de dos tipos:

- las producidas por el efecto directo sobre la concentración de un componente determinado,
- las producidas debido a un efecto interferente durante el proceso de medida .

Los efectos producidos por los fármacos son muy diversos y dependen entre otros factores de la dosis del medicamento, la duración del tratamiento y la edad del individuo (11).

### 1.2.3. Variabilidad metrológica

La variabilidad metrológica incluye la que se produce durante la etapa premetrológica del proceso de medida, la metrológica propiamente dicha y la posmetrológica.

#### 1.2.3.1. Variabilidad premetrológica

La fase premetrológica del proceso de medida empieza cuando la muestra es obtenida y acaba cuando la muestra es introducida dentro del sistema de medida. Está reconocido que esta fase puede ser una fuente potencial de variación en los resultados de medida de las muestras de los pacientes (19-21). La variabilidad premetrológica es aquella que se produce en esta fase durante los procesos de obtención, manipulación, transporte y conservación de las

nuestras. Existen muchos factores que pueden ser origen de esta variabilidad y entre ellos destacan los que se describen a continuación:

1. Factores que se producen antes de la obtención de la muestra, durante el proceso de preparación del paciente y que se pueden incluir también entre los que causan la variabilidad biológica intraindividual:

a- La comida y la bebida que son factores que afectan de diversa manera y pueden ser producidos por una comida o bebida reciente, por hábitos alimentarios de larga duración o por alimentos que contengan el componente objeto de la medición.

b- La ingesta de determinados fármacos.

c- El ejercicio cuyos efectos dependen de la cantidad y tipo de ejercicio realizado y del hábito del individuo a realizarlo.

2. Factores que se producen durante la toma de la muestra:

a- La posición del paciente durante la toma de la muestra. Cuando un individuo pasa de una posición de tumbado a erguido parte del agua del cuerpo pasa del comportamiento vascular al intersticial, mientras que la mayoría de los componentes del plasma no hacen este intercambio, reflejándose este fenómeno en una variación en las concentraciones de dichos componentes entre las muestras tomadas en las distintas posiciones.

b- El lugar anatómico de la toma de muestra, por ejemplo la toma en brazos distintos.

c- La estasis sanguínea producida por el torniquete.

d- El tipo de recipiente y aditivos (anticoagulantes, conservantes, etc.) usados con la muestra.

e- La persona flebotomista que realiza la extracción.

3. Factores que se producen durante la manipulación y conservación de la muestra:

a- El tiempo de contacto entre las células y el plasma o entre el coágulo y el suero.

b- La temperatura y tiempo de transporte o conservación.

c- La exposición de la muestra a la luz directa o al aire.

La variabilidad producida por los factores de origen premetroológico depende de la magnitud en cuestión, pudiendo en algunos casos ser muy elevada si no se adoptan las precauciones adecuadas. Por esta razón la influencia de los factores premetroológicos debe siempre minimizarse con una adecuada normalización de toda la fase premetroológica (22, 23), es decir de la fase de preparación del paciente y de las condiciones de la toma, manipulación y conservación de la muestra.

#### 1.2.3.2. Variabilidad posmetroológica

Es aquella que se produce después del proceso de medida de la magnitud, es decir desde la obtención del resultado hasta su recepción por el solicitante. El origen principal de esta variabilidad son los errores que se producen durante las transcripciones manuales de los resultados entre documentos hasta llegar al informe final. Estos errores se pueden eliminar fácilmente mediante la adecuada informatización del laboratorio.

#### 1.2.3.3. Variabilidad metroológica

La variabilidad metroológica es aquella que se produce durante el proceso de medida de las magnitudes y es debida a la existencia de imperfecciones en los sistemas de medida. Es la responsable de que cuando se mide repetidamente una magnitud en una misma muestra, incluso dentro de una misma serie metroológica, se produzca una distribución de resultados, que probablemente difieren de aquel considerado como verdadero.

Esta variabilidad juntamente a la que se puede producir en las otras fases hace que los resultados de las mediciones sean tan sólo una aproximación del valor

del mensurando. Por esta razón diversos organismos internacionales de normalización recomiendan que todo resultado de una medición debe ir acompañado de alguna indicación cuantitativa que informe de la calidad metrológica con la que se ha obtenido. Esta información es la incertidumbre asociada a un resultado (2).

### 1.3. Error de medida

Siempre que se realiza una medición aislada de una magnitud el resultado obtenido está afectado por el error de medida. El resultado aislado de una medición individual,  $x$ , es igual a:

$$x = \mu + e$$

donde  $\mu$  es el valor verdadero del mensurando y  $e$  el error de medida. El valor verdadero de una magnitud es aquél perfectamente coherente con la definición de una magnitud específica particular (1). Debido a que, como ya se verá más adelante, es imposible definir completamente el mensurando no existe un único valor verdadero sino un conjunto de valores verdaderos que se ajustan todos a esta incompleta definición del mensurando. Por tanto el valor verdadero es un concepto útil desde el punto de vista teórico pero en la práctica se reemplaza por otros valores como el valor convencionalmente verdadero, y que es aquel valor atribuible a una magnitud específica y que es aceptado, a veces por convención, como poseedor de una incertidumbre apropiada para un determinado propósito (1).

De la ecuación anterior se obtiene se obtiene la siguiente:

$$e = x - \mu$$

es decir que el error de medida es igual al resultado de una medición menos el

valor verdadero del mensurando (1, 24).

Si en el cálculo del error se utiliza un valor convencionalmente verdadero lo que así se calcula es una estimación del error y por esto las modernas aproximaciones de la metrología desaconsejan el uso en la práctica del concepto de error en la descripción de la variabilidad de un resultado, aunque su uso siga teniendo validez en el campo de la discusión teórica (24). El error relativo es el error de medida dividido por el valor verdadero del mensurando (1).

El error de medida puede desglosarse a su vez en dos componentes fundamentales: el error aleatorio  $e_a$  y el error sistemático  $e_s$  según que las variaciones que lo produzcan sean aleatorias o sistemáticas:

$$e = e_a + e_s$$

El error sistemático se caracteriza en que al realizar mediciones repetidas permanece constante o varía de forma previsible mientras que el error aleatorio varía de forma imprevisible de resultado en resultado.

En principio, cuando se estima la incertidumbre del resultado de una medición, éste debería estar corregido de todas las fuentes de error sistemático conocidas (2), mientras que el componente aleatorio del error es por definición variable e incognoscible de una medición a otra.

### 1.3.1. Error aleatorio

El error aleatorio es la diferencia entre el resultado de una medición y la media de un gran número de mediciones repetidas del mismo mensurando (1) realizadas en unas condiciones de medida determinadas. En la práctica se asume que es suficiente que  $n$ , el número de mediciones, sea  $\geq 20$  (25).

El error aleatorio procede de las variaciones imprevisibles que se producen durante el proceso de medida. Como efecto de tales variaciones al efectuar mediciones repetidas de una magnitud en una misma muestra se obtienen resultados diferentes entre sí. La distribución de estos resultados, si sólo están afectados por errores aleatorios, sigue una distribución de Laplace-Gauss (distribución normal).

#### 1.3.1.1. Precisión e imprecisión, repetibilidad y reproducibilidad

Se denomina precisión a la concordancia entre los resultados de medida obtenidos en una misma muestra cuando las mediciones se realizan en unas condiciones determinadas. La precisión depende exclusivamente de la dispersión del error aleatorio y varía inversamente a éste. La precisión es una propiedad cualitativa y no tiene valor numérico por lo que la variabilidad metrológica debido a fluctuaciones aleatorias se cuantifica mediante otro concepto distinto: la imprecisión.

La imprecisión es la desviación típica metrológica,  $s$ , o el coeficiente de variación metrológico,  $CV$ , de los resultados de un conjunto de mediciones repetidas de una magnitud en una misma muestra (26-28):

$$s = \sqrt{\sum(x-x)^2 / n-1}$$

$$CV = s / x$$

donde  $x$  es el resultado de una medición,  $\bar{x}$  la media de un conjunto de mediciones y  $n$  el número de mediciones a partir de las cuales se calcula la desviación típica. La variancia es el cuadrado de la desviación típica. Cuanto mayor sea la dispersión de los resultados obtenidos mayor será la imprecisión del procedimiento de medida. Dependiendo de la forma en la que se realizan las mediciones la imprecisión puede ser intraserial, interserial, interdiaria o entre

laboratorios. La imprecisión intraserial es la imprecisión observada en un laboratorio a partir de los resultados obtenidos en una misma serie de medida, mientras que la intraserial es la que se observa al medir una vez al día, durante varios días, una magnitud bioquímica en una misma muestra.

La desviación típica intraserial se puede estimar también a partir de las diferencias observadas entre los resultados de  $n$  muestras medidas por duplicado en la misma serie, pudiendo las diferentes muestras medirse en series diferentes (29). El cálculo es el siguiente:

$$s = (\sum d_i^2)^{0,5} / 2n$$

donde  $d_i$  es cada una de las diferencia observadas entre duplicados y  $n$  es el número de muestras utilizadas.

La imprecisión es una característica inherente a los procedimientos de medida ya que todo resultado obtenido con un procedimiento de medida está afectado por el error aleatorio. El error aleatorio varía de forma imprevisible de resultado en resultado y por tanto no puede ser corregido en un resultado individual, sin embargo si que puede ser reducido por ejemplo usando la media de varias mediciones para el cálculo de un resultado. Mediante este sistema la desviación típica del procedimiento modificado sería:

$$s' = s / n^{1/2}$$

donde  $s$  es la desviación típica del procedimiento cuando se realiza una sola medición para obtener el resultado y  $s'$  es la desviación típica del procedimiento cuando se realizan  $n$  mediciones para el cálculo de un resultado.

La imprecisión también se puede disminuir mediante una cuidadosa realización de todos los pasos que constituyen el procedimiento de medida o mediante el uso de procedimientos de medida automatizados.

Cuando la desviación típica que caracteriza la imprecisión de un procedimiento es constante para cualquier valor del mensurando se dice que un procedimiento tiene un comportamiento homocedástico mientras que cuando cambia dependiendo del valor del mensurando se dice que tiene un comportamiento heterocedástico (30-32). Un caso particular de comportamiento heterocedástico, y de particular interés para los fines de este trabajo, se produce cuando el coeficiente de variación es constante para cualquier valor del mensurando.

Los organismos internacionales de normalización recomiendan (26) que para la evaluación de las características metrológicas de los sistemas de medida se usen otros conceptos metrológicos diferentes a la imprecisión como son el de repetibilidad y reproducibilidad.

La repetibilidad es la concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando efectuadas en las mismas condiciones de medida denominadas condiciones de repetibilidad (1, 26, 27). Condiciones de repetibilidad son aquellas que se producen cuando en las distintas mediciones se utiliza el mismo procedimiento de medida, el mismo observador, el mismo instrumento de medida utilizado en las mismas condiciones, el mismo lugar y una repetición de las mediciones a lo largo de un corto período de tiempo, es decir las condiciones de repetibilidad vienen a ser aquellas que se producen dentro de una serie de mediciones. Se considera una serie metrológica al conjunto de mediciones realizadas con un mismo sistema de medida entre dos momentos previamente delimitados. La repetibilidad se expresa cuantitativamente mediante la desviación típica metrológica o el coeficiente de variación metrológico que en este caso se denominan desviación típica de repetibilidad y coeficiente de variación de repetibilidad (26, 27).

La reproducibilidad es la concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando realizadas haciendo variar las condiciones de medida

(1, 26, 27). Las condiciones que se pueden variar son: el principio o método de medida, el observador, el instrumento de medida, el lugar, las condiciones de uso y el tiempo. El concepto definido por este término viene a ser el equivalente al de precisión entre laboratorios. La reproducibilidad se expresa cuantitativamente mediante la desviación típica metrológica o el coeficiente de variación metrológico denominados en este caso desviación típica de reproducibilidad o coeficiente de variación de reproducibilidad.

La imprecisión en condiciones intermedias es aquella que se refiere a la calculada cuando se producen cambios en alguno de las condiciones de medida del procedimiento (33). En general existen cuatro factores dentro de las condiciones de medida de un laboratorio que se consideran que son la principal contribución a la variabilidad de las mediciones. Estos cuatro factores son: tiempo, calibración, operador y equipamiento. La imprecisión en condiciones intermedias hace referencia a aquella imprecisión en la que se han cambiado uno o más de los factores mencionados (33). La calibración usada en este contexto no se refiere a aquella que es requerida como una parte integrante del procedimiento para obtener los resultados, sino que se refiere a aquel proceso de calibración que se produce a intervalos regulares de tiempo entre grupos de mediciones dentro de un laboratorio.

A menudo es necesario comparar la repetibilidad de dos o más procedimientos o comparar la repetibilidad obtenida en distintas muestras. Otras veces es necesario comparar las variancias experimentales obtenidas a diversos valores del mensurando para decidir si un procedimiento se comporta heterocedásticamente o no. Para ello se suele recurrirse a una comparación de sus variancias experimentales. Para la comparación de dos variancias experimentales se puede recurrir a la prueba  $F$  de Snedecor (34).

### 1.3.2. Error sistemático

El error sistemático,  $e_s$ , es la diferencia entre la media,  $x$ , que se obtendría de un gran número de mediciones del mismo mensurando realizadas en condiciones de repetibilidad y su valor verdadero,  $\mu$  (1):

$$e_s = x - \mu$$

En la práctica se asume que el número de mediciones sea  $n \geq 20$  (25). Si esta diferencia se divide por el valor verdadero se obtiene el error sistemático relativo. La imposibilidad de conocer el valor verdadero hace que el error sistemático de un procedimiento solamente pueda ser estimado.

El error sistemático permanece constante o varía de forma predecible de medición en medición, es independiente del número de mediciones realizadas y no puede por tanto ser reducido incrementando el número de mediciones. El error sistemático puede ser constante, es decir ser independiente del valor del mensurando, o puede variar con el valor del mismo. Desde este punto de vista el error sistemático puede ser de tipo constante, proporcional o mixto (11). En el caso de que la cuantía del error sea la misma para todos los valores del mensurando se denomina error sistemático de tipo constante, si la cuantía del error varía en función del valor del mensurando se dice que el error sistemático es de tipo proporcional, y se dice que un error sistemático es de tipo mixto cuando está constituido al mismo tiempo por errores de tipo constante y proporcional.

#### 1.3.2.1. Veracidad y exactitud

La concordancia entre la media de un amplio número de mediciones de una magnitud y su valor verdadero se denomina veracidad de medida (26, 35). La veracidad es una propiedad metrológica cualitativa que no tiene valor numérico; se cuantifica mediante el error sistemático, que varía inversamente a éste.

La exactitud de un resultado es la concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando. Por tanto la exactitud depende de una combinación de los errores sistemáticos y aleatorios.

### 1.3.3. Error espurio

Otro tipo de error, que puede considerarse como un caso extremo de error aleatorio, es el error espurio. Este error, que da lugar a un valor aberrante, generalmente procede de fallos humanos o de un mal funcionamiento de los instrumentos de medida. Un error de este tipo invalida el resultado de la medición, no obstante en algunos casos en los que el origen del error es un fallo humano, como la equivocación de un dígito, los resultados pueden ser fácilmente corregidos. El error espurio no es siempre obvio y si en un proceso de estimación de la incertidumbre se dispone de un número de repeticiones de las mediciones suficientemente grande se debería aplicar una prueba estadística para la detección de valores aberrantes y comprobar la posible presencia de estos en el conjunto de datos. Cuando se estima la incertidumbre asociada a un resultado de medida se debe evitar la presencia de este tipo de error.

## 1.4. Incertidumbre

### 1.4.1. Definición de la incertidumbre

Los organismos internacionales de normalización recomiendan que todo resultado de una medición debe ir acompañado de alguna indicación cuantitativa que informe de la calidad metrológica con que se ha obtenido y que permita evaluar la fiabilidad de este resultado ya que de hecho sin esta información los resultados de las mediciones no estarán completos (2-5). Esta

información cuantitativa sobre un resultado de una medición es la incertidumbre de medida de dicho resultado.

El término incertidumbre utilizado en el lenguaje común (36) significa falta de conocimiento seguro y claro de algo, mientras que en el campo de la metrología incertidumbre de medida significa duda acerca de la validez del resultado de una medición así como duda sobre la exactitud del resultado.

La incertidumbre, según la definición del *Vocabulario Internacional de términos básicos y generales en metrología* (1), es un parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden atribuirse a una magnitud particular. Esta dispersión no tiene por que ser una distribución observada de valores. El parámetro estadístico que caracteriza esta dispersión puede ser la desviación típica, un múltiplo de ella o la amplitud de un intervalo de confianza.

La *Guía para la expresión de la incertidumbre en las mediciones* (2) publicada por la ISO y otras organizaciones internacionales de normalización ha establecido unas reglas generales para la evaluación de la incertidumbre y la combinación de los distintos elementos que conforman la incertidumbre que afecta a un resultado.

Cuando se expresa como desviación típica la incertidumbre se denomina incertidumbre típica y se simboliza como  $u$  (2). Cuando la incertidumbre típica se divide por el resultado de la medición se denomina incertidumbre típica relativa, que se simbolizada como  $u_{rel}$  (2) y se expresa como un coeficiente de variación.

La incertidumbre total de un resultado de una medición, denominada incertidumbre típica combinada  $u_c$ , es una desviación típica estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la variancia total obtenida sumando todos los componentes de variancias y covariancias, independientemente de la forma en

que se hayan evaluado, usando la ley de propagación de la incertidumbre (2).

#### 1.4.2. Evaluación de la incertidumbre

La *Guía para la expresión de la incertidumbre en las mediciones* (2) establece que el procedimiento para la evaluar la incertidumbre de los resultados de medida consiste fundamentalmente en cuatro puntos:

1-Especificación de la magnitud. —Se debe definir y escribir claramente cual es la magnitud objeto de medición. En el campo de las ciencias de laboratorio clínico la magnitud objeto de medición suele ser generalmente la concentración de un componente en una muestra biológica.

2-Identificación de los componentes de incertidumbre. —Se debe identificar en cada magnitud aquellas magnitudes y parámetros de los que depende y sus incertidumbres asociadas o bien en los casos en que esto no sea posible cada una de las partes en que se ha dividido el procedimiento de medida y su incertidumbre asociada.

3-Cuantificación de los componentes de incertidumbre.—Medir o estimar el valor de la incertidumbre asociada a cada uno de los componentes de incertidumbre identificados.

4-Cálculo de la incertidumbre total. —A partir de los valores de los diversos componentes individuales de incertidumbre estimados se calcula la incertidumbre típica combinada de acuerdo con reglas apropiadas y mediante la aplicación de un factor de cobertura determinado se obtiene la incertidumbre combinada expandida.

El concepto de incertidumbre de medida sólo es aplicable a resultados de medida sin error sistemático o a resultados de medida corregidos (2). En

principio los efectos reconocidos de error sistemático deberían ser corregidos en el resultado final de una medición y no se tendrán en cuenta en la evaluación de la incertidumbre asociada al resultado de una medición.

En las ciencias de laboratorio clínico el error sistemático se debe estimar respecto al valor asignado al material de referencia al que son trazables los resultados. Si el valor del material de referencia tiene trazabilidad a una unidad del sistema internacional (SI), la incertidumbre de medida del resultado hace referencia a una estimación del valor verdadero, si no hace referencia a un valor convencionalmente verdadero, que en el caso de que no existan materiales de referencia puede ser el valor del calibrador del equipo de reactivos.

Una vez evaluada la incertidumbre para un procedimiento determinado en un laboratorio en particular y en un intervalo de concentración determinado, la incertidumbre estimada puede ser aplicada para los resultados obtenidos posteriormente con el mismo procedimiento y en el mismo laboratorio siempre que el procedimiento esté bajo control, de manera que no es necesario la realización de un esfuerzo adicional a menos que se produzca algún cambio significativo en el procedimiento en uso. En este caso sería necesario reevaluar la incertidumbre.

#### 1.4.2.1. Especificación de la magnitud

El primer paso en la evaluación de la incertidumbre es especificar claramente que magnitud se está midiendo y cual es el procedimiento utilizado para su medición. El objetivo de toda medición es obtener el valor de un mensurando, es decir el valor de una magnitud particular que es objeto de medición. Una magnitud biológica se define (3) como una propiedad cuantitativa de un componente en un sistema biológico específico. Generalmente en las ciencias de laboratorio clínico la magnitud medida es la concentración de algún componente biológico en un líquido biológico.

El resultado de una medición depende de que se está midiendo y de como se mide, de manera que toda estimación de la incertidumbre debe comenzar con una adecuada definición del mensurando y del procedimiento de medida.

Por tanto el primer paso es especificar cual es el mensurando. El mensurando no puede ser especificado por un valor sino solamente mediante la descripción de la magnitud. Para describir una magnitud biológica es necesario distinguir cual es el componente del cual se mide algún tipo de magnitud y el sistema en que se halla dicho componente (37, 38). Es necesario tener en cuenta que, excepto las constantes fundamentales de la naturaleza como la carga de un electrón, un mensurando no puede ser descrito completamente sino con una cantidad infinita de información y generalmente no se puede tener en cuenta todos los detalles que conforman el sistema, el componente y el tipo de magnitud. De esta manera a la hora de interpretar el resultado de una medición se debe valorar que lo que se mide realmente puede que no coincida necesariamente con la definición de la magnitud y que las mediciones corresponden en realidad a una magnitud que únicamente se aproxima a la definición del mensurando. Una incompleta definición de una magnitud puede en determinados casos aumentar la incertidumbre de tal manera que sea necesario incluir su análisis a la hora de evaluar la incertidumbre asociada a un resultado.

El objetivo principal de este paso es definir cual es la expresión que relaciona la magnitud que se está midiendo con aquellas magnitudes de las que depende (2). La mayoría de los resultados de las mediciones obtenidos en magnitudes relacionadas con las ciencias de laboratorio clínico son el producto final de un procedimiento que puede incluir la medición de otras magnitudes intermedias (mediciones de volúmenes, absorbancias de los blancos, absorbancias en las mezclas de muestra y reactivos, magnitudes que son cocientes de otras magnitudes, etc.) y otras constantes. Se debe por tanto establecer claramente, siempre que sea posible, las relaciones entre el mensurando final y estas otras magnitudes. Así mismo, el resultado de una medición puede estar influenciado

por magnitudes que no deberían ser medidas por el procedimiento de medida, son las denominadas magnitudes influyentes, y que se deben tener en cuenta. La experiencia del evaluador y la información que se encuentra a su disposición es fundamental para conocer cuales de estas magnitudes influyentes son importantes en cada caso y para decidir si es necesario incluir o no su estudio en la evaluación de la incertidumbre.

De esta manera, el punto de partida de un proceso de evaluación de la incertidumbre es la expresión de la función que relacione estas magnitudes intermedias con la magnitud que se está midiendo. Esta función,  $f$ , puede adoptar una forma general del siguiente tipo:

$$y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)$$

donde  $y$  es la magnitud objeto de medición y  $(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)$  las distintas magnitudes intermedias de las que depende. A su vez estas magnitudes intermedias pueden depender de otras, de manera que estas mismas pueden ser también expresadas por una función de este tipo. Las relaciones entre estas magnitudes intermedias y la magnitud final, ya sean simples o complejas, son definidas por la función mencionada.

La utilización explícita de una función para expresar esta relación es sobre todo útil para la discusión teórica pero en la práctica, como puede ser en un proceso de estimación de la incertidumbre, su uso no es frecuente debido a la dificultad que suele entrañar su enunciado, sobre todo si lo referimos a las magnitudes relacionadas con el laboratorio clínico. A la hora de especificar una magnitud es más habitual dividir el procedimiento de medida en una serie de partes que forman parte del mismo y que van a facilitar la evaluación de la incertidumbre. Por otro lado el hecho de que frecuentemente sea posible evaluar el efecto combinado de diversos componentes de la incertidumbre hace que se pueda reducir el esfuerzo realizado para estimar la incertidumbre y aunque, como ya se ha comentado, los valores de la gran mayoría de magnitudes biológicas se

obtienen a partir de los valores de otras magnitudes, como en el caso de la aplicación de la ley de Lambert-Beer-Bouguer, en general no es necesario estimar la incertidumbre típica de cada una de las magnitudes físicas medidas. De esta manera, generalmente, para estimar la incertidumbre asociada al resultado de una medición, suele ser suficiente con el conocimiento de la incertidumbre típica de unos pocos componentes de la incertidumbre. Además esta división en bloques del procedimiento puede facilitar, en algunos casos, la adecuada combinación de los diversos componentes de la incertidumbre estimados.

Cualquier medición reposa en uno o varios principios de medida que son la base científica de una medición. El método de medida (1) es la secuencia lógica de operaciones, descrita de forma genérica, usada para realizar las mediciones mientras que el procedimiento de medida (1) es el conjunto de operaciones descrito de forma concreta usado para realizar las mediciones particulares según un método particular.

Cuando se especifica una magnitud se deberían indicar también las correcciones realizadas de todos los errores sistemáticos y definir adecuadamente cual es el procedimiento para el cual se desea estimar la incertidumbre, indicando claramente cuales son las operaciones de que consta dicho procedimiento de manera que no es lo mismo la estimación de la incertidumbre cuando se usa un procedimiento que incluye los procesos de la toma de la muestra de uno que no incluya estos procesos.

#### 1.4.2.2. Identificación de las fuentes de incertidumbre

El siguiente paso es la identificación de todas las posibles fuentes de incertidumbre. En principio el listado puede incluir los componentes de la incertidumbre de las distintas magnitudes intermedias que aparecen en la función especificada anteriormente [1], pero también puede recoger ciertos

componentes de la incertidumbre que no aparecen reflejados en esta ecuación como son aquellos que son el resultado de dividir el procedimiento en una serie de apartados que faciliten la evaluación de la incertidumbre.

En esta parte del proceso de estimación de la incertidumbre no es importante la cuantificación de los componentes individuales identificados sino que el objetivo es clarificar que componentes deben ser considerados; en el apartado siguiente se aborda la mejor manera de tratar cada componente de la incertidumbre. A continuación se expone una lista de las causas más frecuentes de incertidumbre en los procedimientos de medida relacionados con el laboratorio clínico:

-La incompleta o imperfecta definición del mensurando. Esto ocurre fundamentalmente cuando el componente que se mide es una entidad molecular que se puede presentar en formas diversas (isoformas), que pueden reaccionar de manera diferente. Este componente de la incertidumbre puede ser en determinados casos una fuente de incertidumbre a tener en cuenta, aunque en general, en las magnitudes del laboratorio clínico su efecto es difícil de evaluar y no se suele tener en cuenta. La adecuada identificación de la magnitud siguiendo las adecuadas normas sintácticas y terminológicas (37) permite eliminar casi completamente, en el campo del laboratorio clínico, esta fuente de incertidumbre.

-La fase premetrológica del procedimiento. Si la obtención de la muestra forma parte de un procedimiento el efecto de las variaciones aleatorias que se producen entre la toma de diferentes muestras puede hacer que este componente de incertidumbre tenga importancia sobre el resultado final y que tal vez deba ser tenido en cuenta. Una adecuada normalización de todos los procesos que conforman la fase premetrológica permite habitualmente disminuir este componente de la incertidumbre (21, 22), lo que no significa que tras ella se deba despreciar esta causa de incertidumbre.

-La estabilidad de la muestra. Una magnitud es estable cuando su valor permanece constante dentro de unos límites concretos, durante un periodo de tiempo definido, en una misma muestra y en unas condiciones de conservación preestablecidas. Dependiendo de cual sea el tiempo y las condiciones de conservación de la muestra (39) antes de la realización de las mediciones es posible que sea necesario tener en cuenta el componente de la incertidumbre asociado a la estabilidad de la misma.

- La incertidumbre de los valores de los calibradores. El proceso de asignación de valores a los calibradores puede estar afectado por diversas causas de incertidumbre (40).

-La variabilidad en la reconstitución de los calibradores liofilizados.

-La falta de intercambiabilidad de los calibradores. Se denomina intercambiabilidad a la capacidad de un material de referencia o de control de comportarse de manera similar a la de los especímenes de los pacientes en un procedimiento de medida en particular. Los fabricantes de calibradores generalmente declaran que estos son intercambiables con las muestras de pacientes o no comentan nada al respecto. Por tanto aunque exista esta falta de intercambiabilidad es difícil de tener en cuenta cuando se estima la incertidumbre de medida.

- Los valores de ciertos parámetros usados en las mediciones y obtenidos de fuentes de información externa.

- El uso inadecuado de un modelo de calibración. Las causas pueden ser una repartición inadecuada de los calibradores a lo largo del intervalo de medida o la elección de un modelo de calibración que no es el que mejor se ajusta a la relación que existe entre los valores del calibrador y las señales que originan. En general esta causa de incertidumbre es muy difícil de demostrar a no ser que sea muy evidente.

- La sensibilidad metrológica o los límites de detección de los procedimientos. Estas características metrológicas pueden ser un componente de incertidumbre cuya repercusión en la incertidumbre combinada final de algunos procedimientos puede ser necesario evaluar o al menos tener en cuenta su existencia.

- Los cambios que se producen en las condiciones de un procedimiento de medida con el tiempo, y que puede afectar a las características metrológicas del procedimiento durante una misma serie metrológica (41).

- La presencia de magnitudes influyentes. En ciertas ocasiones el resultado de una magnitud puede estar afectado por otra magnitud denominada magnitud influyente. Uno de los principales fenómenos en los que están involucrados estas magnitudes influyentes es en las interferencias de los procedimientos de medida. En las interferencias las magnitudes influyentes pertenecen a la muestra en estudio. Estas pueden ser debidas a interferencias exógenas (anticoagulantes y otros aditivos, medicamentos) a interferencias endógenas (hemoglobina, bilirrubina, lípidos, etc), o bien a la inespecificidad inmunológica del procedimiento (reacciones cruzadas) (42).

- La contaminación. El efecto de la contaminación por arrastre entre muestras en un analizador automático o en un procedimiento manual o la contaminación procedente del ambiente del laboratorio como resultado de una mala práctica.

- El efecto del personal durante el procedimiento de medida: el sesgo personal en la lectura de instrumentos analógicos o la posibilidad de una mala interpretación del procedimiento de medida.

- Las variaciones aleatorias entre observaciones repetidas del mensurando realizadas bajo, aparentemente, idénticas condiciones debido a la imprecisión del procedimiento. Estos efectos aleatorios contribuyen a la incertidumbre en

todas las mediciones y son uno de los componentes de la incertidumbre más importantes en los resultados de las magnitudes relacionadas con las ciencias de laboratorio clínico.

-El redondeo de los resultados (43).

#### 1.4.2.3. Cuantificación de la incertidumbre

El siguiente paso es la cuantificación de los componentes de la incertidumbre identificados. En este punto es importante identificar aquellos componentes que tendrán una contribución significativa a la incertidumbre combinada ya que, generalmente, en la práctica sólo un número muy pequeño de ellos lo tienen y a menos que haya un gran número de componentes significativos, aquellos cuya contribución es más pequeña no necesitan ser evaluados en detalle. Es interesante revisar la lista establecida en el apartado anterior para simplificarla e identificar grupos de componentes de incertidumbre que puedan ser evaluados como un único componente de incertidumbre y que además permitan facilitar la combinación de la incertidumbre de estos componentes. La experiencia del evaluador es fundamental para hacer una selección de cuales son los componentes de la incertidumbre más relevantes en cada caso.

En general la incertidumbre de los resultados obtenidos en el laboratorio clínico tiene como componentes más importantes el producido durante la fase premetrológica, el producido por la imprecisión del procedimiento, el producido en la valoración de los calibradores y el producido por el efecto matriz, es decir el que ejercen las magnitudes influyentes sobre el mensurando.

La *Guía para la expresión de la incertidumbre en las mediciones* (2) establece dos formas de evaluación de la incertidumbre típica de los resultados de medida de acuerdo con la manera en que es estimado su valor numérico:

-Evaluación de tipo A: es aquella en que la incertidumbre típica es estimada mediante el análisis estadístico de series de observaciones (2).

-Evaluación de tipo B: es aquella en que la incertidumbre típica es estimada por otros métodos distintos al análisis estadístico de series de observaciones (2).

El propósito de esta clasificación es únicamente indicar la existencia de dos tipos de evaluaciones de la incertidumbre y no existe ninguna diferencia en la naturaleza de los componentes resultantes en los dos tipos. Ambos están basados en distribuciones de probabilidad y los componentes de incertidumbre resultantes de cada tipo de evaluación están cuantificados mediante una desviación típica o variancia, pero mientras que los estadísticos estimados que caracterizan los componentes de incertidumbre en las evaluaciones de tipo A son calculados a partir de series repetidas de observaciones, en las evaluaciones de tipo B los componentes de incertidumbre son unas variancias estimadas mediante la evaluación de los conocimientos que se disponen sobre el procedimiento y la magnitud.

#### 1.4.2.3.1. Evaluación de tipo A

La variancia estimada  $s^2$  que caracteriza el componente de la incertidumbre en las evaluaciones de tipo A es calculada a partir de series de observaciones repetidas. La desviación típica estimada  $s$  es la raíz cuadrada positiva de  $s^2$  y es denominada incertidumbre típica de tipo A (2). La incertidumbre típica combinada  $u_c$  es igual a la raíz cuadrada positiva de la variancia obtenida a partir de la combinación adecuada de las variancias o covariancias de los diversos componentes de la incertidumbre evaluados de acuerdo a las leyes de propagación de la incertidumbre. Los componentes de la incertidumbre en las evaluaciones pertenecientes al tipo A se caracterizan por las variancias estimadas,  $s^2$ , o por las desviaciones típicas estimadas,  $s$ , y el número de

grados de libertad usados para su cálculo.

Cuando se evalúa la incertidumbre de un procedimiento de medida basándose en la realización de mediciones se deben variar todos los factores de los que se tiene conocimiento que depende el resultado de una medición. Una vez obtenidos los resultados de las mediciones, la incertidumbre de los diversos componentes evaluados se calcula mediante el uso de los adecuados procedimientos estadísticos. Frecuentemente la falta de recursos y tiempo impide realizar una estimación de la incertidumbre basada en las anteriores premisas a pesar de que en muchos casos sólo unos pocos componentes dominan la incertidumbre y por tanto sólo es necesario evaluar estos componentes.

En las magnitudes relacionadas con las ciencias de laboratorio clínico uno de los principales componentes de la incertidumbre es el debido al error producido durante la fase metrológica. La incertidumbre típica debido al componente de incertidumbre producido por la variabilidad aleatoria que se produce durante la fase metrológica del procedimiento se puede medir mediante diversos experimentos de imprecisión. A la hora de estimar este componente de incertidumbre es necesario tener en cuenta que existen muchos procedimientos de medida para los cuales la imprecisión varía dependiendo de la concentración del componente que se mide. Es decir que esta variabilidad tiene un comportamiento heterocedástico. En estos casos se debe tener en cuenta la variación de la incertidumbre con la concentración de dicho componente. Existen varias aproximaciones a la solución de este problema, entre ellas están:

- Restringir el procedimiento de estimación de la incertidumbre a un pequeño intervalo de concentraciones del componente compatible con las estimaciones realizadas.
- Ofrecer la estimación de la incertidumbre en forma de incertidumbre típica relativa, siempre que se suponga que ésta es constante en el intervalo de concentraciones estudiado.

-Calcular la incertidumbre para diversos valores del mensurando que abarquen todo el intervalo de medida del procedimiento o el intervalo de utilidad clínica del mismo.

El uso de materiales de referencia en una evaluación de tipo A es una práctica habitual ya que ofrece información del efecto combinado de muchas de las posibles fuentes de incertidumbre. El uso de materiales de referencia para la estimación de la incertidumbre permite valorar alguno de los siguientes puntos:

- La incertidumbre asociada a la asignación de los valores de los materiales de referencia.
- La imprecisión en diversas condiciones obtenida a partir de las mediciones hechas en los materiales de referencia.
- Las diferencias entre la composición del material de referencia y la muestra en la que habitualmente se realizan las mediciones. Estas diferencias pueden producir una respuesta distinta del procedimiento en la medida en que puedan diferir las posibles magnitudes interferentes.

En general en el laboratorio clínico la estimación de la incertidumbre típica debida a la imprecisión interdiaria se acostumbra a hacer mediante la desviación típica o el coeficiente de variación obtenidos a partir de los resultados del control interno de calidad. También se puede hacer a partir de la medición por duplicado de las magnitudes en muestras de pacientes (29). Frecuentemente se asume que la imprecisión de un sistema de medida obtenida a partir de observaciones obtenidas usando materiales de control comerciales es la misma que se observaría usando muestras sin aditivos, sin embargo existen datos previos que indican que esto no es así (44). Es necesario tener en cuenta este hecho si se usan estos datos para la estimación de la incertidumbre.

#### 1.4.2.3.2. Evaluación de tipo B

Una estimación de tipo B es aquella que no ha sido obtenida a partir de observaciones repetidas y que se realiza a partir de la valoración de toda la información relevante que se tenga de la variabilidad de las magnitudes estudiadas.

Los componentes de incertidumbre en las evaluaciones de tipo B se caracterizan por los estadísticos  $u^2$  y  $u$  que pueden considerarse una aproximación de la variancia y desviación típica correspondientes (2).

La estimación de tipo B de la incertidumbre se usa cuando no se pueden hacer medidas repetidas del mensurando que permitan estimar la desviación típica experimental. La variancia y la desviación típica calculadas de esta manera se denominan por convenio variancia de tipo B y desviación típica de tipo B (2).

En una evaluación de tipo B para poder calcular la desviación típica correspondiente a la incertidumbre típica se debe decidir cual es la distribución de frecuencias que seguirían los resultados si se pudiesen hacer medidas repetidas del mensurando (2). Las distribuciones de frecuencias más habituales para estos tipos de estimaciones son la distribución rectangular uniforme, la triangular isósceles y la triangular rectángulo.

-Distribución rectangular o uniforme

Este tipo de distribución se caracteriza en que cualquier valor tiene las mismas probabilidades de producirse. La desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por  $\sqrt{12}$ . Este tipo de distribución se usa cuando la información que se posee acerca de la posible distribución de los valores es muy escasa.

frecuencia

a

b

-Distribución triangular isósceles

Este tipo de distribución se caracteriza en que los valores centrales de un intervalo se producen con más frecuencia que los extremos. Su desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por  $\sqrt{24}$ .

frecuencia

a                      b

-Distribución triangular rectángulo

Este tipo de distribución se caracteriza en que en un extremo de la distribución se produce la frecuencia mínima y en el otro extremo la máxima. Su desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por  $\sqrt{18}$ .

frecuencia

a                      b

Una evaluación de la incertidumbre de tipo B puede ser tan fiable como una de tipo A, especialmente si esta última se basa en un número bajo de observaciones estadísticamente independientes. Existen diversas maneras de estimar los componentes individuales de la incertidumbre en una evaluación de tipo B. En principio se puede usar cualquier información relevante que esté disponible acerca de la incertidumbre del mensurando en cuestión y que sea compatible con el procedimiento que se está evaluando. Afortunadamente esta información está muy a menudo al alcance en diversas formas:

1- Información de las compañías fabricantes de reactivos, calibradores e instrumentos: los catálogos de los fabricantes ofrecen frecuentemente una información más o menos detallada para diversos componentes de

incertidumbre.

2-Estudios entre laboratorios: estudios que siguiendo determinadas normativas internacionales se realizan para validar o evaluar un determinado procedimiento. Estos estudios son una excelente fuente de datos para estimar la incertidumbre. No obstante, es muy difícil que un estudio de este tipo incluya todas las posibles fuentes de incertidumbre, por lo que esta información necesita ser reevaluada bajo un punto de vista crítico para identificar aquellos componentes de incertidumbre que no hayan sido analizados en estos estudios o bien componentes de incertidumbre adicionales que se producen en estos estudios pero no cuando se usa el procedimiento en las mediciones ordinarias. En particular las fuentes que deberían ser analizadas con una mayor consideración son:

-La toma de la muestra: ya que en estos estudios raramente se tiene en cuenta este paso.

-El pretratamiento de las muestras: en la mayoría de los estudios las muestras sufren un pretratamiento antes de su distribución para asegurar su conservación durante el periodo de tiempo que dure el estudio.

-Los cambios en la matriz de la muestra: la incertidumbre procedente de componentes interferentes a concentraciones que no han sido evaluadas en el estudio.

3-El uso de datos procedentes de programas de evaluación de la calidad. Los resultados obtenidos en el control interno de la calidad de un laboratorio pueden ser usados en determinadas ocasiones para la estimación del componente metrológico de incertidumbre. La información contenida en programas de evaluación externa de la calidad se puede usar también como fuente de información para evaluar diversos componentes de incertidumbre.

Otras fuentes de información en las evaluaciones de tipo B pueden ser datos previos de mediciones, experiencia en las propiedades y el comportamiento de los materiales e instrumentos utilizados, e incertidumbres asignadas a datos de

referencia tomados de libros de consulta.

#### 1.4.2.4. Cálculo de la incertidumbre combinada

El siguiente paso es combinar la incertidumbre típica estimada de los distintos componentes de incertidumbre que afectan a un resultado para estimar la incertidumbre combinada del mismo.

Los resultados de las mediciones realizadas en el laboratorio clínico tienen diversas causas de incertidumbre o bien han podido ser calculados a partir de los valores de diversas magnitudes intermedias cada una con su incertidumbre. En este trabajo se denomina componente de incertidumbre a cada una de las contribuciones a la incertidumbre de un resultado ya esté este componente asociado a una parte del procedimiento o corresponda a la incertidumbre de otras magnitudes a partir de los cuales se ha obtenido dicho resultado.

La incertidumbre típica combinada es la incertidumbre típica de un resultado de una medición cuando este resultado se ha obtenido a partir de los valores de otras magnitudes o cuando sobre este resultado actúan diversas causas de incertidumbre. La relación general que se establece entre la incertidumbre combinada de un resultado y las incertidumbres de los diversos componentes individuales de incertidumbre que lo afectan depende de la función  $f$ , que define la magnitud objeto de medición, que relaciona la magnitud que se está midiendo con las distintas magnitudes de las que depende, y es expresada por la siguiente ecuación (2):

$$u_c = u(y) = (\sum (\partial f / \partial x_i)^2 \cdot u^2(x_i))^{0,5}$$

en donde  $u(y)$  es la incertidumbre típica combinada del resultado de la

medición y  $u(x_i)$  la incertidumbre típica de cada una de las magnitudes intermedias de las que depende el resultado o de los distintos componentes que afectan a la incertidumbre del procedimiento. Por tanto  $u(y)$  es la raíz cuadrada del sumatorio del cuadrado de la incertidumbre típica asociada a cada componente individual de incertidumbre multiplicada por el cuadrado de la derivada parcial del modelo de función con respecto a dicha magnitud intermedia. Esta derivada parcial se denomina también coeficiente de sensibilidad. En el caso de que dos magnitudes intermedias  $x_i$  y  $x_j$  no sean independientes y estén correlacionadas, la covarianza entre ellas se debería introducir en la fórmula anterior de manera que la fórmula quedaría como sigue (2):

$$u(y) = \left( \sum (\partial f / \partial x_i)^2 \cdot u^2(x_i) + 2 \sum \sum (\partial f / \partial x_i) (\partial f / \partial x_j) \cdot u(x_i, x_j) \right)^{0,5}$$

El efecto de la covarianza entre varias magnitudes puede incrementar o disminuir la incertidumbre típica combinada.

Cuando la incertidumbre típica combinada se divide por el resultado de la medición se denomina incertidumbre típica combinada relativa y se simboliza como  $u_{c \text{ rel}}$  (2).

Si bien estas son las expresiones de la incertidumbre típica combinada general, y la que se usa cuando existen magnitudes correlacionadas, en la práctica en la mayoría de los casos estas expresiones se pueden reducir a formas mucho más simples siguiendo dos reglas:

1-Para magnitudes,  $y$ , en las que la función de relación con las magnitudes de las que depende ( $x_1, x_2, \dots, x_N$ ) sólo incluye sumas o diferencias como  $y = x_1 + x_2 + \dots + x_N$  la incertidumbre típica combinada se propaga según una ecuación del siguiente tipo:

$$u_c = u(y) = (u(x_1)^2 + u(x_2)^2 + \dots + u(x_N)^2)^{0,5}$$

es decir la incertidumbre combinada es la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres típicas de los distintos componentes.

2-Para magnitudes,  $y$ , en las que la función de relación con las magnitudes de las que depende  $(x_1, x_2, \dots, x_N)$ , sólo incluye multiplicaciones y divisiones como  $y = x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_N$  la incertidumbre combinada, expresada en forma de incertidumbre combinada relativa, se propaga según una ecuación del siguiente tipo:

$$u_{c \text{ rel.}} = u(y) / y = ([u(x_1) / x_1]^2 + [u(x_2) / x_2]^2 + \dots + [u(x_N) / x_N]^2)^{0,5}$$

es decir que la incertidumbre combinada relativa sería la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres típicas relativas de los distintos componentes.

En estos casos, en los que aparecen únicamente operadores matemáticos simples, la incertidumbre combinada puede ser calculada fácilmente una vez que ha sido calculada la incertidumbre de los distintos componentes. Por tanto la estimación de la incertidumbre típica combinada se puede simplificar en aquellos procedimientos en los que sus diversos componentes de incertidumbre tengan una relación de este tipo.

En caso de funciones más complicadas puede ser conveniente para facilitar el tratamiento de los datos la utilización de programas informáticos con hojas de cálculo útiles para este fin (45).

En determinados campos de aplicación como puede ser en las ciencias de laboratorio clínico se puede usar la incertidumbre expandida, simbolizada como  $U$ , para informar la incertidumbre. La incertidumbre expandida es aquella magnitud que define un intervalo alrededor del resultado de medida que se puede esperar que contenga una gran fracción de la distribución de

valores que razonablemente pueden atribuirse al mensurando (2). La incertidumbre expandida se obtiene al multiplicar la incertidumbre típica, o la incertidumbre típica combinada por un factor de cobertura  $k$ :

$$U = k u$$

El factor de cobertura es un factor numérico usado como multiplicador de la incertidumbre típica para obtener la incertidumbre expandida (2). El resultado de una medición puede ser entonces expresado como  $Y = y \pm U$ , que es interpretado como que la mejor estimación del valor atribuible al mensurando  $Y$  es  $y$ , y que el intervalo  $[y - U; y + U]$  contiene con un alto grado de confianza  $p$  los valores que pueden ser razonablemente atribuidos a  $Y$ . Tal intervalo de confianza puede ser también expresado como  $y - U < Y < y + U$ .

A la hora de la elección del factor de multiplicación hay que tener en cuenta una serie de aspectos:

- El grado de confianza deseado.
- Cualquier conocimiento de las distribuciones de los datos subyacentes.
- Cualquier conocimiento del número de valores usados para estimar los efectos aleatorios. Las muestras pequeñas pueden llevar a estimaciones optimistas de la incertidumbre expandida.

El valor del factor de multiplicación  $k$  es elegido en función del grado de confianza que se desea asociar al intervalo  $y \pm U$ . Cuando la distribución de los datos que se manejan es normal el factor de cobertura se puede relacionar con el nivel de confianza de la siguiente manera: si  $1-\alpha = 0,95$ , es decir si el intervalo contiene aproximadamente un 95% de la distribución de valores el factor de cobertura es 2, si  $1-\alpha = 0,99$  el factor de cobertura es 2,6 y si  $1-\alpha = 0,996$  el factor de cobertura es 3,0. En general  $k$  está dentro del intervalo comprendido entre 2 y 3, y para la mayoría de los propósitos se recomienda que  $k$  sea 2, sin embargo este factor puede ser establecido de una manera especial en determinadas ocasiones, por ejemplo cuando ha sido usado un

número pequeño de mediciones para estimar grandes efectos aleatorios.

#### 1.4.3. Informe de la incertidumbre

La forma en que se informa la incertidumbre depende de cual va a ser su uso. Hay que tener en cuenta siempre que:

- Se debe ofrecer la suficiente información como para permitir que el resultado sea reevaluado si nuevos datos o informaciones están disponibles.
- Es preferible siempre ofrecer un exceso de datos a una información demasiado escasa.

Una información completa de la incertidumbre debe incluir (2):

- Una descripción clara de los métodos usados para realizar las mediciones y para calcular la incertidumbre.
- Una lista de todos los componentes de la incertidumbre significativos evaluados y las relaciones entre ellos, así como una completa documentación de como fue evaluado cada uno.
- Un informe de los valores de todas las constantes y correcciones usadas en los cálculos y en el análisis de la incertidumbre.
- El número de grados de libertad de cada uno de los componentes de incertidumbre evaluados.

En definitiva se deberían informar todos los pasos y procedimientos realizados de tal manera que cada uno ellos pueda ser seguido fácilmente y repetido en caso de que sea necesario. Cuando los detalles de una medición, incluyendo como fue evaluada la incertidumbre de los resultados, son proporcionados por referencias a documentos existentes es imperativo que dichos documentos sean consistentes con los procedimientos de medida en uso.

Muchas mediciones en el campo del comercio son hechas sin ninguna información explícita de la incertidumbre, sin embargo algunas de ellas son

realizadas con instrumentos sometidos a inspección legal. Si se tiene información de que estos instrumentos están de conformidad con ciertas normas y regulaciones que se aplican en dicho campo las incertidumbres pueden ser inferidas a partir de estas normas y regulaciones. En el campo de las ciencias de laboratorio clínico los procedimientos de medida no suelen estar sometidos a inspecciones legales pero en ciertos casos si que se asume que han sido obtenidos con determinadas características metrológicas, así cuando se mide la concentración de colesterol en suero y se usa el valor discriminante de riesgo de sufrir una enfermedad aterosclerótica (5,2 mmol/L) (46, 47) se asume que el procedimiento que se está usando posee unas determinadas características de imprecisión e inexactitud.

Cuando la medida de la incertidumbre es la incertidumbre típica combinada  $u_c$  se debería (2):

- a-Dar una completa información de la definición del mensurando  $Y$ .
- b-Establecer claramente y sin ambigüedades como se hizo la estimación del mensurando y de la incertidumbre  $u_c(y)$ . Las unidades de ambos deben darse siempre.
- c-Incluir la incertidumbre típica relativa  $u_c(y)/y$  siempre que  $y \neq 0$  cuando sea apropiado a la medición.

Desde el punto de vista formal se recomienda informar la incertidumbre típica combinada de la siguiente forma (2):

(Nombre de la magnitud): valor numérico (unidades) [con una] incertidumbre típica de  $u_c$ (unidades)[donde la incertidumbre típica es tal como se define en el *Vocabulario Internacional de Términos Básicos y Generales de Metrología*, 2ª edición, ISO 1993 (1) y corresponde a una desviación típica].

Cuando sea adecuado los términos entre corchetes [ ] pueden ser omitidos o abreviados.

No se recomienda el uso del operador relacional  $\pm$  cuando se informa la incertidumbre típica ya que este símbolo suele estar asociado a intervalos correspondientes a un alto grado de confianza.

Cuando se quiere informar la incertidumbre expandida  $U = ku_c$  se debería (2):

- a- Dar la definición del mesurando  $Y$ .
- b- Establecer el resultado de la medición como  $Y = y \pm U$  con sus unidades correspondientes.
- c- Dar los valores de  $u_c$  y  $k$  usados para calcular  $U$ .
- d- Dar aproximadamente el grado de confianza asociado con el intervalo  $y \pm U$  y como fue calculado.

En general para la estimación de la incertidumbre expandida se debería usar 2 como factor de multiplicación. Desde el punto de vista formal se recomienda informar la incertidumbre expandida de la siguiente forma (2):

(Nombre de la magnitud):  $x \pm U$  (unidades)

[donde] la incertidumbre informada es [la incertidumbre expandida tal como se define en el *Vocabulario Internacional de Términos Básicos y Generales de Metrología*, 2ª edición, ISO 1993] (1) calculada usando un factor de multiplicación de 2, [que ofrece un grado de confianza de aproximadamente el 95%].

Cuando sea adecuado los términos entre corchetes [ ] pueden ser omitidos o abreviados.

#### 1.4.4. Expresión numérica de los resultados

Los valores numéricos de los resultados y su incertidumbre no deberían de ser expresados con un número excesivo de dígitos. La incertidumbre se debería relacionar con el valor numérico con el que se expresa el resultado. El resultado de una medición se debería redondear con el fin de que solamente contuviera los dígitos conocidos con seguridad más el primero de los que están afectados por la incertidumbre. Durante todo el proceso de estimación en todos los cálculos se ha de mantener un número de decimales superior al utilizado habitualmente para cada magnitud biológica.

## **2. Objetivos**

Los componentes fundamentales de la incertidumbre de los resultados de medida obtenidos con procedimientos relacionados con el laboratorio clínico son:

- La incertidumbre producida durante la fase premetrológica.
- La incertidumbre producida durante la fase metrológica.
- La incertidumbre producida en la valoración de los calibradores
- La incertidumbre producida por las magnitudes influyentes

De estos componentes hay dos que dependen de cada laboratorio en particular y que son los producidos por la imprecisión interdiaria y por la variabilidad premetrológica.

El objetivo de esta tesis es el diseño de un modelo general, lo más ampliamente utilizable, que permita asignar a cada resultado de medida obtenido con un procedimiento de laboratorio clínico su incertidumbre asociada. Para ello se debe estimar el valor de la incertidumbre típica de cada componente de individual de incertidumbre y combinarlos de manera adecuada para estimar la incertidumbre combinada.

### 3. Material y métodos

3.1 Especificación de las magnitudes objeto de estudio y materiales usados para su medición

3.1.1. Especificación de las magnitudes objeto de medición

Los organismos internacionales de normalización recomiendan que como primer paso para la estimación de la incertidumbre se establezca una expresión cuantitativa que relacione los valores de todas las magnitudes intermedias con la magnitud objeto de medición. Así si el resultado de la medición se simboliza por  $y$ , su relación con los valores de las magnitudes intermedias ( $x_1, x_2, x_3, \dots, x_N$ ) puede ser expresado por la función ya mencionada:

$$y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)$$

que es el modelo de función de la magnitud que se está midiendo. Aunque cada procedimiento analítico tiene un único modelo de función en la práctica procedimientos de medida basados en el mismo o similar método tendrán similares modelos de función.

La incompleta o deficiente definición de la magnitud que se mide puede en determinados casos ser una fuente de incertidumbre a tener en cuenta, aunque por lo menos en lo que atañe a las magnitudes del laboratorio clínico es fácil de eliminar o disminuir con una adecuada sistematización y normalización de la nomenclatura de la magnitud (37, 38).

Por ello toda medición debe comenzar con una adecuada definición del mensurando, es decir la magnitud que se está midiendo, del método de medida y del procedimiento de medida. El mensurando debe ser definido mediante una descripción lo más completa posible de la magnitud. Teniendo en cuenta las

recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC), de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) y de la Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular (37, 38, 48) se debe enumerar y describir las siguientes características: el sistema en estudio y el componente de ese sistema teniendo en consideración el tipo de magnitud. Todo esto se puede sistematizar mediante el siguiente esquema:

#### Sistema-Componente; tipo de magnitud

Conjuntamente a esta sistematización es conveniente normalizar la nomenclatura de los sistemas, componentes y tipos de magnitud. El sistema debe escribirse de forma completa o bien mediante la utilización de un símbolo aceptado (48) del mismo con letras rectas, la primera con mayúscula y las siguientes con minúsculas. Los nombres de los componentes se deben escribir completos sin abreviaturas y las letras deben ser rectas, todas mayúsculas o sólo la primera. El tipo de magnitud, es decir la propiedad que se mide del componente en el sistema, debe escribirse a continuación del nombre del componente, separado por un punto y coma usando los correspondiente símbolos autorizados. Además de la definición de la magnitud se debe establecer exactamente las relaciones entre el mensurando final y las magnitudes intermedias o constantes usadas para su cálculo en caso de que las hubiera.

Alguno de los símbolos utilizados en este trabajo para la definición de las magnitudes son los siguientes:

Sistemas:

Srm: suero

Tipo de magnitud:

c.cat.: concentración catalítica

c.sust.: concentración de sustancia

c.masa: concentración de masa

c.sust.arb.: concentración de sustancia arbitraria

Mediante el uso de esta nomenclatura y sintaxis se obtiene una adecuada identificación de la magnitud, que si bien en algunos casos necesita la inclusión de una información adicional, como la identificación de los materiales de referencia frente a los cuales han sido calibrados, suele ser en la mayoría de los casos suficiente.

Este trabajo se ha realizado en un grupo de magnitudes que se encuentran entre las que más se demandan en un laboratorio de bioquímica clínica. Las magnitudes elegidas fueron las siguientes:

Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Bilirrubina; c.sust.

Srm—Calcio(II); c.sust.

Srm—Colesterol; c.sust.

Srm—Creatina-cinasa; c.cat.

Srm—Creatinino; c.sust.

Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)

Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.

Srm—Fosfato; c.sust.

Srm—Glucosa; c.sust.

Srm—Hierro; c.sust.

Srm—Ion potasio; c.sust.

Srm—Ion sodio; c.sust.

Srm—Proteína ; c.masa

Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP 80/558)

Srm—Tiroxina libre; c.sust.

Srm—Triglicérido; c.sust.

Srm—Triyodotironina; c.sust.

Srm—Urato; c.sust.

Srm—Urea; c.sust.

### 3.1.2. Materiales utilizados

#### 3.1.2.1. Materiales de control y calibración

Para la verificación de las series de mediciones se usaron los siguientes materiales de control:

Precicontrol Universal de Roche referencia 1731416, con dos concentraciones distintas, para la verificación de las series de medida correspondientes a:

Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP 80/558)

Srm—Tiroxina libre; c.sust.

Srm—Triyodotironina; c.sust.

Lyphocheck Control Químico no Valorado 1 y 2 de Bio-Rad referencias 731 y 732 para la verificación de las series de medida correspondientes a:

Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Bilirrubina; c.sust.

Srm—Calcio(II); c.sust.

Srm—Colesterol; c.sust.

Srm—Creatina-cinasa; c.cat.

Srm—Creatininio; c.sust.

Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.

Srm—Fosfato; c.sust.

Srm—Glucosa; c.sust.

Srm—Hierro; c.sust.

Srm—Ion potasio; c.sust.

Srm—Ion sodio; c.sust.

Srm—Proteína ; c.masa

Srm—Triglicérido; c.sust.

Srm—Urato; c.sust.

Srm—Urea; c.sust.

Controles Precipath proteína y Precinorn proteína de Roche referencias 1553585 y 1553577 para la verificación de las series de medida correspondientes a:

Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)

Para la calibración de los procedimientos de medida incorporados a los analizadores Hitachi 917 (excepto el de la ferritina) e Hitachi 747 (excepto los de los iones sodio y potasio) se utilizó el calibrador CFAS (Calibrator For Automated Systems) de Roche referencia 759350.

Para la calibración del procedimiento de medida de la concentración de masa de la ferritina se utilizó el calibrador CFAS protein (Calibrator For automated Systems protein) de Roche referencia 1355279 que consiste en 6 calibradores de distinta concentración que poseen trazabilidad respecto al material de referencia CRM 470.

Para la calibración de los procedimientos de medida de la concentración de ion sodio e ion potasio se utilizaron los calibradores alto y bajo de Roche referencias 1183982 y 1183974 que son disoluciones acuosas obtenidas de forma gravimétrica, y el calibrador Compensador de Roche referencia 1489828 de matriz sérica.

Para la calibración del procedimiento de medida de la concentración de tirotrópina se utilizó el calibrador TSH-CalSet de Roche referencia 1731483, que consiste en una matriz de suero de caballo con tirotrópina recombinante que posee trazabilidad frente al segundo calibrador de referencia IRP 80/558 de la Organización Mundial de la Salud.

Para la calibración del procedimiento de medida de la concentración de tiroxina libre se usó el calibrador FT4 CalSet de Roche referencia 1731661, que consiste en una matriz de tampón con proteína a la que se ha añadido *l*-tiroxina.

Para la calibración del procedimiento de medida de la concentración de triyodotironina se utilizó el calibrador T3 CalSet de Roche referencia 1731548 que consiste en suero humano liofilizado al que se le ha añadido triyodotironina y ha sido valorado frente a unos calibradores de referencia de suero humano carente del componente al que se ha añadido una cantidad pesada de triyodotironina.

#### 3.1.2.2. Analizadores utilizados

Las mediciones se han realizado en los siguientes analizadores:

Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) para la medición de:

Srm—Tirotropina; c.sust.arb.( IRP 80/558)

Srm—Tiroxina libre; c.sust.

Srm—Troyodotironina; c.sust.

Hitachi 747 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) para la medición de:

Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.

Srm—Bilirrubina; c.sust.

Srm—Calcio(II); c.sust.

Srm—Colesterol; c.sust.

Srm—Creatinino; c.sust.

Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.

Srm—Fosfato; c.sust.

Srm—Glucosa; c.sust.

Srm—Hierro; c.sust.  
Srm—Ion potasio; c.sust.  
Srm—Ion sodio; c.sust.  
Srm—Proteína ; c.masa  
Srm—Urato; c.sust.  
Srm—Urea; c.sust.

Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) para la medición de:

Srm—Creatina-cinasa; c.cat.  
Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)  
Srm—Triglicérido; c.sust.

### 3.1.2.3. Procedimientos de medida utilizados

Para la medición de la concentración catalítica de alanina-aminotransferasa en suero se utilizó el procedimiento de Roche ALT optimizado (49) referencias 1360191 (reactivo 1) y 1127845 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del  $\alpha$ -oxoglutarato y la *l*-alanina por medio de la alanina-aminotransferasa para producir *l*-glutamato y piruvato. El piruvato formado reacciona con NADH catalizado por la lactato-deshidrogenasa para producir *l*-malato y  $\text{NAD}^+$ . La disminución de la concentración de NADH, que se mide espectrometricamente a 340 nm, es directamente proporcional a la concentración catalítica de alanina-aminotransferasa presente en la muestra. También se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen de forma cinética.

Para la medición de la concentración catalítica de aspartato-aminotransferasa en suero se utilizó el procedimiento de Roche AST optimizado (50) referencias 1360175 (reactivo 1) y 1127829 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del  $\alpha$ -

oxoglutarato y el *l*-aspartato por medio de la aspartato-aminotransferasa para producir *l*-glutamato y oxalacetato. El oxalacetato formado reacciona con NADH catalizado por la malato-deshidrogenasa para producir *l*-malato y NAD<sup>+</sup>. La disminución de la concentración de NADH, que se mide espectrometricamente a 340 nm, es directamente proporcional a la concentración catalítica de aspartato-aminotransferasa presente en la muestra. También se usa una longitud de onda secundaria de 700 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen de forma cinética.

Para la medición de la concentración de bilirrubina en suero se utilizó el procedimiento de Roche Bilirrubina método DPD (51) referencias 1127535 (reactivo 1) y 1383019 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la capacidad que tiene el detergente contenido en los reactivos para liberar a la bilirrubina esterificada y la posterior unión del compuesto diazonio a la bilirrubina para formar azobilirrubina. La concentración de azobilirrubina formada, medida espectrometricamente a 570 nm, es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra. También se usa una longitud de onda secundaria a 660 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen a dos puntos.

Para la medición de la concentración de calcio(II) en suero se utilizó el procedimiento de Roche Calcio (52) referencia 1127551 (reactivo 1) y 1127560 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del calcio con *o*-cresoftaleina complexona en solución alcalina para formar un compuesto de calcio y *o*-cresoftaleina. La concentración de este compuesto formada, que se mide espectrometricamente a 546 nm, es directamente proporcional a la concentración de calcio(II) presente en la muestra. Adicionalmente se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. La medición de las absorbancias se realiza a punto final.

Para la medición de la concentración de colesterol en suero se utilizó el

procedimiento de Roche Colesterol CHOD-PAP (53) referencia 1489704 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la separación de los ésteres de colesterol en colesterol y ácidos grasos por la enzima colesterol-esterasa. A continuación el colesterol se oxida mediante la acción de la colesterol-oxidasa a  $\Delta^4$ -colesteno y peróxido de hidrógeno. A continuación el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminofenazona y fenol bajo la acción de la peroxidasa para formar un compuesto coloreado, 4-(*p*-benzoquinona-monoimino)-fenazona, cuya concentración, proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra, se mide espectrométricamente a 505 nm. También se usa una longitud de onda secundaria de 700 nm. Las lecturas de las absorbancias se realizan a un punto.

Para la medición de la concentración catalítica de creatina-cinasa en suero se utilizó el procedimiento de Roche CK NAC (54) referencia 1552147 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 917. El procedimiento se basa en la reacción del fosfato de creatina con ADP catalizada por la creatina-cinasa para formar creatina y ATP. A continuación el ATP formado reacciona con la glucosa por medio de la hexoquinasa para dar glucosa-6-P y ADP. Finalmente la glucosa-6-P reacciona con NADP<sup>+</sup> catalizada por la glucosa-6-P-deshidrogenasa para formar 6-P-gluconato y NADPH. La concentración de NADPH formada, proporcional a la concentración catalítica de la enzima presente en la muestra, se mide espectrométricamente a 340 nm. También se usa una longitud de onda secundaria a 546 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen de forma cinética.

Para la medición de la concentración de creatinina en suero se utilizó el procedimiento de Roche Creatinina (55, 56) referencias 112763 (reactivo 1) y 112765 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del creatinina con el ácido pícrico en solución alcalina para dar lugar a un compuesto de creatinina y ácido pícrico. La concentración de este compuesto formada, que se mide

espectrometricamente a 505 nm, es directamente proporcional a la concentración de creatinino presente en la muestra. Adicionalmente se usa una longitud de onda secundaria a 570 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen de forma cinética.

Para la medición de la concentración de ferritina en suero se utilizó el procedimiento de Roche Tina-quant Ferritina (57) referencia 1661400 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 917. El procedimiento se basa en la inmunoturbidimetría y en él las moléculas de ferritina reaccionan con un anticuerpo contra la ferritina que está unido a unas partículas de látex formando un compuesto de antígeno-anticuerpo que se mide turbidimetricamente.

Para la medición de la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en suero se utilizó el procedimiento de Roche Fosfatasa alcalina optimizada (58) referencias 1360787 (reactivo 1) y 1360795 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción de *p*-nitrofenilfosfato con agua bajo la acción de la fosfatasa alcalina en presencia de iones  $Mg^{2+}$  para formar fosfato y *p*-nitrofenol. La concentración de *p*-nitrofenol formada, proporcional a la concentración catalítica de la enzima presente en la muestra, se mide espectrometricamente a 450 nm. También se usa una longitud de onda secundaria a 546 nm. Las mediciones de las absorbancias se hacen de forma cinética.

Para la medición de la concentración de fosfato no esterificado en suero se utilizó el procedimiento de Roche Fósforo inorgánico (59) referencia 1875981 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del fosfato no esterificado con el molibdato amónico en solución ácida sulfúrica para formar un compuesto de fosfomolibdato de amonio. La concentración de fosfomolibdato de amonio formada, proporcional a

la concentración de fosfato presente en la muestra, se mide espectrométricamente a 340 nm. También se usa una longitud de onda secundaria a 660 nm. Las mediciones de las absorbancias se realizan a un punto.

Para la medición de la concentración de glucosa en suero se utilizó el procedimiento de Roche Glucosa GOD-PAP (60) referencia 1448684 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción de la glucosa con el oxígeno y agua que es catalizada por la enzima glucosa-oxidasa para formar gluconolactona y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona por medio de la enzima peroxidasa con la 4-aminofenazona y fenol produciendo 4-(*p*-benzoquinona-monoimino)-fenazona. Finalmente la aparición de este compuesto coloreado, que es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra, se mide espectrométricamente a 505 nm. También se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. La medición de las absorbancias se realiza a un punto.

Para la medición de la concentración de hierro en suero se utilizó el procedimiento de Roche Hierro (61) referencias 1970771 (reactivo 1) y 1970798 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la separación de los iones de  $\text{Fe}^{+3}$  de la transferrina que se produce a pH ácido (<2,0). A continuación el ascorbato reduce los iones de  $\text{Fe}^{3+}$  a iones de  $\text{Fe}^{2+}$ . El  $\text{Fe}^{2+}$  forma con la ferrozina un compuesto coloreado cuya concentración, proporcional a la concentración de hierro, se mide espectrométricamente a 570 nm. También se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. La medición de las absorbancias se realiza a dos puntos.

Para la medición de la concentración de ion potasio en suero se utilizó el procedimiento de Roche ISE/ $\text{K}^+$  (62) que utiliza la potenciometría indirecta como método de medida. Este procedimiento se basa en la capacidad de determinadas membranas de generar un potencial eléctrico cuando están en contacto con ciertas disoluciones, capacidad que se puede usar para la

medición de las concentraciones de ciertos iones presentes en dichas disoluciones.

Para la medición de la concentración de ion sodio en suero se utilizó el procedimiento de Roche ISE/Na<sup>+</sup> (63, 64) que utiliza la potenciometría indirecta como método de medida. Este procedimiento se basa en la capacidad de determinadas membranas de generar un potencial eléctrico cuando están en contacto con ciertas disoluciones, capacidad que se puede usar para la medición de las concentraciones de ciertos iones presentes en dichas disoluciones.

Para la medición de la concentración de proteína en suero se utilizó el procedimiento de Roche Proteínas Totales (65) referencias 1553844 (reactivo 1) y 1553852 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la propiedad que tienen las proteínas de formar en solución alcalina con los iones de cobre un compuesto coloreado. La concentración del compuesto coloreado formada, que se mide espectrometricamente a 546 nm, es directamente proporcional a la concentración de proteína presente en la muestra. Adicionalmente se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. La medición de las absorbancias se realiza a dos puntos.

Para la medición de la concentración de tirotrópina en suero se utilizó el procedimiento de Roche TSH-Tirotrópina (66) referencia 1731459 que se encuentra incorporado en el analizador Elecsys 2010. Es un procedimiento inmunoquímico en el que se usa un anticuerpo monoclonal específico contra la tirotrópina.

Para la medición de la concentración de tiroxina libre en suero se utilizó el procedimiento de Roche FT4-Tiroxina libre (67) referencia 1731297 que se encuentra incorporado en el analizador Elecsys 2010. Es un procedimiento inmunoquímico en el que se usa un anticuerpo específico contra la tiroxina.

Para la medición de la concentración de triglicérido en suero se utilizó el procedimiento de Roche Triglicéridos GPO-PAP (68) referencia 1730711 que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 917. El procedimiento se basa en la transformación de los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos catalizada por la triacilglicerol-lipasa. Seguidamente el glicerol formado reacciona con ATP por medio de la glucoquinasa en presencia de iones  $Mg^{2+}$  para dar glicerol-3-fosfato y ADP. A continuación el glicerol-3-P se oxida catalizado por la glicerol-*p*-oxidasa a dihidroxiacetonafofosfato y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con la 4-aminofenazona y el 4-clorofenol por medio de la peroxidasa formando 4-(*p*-benzoquinona-monoimino)-fenazona. La concentración de esta sustancia, medida espectrometricamente a 505 nm, es proporcional a la concentración de triglicérido presente en la muestra. También se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. Las mediciones de las absorbancias se realizan a punto final.

Para la medición de la concentración de triyodotironina en suero se utilizó el procedimiento de Roche T3-Triyodotironina (69) referencia 1731360 que se encuentra incorporado en el analizador Elecsys 2010. Es un procedimiento inmunoquímico en el que se usa un anticuerpo policlonal específico contra la triyodotironina.

Para la medición de la concentración de urato en suero se utilizó el procedimiento de Roche Ácido úrico PAP (70) referencias 1446827 (reactivo 1) y 1446835 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la reacción del urato con el agua y el oxígeno catalizada por la enzima uricasa para formar alantoina, hidrógenocarbonato y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona con el ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxi benzoico y la 4-aminofenazona mediante la acción de la enzima peroxidasa formando un compuesto de quinona-imine y ácido bromhídrico. La concentración de este compuesto formada, que se mide espectrometricamente a 505 nm, es directamente proporcional a la

concentración de urato presente en la muestra. Adicionalmente se usa una longitud de onda secundaria a 700 nm. La medición de las absorbancias se realiza a dos puntos.

Para la medición de la concentración de urea en suero se utilizó el procedimiento de Roche Urea cinético UV (71) referencias 1489836 (reactivo 1) y 1820206 (reactivo 2) que se encuentra incorporado en el analizador Hitachi 747. El procedimiento se basa en la acción de la ureasa sobre la urea y el agua formando amoniaco e hidrógenocarbonato. A continuación el amoniaco formado reacciona con el  $\alpha$ -oxoglutarato y NADH mediante la acción de la glutamato-deshidrogenasa formándose *l*-glutamato, agua y NAD<sup>+</sup>. La disminución de la concentración de NADH, medida espectrometricamente a 340 nm, es directamente proporcional a la concentración de urea presente en la muestra. Adicionalmente se usa una longitud de onda secundaria a 376 nm. La medición de las absorbancias se hace de forma cinética.

### 3.2. Identificación de los componentes de incertidumbre

El objetivo principal de este trabajo es diseñar un modelo que se pueda usar los más ampliamente posible para la estimación de la incertidumbre de los resultados de medida obtenidos con procedimientos de laboratorio clínico. Para estimar la incertidumbre asociada a un resultado, como ya se ha mencionado en la introducción, en muchos casos lo más útil es dividir el procedimiento de medida en diversos bloques a los que se puede asignar a su vez una incertidumbre. Cuando se mide una magnitud biológica los errores aleatorios propios del procedimiento de medida, así como algunos errores sistemáticos que se producen de manera esporádica y que se pueden expresar como errores aleatorios, hacen que se produzca una incertidumbre sobre el resultado de medida. Por tanto la incertidumbre de medida puede ser debida a diversas causas, cada una de las cuales es descrita mediante su incertidumbre típica. Cuando sobre un resultado actúan varias causas de incertidumbre es

necesario combinar de manera adecuada sus incertidumbres típicas mediante el cálculo de la incertidumbre típica combinada.

En este momento se deben identificar cuales de las causas de incertidumbre mencionadas en la introducción afectan a un resultado ya que no todas ellas afectan por igual a todos los procedimientos de medida del laboratorio clínico. Una vez identificados los principales componentes de la incertidumbre es conveniente simplificar la lista mediante la identificación de grupos de componentes de incertidumbre que pueden ser evaluados como un único componente. En la práctica, por tanto, no es necesario evaluar por separado todos los componentes identificados en la introducción ya que es posible estimar la incertidumbre asociada al efecto combinado de diversos componentes.

En general para los procedimientos de medida usados en el laboratorio clínico la incertidumbre de un resultado, una vez identificada adecuadamente la magnitud medida, tiene los siguientes componentes:

- El producido durante la fase premetrológica.
- El producido durante la fase metrológica por la variabilidad interdiaria.
- El producido en la valoración de los calibradores.
- El producido por las magnitudes influyentes.

Cada uno de estos componentes incluye el efecto combinado de múltiples componentes, pero la estimación de estos cuatro permite conocer la influencia de todos ellos.

El modelo de función usado en este trabajo supone que el resultado de una medición es igual al resultado observado en la medición más una serie de constantes de corrección debidas a los efectos producidos por la toma de la muestra, la calibración y la producida por la interferencias:

$$y = C_{Obs} + C_{te\ PM} + C_{te\ Cal} + C_{te\ Inf}$$

El concepto de la incertidumbre de medida se aplica únicamente a resultados de medida sin error sistemático (2) o bien a resultados de medida corregidos. Por tanto si se tiene en cuenta que del resultado final se han eliminado todos los posibles errores sistemáticos el valor de estas constantes de corrección es igual a cero, pero sin embargo el valor de sus incertidumbres es distinto de cero. Por tanto si se ha supuesto un modelo de función de este tipo en el que sólo existen sumas y restas la incertidumbre típica combinada, como ya se ha comentado, se propaga según una ecuación del siguiente tipo:

$$u_c = u(y) = (u(x_1)^2 + u(x_2)^2 + \dots + u(x_N)^2)^{0,5}$$

donde  $u(x_N)$  es la incertidumbre típica de cada uno de los componentes individuales de incertidumbre en que se ha dividido el procedimiento. Por tanto teniendo en cuenta cuales son los principales componentes de incertidumbre en los procedimientos relacionados con el laboratorio clínico esta ecuación quedaría:

$$u_c = (u_M^2 + u_{PM}^2 + u_{Cal}^2 + u_{Int}^2)^{0,5}$$

es decir que la incertidumbre típica combinada sería la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres de los componentes metrológico, premetrológico, del asociado a la valoración de los calibradores y del producido por las magnitudes influyentes.

### 3.3. Cuantificación de los diversos componentes de incertidumbre

Como ya se ha comentado existen dos tipos de evaluaciones de la incertidumbre de los resultados de medida de acuerdo con la manera en que se estima su valor numérico (2). En este trabajo la estimación del valor numérico de la incertidumbre asociada a la variabilidad premetrológica y a la imprecisión

interdiaria se ha hecho mediante una evaluación de tipo A, es decir una evaluación en la que la incertidumbre se ha calculado mediante el análisis estadístico de series de observaciones repetidas y en el que cada componente de la incertidumbre ha sido obtenido a partir de la función de distribución de los valores obtenidos en estas mediciones. La estimación de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores y la asociada a las magnitudes influyentes se ha hecho mediante una evaluación de tipo B en la que la estimación de estos componentes de incertidumbre se ha intentado hacer a partir de la información aportada por el fabricante de los calibradores y reactivos utilizados.

Una vez estimado el valor numérico de la incertidumbre de cada uno de estos componentes individuales se ha calculado la incertidumbre típica combinada  $u_c$  y la incertidumbre expandida  $U$  resultantes de la contribución de dichos componentes individuales.

### 3.3.1. Incertidumbre asociada a la fase premetroológica

Habitualmente se asume que si todos los elementos que forman parte de esta fase están adecuadamente normalizados la incertidumbre producida durante ella es despreciable. Este planteamiento, no obstante, sólo debería referirse a los efectos producidos por la existencia de variaciones sistemáticas como consecuencia de una incorrecta realización de los procesos incluidos en esta fase. Existen, sin embargo, efectos producidos durante la toma de la muestra, el manejo de la misma o su centrifugación que a pesar de ser realizados de forma adecuada son fuente de variaciones aleatorias significativas que no deberían ser despreciadas sin un estudio previo que valore su contribución a la incertidumbre final de un resultado.

Para el cálculo de la incertidumbre premetroológica se ha utilizado un experimento con el que se valora de forma conjunta la variabilidad que se

produce durante esta fase debido a:

- la toma de la muestra en diferentes brazos,
- la extracción a cargo de diferentes personas,
- la realización del resto de manipulaciones premetrológicas diferidas en el tiempo.

Las muestras empleadas en este estudio fueron obtenidas a partir de 20 voluntarios pertenecientes al personal del laboratorio de bioquímica-clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. Para obtener las muestras se usaron tubos de vacío sin aditivos pero con una barrera de gel como separador (Vacutainer®, Becton-Dickinson, Meylan, Francia). En cada individuo se obtuvieron dos muestras de sangre consecutivas e inmediatas, una en cada brazo, por dos flebotomistas diferentes a partir de la vena antedecubital. Cada pareja de flebotomista fue diferente en cada individuo. En todos los casos el primer tubo de sangre obtenido fue enviado después de 30 minutos a la sección premetrológica del laboratorio para su centrifugación, que tuvo lugar a 1500 *g* durante 12 minutos a 10 °C en cualquiera de las dos centrífugas disponibles para este propósito. Después de la centrifugación el tubo fue mandado a su correspondiente analizador. Con el fin de simular las diferencias en el manejo de las muestras que pueden ocurrir en un laboratorio cuando un mismo paciente es sometido a punciones en diferentes días, el tubo obtenido por el segundo flebotomista fue retenido durante 30 minutos más que el primero. Después de este periodo la muestra fue procesada tal como se ha descrito previamente.

En todas las muestras, dos por cada individuo, se midieron todas las magnitudes objeto de estudio en los analizadores correspondientes. Además todas las mediciones fueron repetidas en una de las muestras elegida aleatoriamente en cada individuo.

Para cada magnitud la variancia global producida durante este experimento fue calculada de la siguiente manera:

$$s_G^2 = \sum (x - y)^2 / 2n$$

donde  $s_G^2$  es la variancia global,  $x$  e  $y$  son los resultados obtenidos en cada una de las muestras de un mismo individuo y  $n$  es el número de individuos.

La variancia global es igual a la suma de la variancia premetrológica,  $s_{PM}^2$ , y de la variancia metrológica intraserial  $s_{ID}^2$

$$s_G^2 = s_{PM}^2 + s_{ID}^2$$

La variancia correspondiente a la variabilidad metrológica intraserial de cada magnitud,  $s_{ID}^2$ , fue calculada de la siguiente manera:

$$s_{ID}^2 = \sum (z - z')^2 / 2n$$

donde  $z$  y  $z'$  son los resultados de cada una de las mediciones realizadas en la misma muestra y  $n$  es el número de individuos.

La variancia correspondiente a la incertidumbre premetrológica,  $s_{PM}^2$ , fue finalmente calculada restando a la variancia global  $s_G^2$  de este experimento la variancia metrológica intraserial  $s_{ID}^2$ .

$$s_{PM}^2 = s_G^2 - s_{ID}^2$$

### 3.3.2. Incertidumbre asociada a la fase metrológica

En este apartado se ha estudiado la incertidumbre resultante del efecto combinado de los distintos elementos que producen variabilidad durante la fase metrológica. La estimación de este componente de la incertidumbre se ha hecho mediante una evaluación basada en series repetidas de mediciones. Para

ello se ha estimado la desviación típica correspondiente a la imprecisión interdiaria del procedimiento.

La incertidumbre típica debido al componente de la incertidumbre producido por la variabilidad aleatoria que se produce durante la fase metrológica del procedimiento se ha medido mediante el experimento de imprecisión en condiciones intermedias y ha sido cuantificada mediante la desviación típica de los valores medidos. La imprecisión en condiciones intermedias hace referencia a aquella imprecisión en la que se han cambiado uno o más de los siguientes factores: tiempo, calibración, operador y equipamiento factores mencionados (34). La imprecisión interdiaria calculada en este trabajo ha sido un tipo de imprecisión en condiciones intermedias en la que se ha utilizado el mismo equipo, con el mismo operador pero en el que las mediciones han sido realizadas en distintos días.

Al medir la incertidumbre debida a la imprecisión interdiaria se está evaluando de forma conjunta el efecto combinado de ciertos componentes de incertidumbre que suceden durante la fase metrológica, algunos de los cuales son los siguientes:

- El volumen de muestra tomado por el analizador.
- El volumen de reactivos tomados por el analizador.
- La realización de la curva de calibración.
- La medición de las absorbancias en la muestras y en los blancos.
- La temperatura de los baños.

Teniendo en cuenta que para la mayoría de los procedimientos usados en el laboratorio clínico la desviación típica que caracteriza la imprecisión interdiaria varía dependiendo del valor del mensurando (72-74), es decir que poseen heterocedasticidad, esta estimación se ha hecho a diversos valores para cada magnitud en estudio. Se ha elegido en primer lugar el número de valores a los que se va a estimar la incertidumbre debida a la imprecisión interdiaria en cada procedimiento y el intervalo de concentraciones que abarcan. En principio

los valores podrían abarcar todo el intervalo de medida del procedimiento o bien el intervalo de utilidad clínica del mismo. Se ha elegido estudiar la imprecisión interdiaria para valores que abarcan el intervalo más amplio posible del intervalo de medida de los procedimientos ya que de esta manera se ha evitado recurrir a una valoración subjetiva para establecer cual es el intervalo de utilidad clínica de una magnitud. Como intervalo de medida se ha utilizado la información suministrada por el fabricante de los reactivos. La mayor o menor amplitud del intervalo finalmente estudiado ha dependido de la disponibilidad de muestras con los valores adecuados. Los intervalos de medida y los intervalos estudiados de los distintos procedimientos aparecen reflejados en la Tabla 3.1.

Diversos protocolos de validación de un procedimiento o de comparación entre varios recomiendan (75, 76) que los estudios de imprecisión se hagan al menos a tres concentraciones diferentes del componente. Según estos protocolos el número exacto de valores a estudiar depende del grado de heterocedasticidad del procedimiento, recomendado que al menos uno de ellos esté a valores bajos, otro a altos y otro a intermedios del intervalo de medida. En este estudio para cada procedimiento se ha estimado la imprecisión interdiaria en 7 muestras, procedentes de mezcla de sueros, de diferentes concentraciones que abarcan el intervalo más amplio posible dentro del intervalo de medida del procedimiento. Las muestras de suero utilizadas proceden de pacientes de distintos servicios de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. Para obtener las muestras se usaron tubos de vacío sin aditivos pero con una barrera de gel como separador (Vacutainer®, Becton-Dickinson, Meylan, Francia). Se excluyeron del estudio aquellas muestras con componentes interferentes que pudieran influir en la imprecisión. De esta manera se ha evitado usar en el estudio muestras que sean lipémicas, ictéricas (concentración de triglicérido y bilirrubina por encima del doble del límite superior del intervalo de referencia respectivo es decir 4,6 mmol/L (77) para la concentración de triglicérido y 58  $\mu$ mol/L (77) para la concentración de bilirrubina) o hemolíticas (apreciación macroscópica). Se ha hecho excepción lógicamente en el estudio del procedimiento de medida de la

concentración de triglicérido para las muestras lipémicas y de la concentración de bilirrubina para las muestras ictéricas.

Tabla 3.1. Intervalos de medida e intervalos de concentración estudiados para la imprecisión de las diversas magnitudes

Magnitud	Intervalo de medida	Intervalo estudiado
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.	0,07 – 6,67 $\mu$ kat/L	0,202 - 3,670 $\mu$ kat/L
Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.	0,07 – 10,00 $\mu$ kat/L	0,516 - 4,364 $\mu$ kat/L
Srm—Bilirrubina; c.sust.	1- 513 $\mu$ mol/L	4,7 - 331,8 $\mu$ mol/L
Srm—Calcio(II); c.sust.	0,05 – 4,00 mmol/L	1,305 - 3,600 mmol/L
Srm—Colesterol; c.sust.	0,1 – 20,7 mmol/L	1,19 – 13,86 mmol/L
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	0,1 – 38,4 $\mu$ kat/L	2,41 – 19,24 $\mu$ kat/L
Srm—Creatinino; c.sust.	9 – 2210 $\mu$ mol/L	44,5 – 900,0 $\mu$ mol/L
Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)	15,0 – 800,0 $\mu$ g/L	21,27 – 503,33 $\mu$ g/L
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.	0,1 – 33,3 $\mu$ kat/L	1,01 – 28,21 $\mu$ kat/L
Srm—Fosfato; c.sust.	0,10 – 6,46 mmol/L	0,290 – 4,130 mmol/L
Srm—Glucosa; c.sust.	0,1 – 25,0 mmol/L	1,58 – 23,28 mmol/L
Srm—Hierro; c.sust.	1 – 179 $\mu$ mol/L	5,8 – 41,7 $\mu$ mol/L
Srm—Ion potasio; c.sust.	1,5 – 10,0 mmol/L	3,39 – 6,67 mmol/L
Srm—Ion sodio; c.sust.	80 –180 mmol/L	130,0- 154,3 mmol/L
Srm—Proteína ; c.masa	1 – 150 g/L	40,3 – 119,9 g/L
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP 80/558)	0,01 – 100,00 mint.u/L	0,410–53,700 mint.u/L
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	0,3-100,0 pmol/L	4,88 –91,19 pmol/L
Srm—Triglicérido; c.sust.	0,05 – 11,40 mmol/L	1,150 – 7,750 mmol/L
Srm—Triyodotironina; c.sust.	0,30–10,00 nmol/L	0,667 – 9,260 nmol/L
Srm—Urato; c.sust.	12- 1487 $\mu$ mol/L	108,3 –634,2 $\mu$ mol/L
Srm—Urea; c.sust.	0,8- 66,6 mmol/L	1,70 –49,03 mmol/L

Para realizar las mezclas se escogieron muestras de concentración similar a la de la mezcla que se quiere obtener (las muestras habían sido analizadas con el mismo procedimiento previamente). Una vez elegidas estas muestras se mezclaron en las proporciones adecuadas en un vaso de precipitados de vidrio de 50 mL de capacidad con la ayuda de un agitador de varilla hasta obtener unos 20 mL de mezcla. A continuación se midió en esta mezcla la magnitud correspondiente para cerciorarse de que su valor era aproximadamente el deseado, se hicieron 25 alícuotas de cada mezcla de 0,75 mL cada una en tubos de Eppendorf de polietileno de 1 mL y se procedió a congelar las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de realizar las mediciones. Las muestras utilizadas en un proceso de estimación de la desviación típica interdiaria deben de permanecer estables durante los días que dura el experimento. Este estudio se hizo en magnitudes para las que se sabe que su periodo de estabilidad a  $-20^{\circ}\text{C}$  (39, 78) es superior al tiempo que han de estar almacenadas. En la tabla 3.2. se recogen los periodos de estabilidad de las muestras conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  .

Los materiales de control fueron analizados previamente a las mezclas de sueros y el resultado obtenido en cada uno de ellos se comparó con su intervalo de control. Como criterio de validación de las series metrológicas se ha usado la regla de las 2 desviaciones típicas. La media y la desviación típica aplicada a los materiales de controles han sido obtenidas en el propio laboratorio. Una vez validada la serie de medida se procedió a realizar las mediciones. Para ello se descongelaron las muestras, 7 para cada magnitud, a temperatura ambiente y se homogeneizaron en un agitador procediéndose a continuación a su medición. Las muestras fueron analizadas una vez al día durante 20 días consecutivos.

Tabla 3.2. Periodo de estabilidad de las distintas magnitudes a  $-20^{\circ}\text{C}$

Magnitud	Estabilidad a $-20^{\circ}\text{C}$
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.	3 meses
Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.	12 semanas
Srm—Bilirrubina; c.sust.	6 meses
Srm—Calcio(II); c.sut.	8 meses
Srm—Colesterol; c.sust.	3 meses
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	4 semanas
Srm—Creatininio; c.sust.	3 meses
Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)	1 año
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.	2 meses
Srm—Fosfato; c.sust.	1 año
Srm—Glucosa; c.sust.	>4 meses
Srm—Hierro; c.sust.	Varios años
Srm—Ion potasio; c.sust.	1 año
Srm—Ion sodio; c.sust.	1 año
Srm—Proteína ; c.masa	Años
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP 80/558)	3 meses
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	3 meses
Srm—Triyodotironina; c.sust.	3 meses
Srm—Triglicérido; c.sust.	Años
Srm—Urato; c.sust.	6 meses
Srm—Urea; c.sust.	1 año

Tras realizarse las mediciones se investigó la presencia de posibles resultados aberrantes obtenidos mediante la prueba estadística de Dixon (79). Una vez identificados estos valores se procedió a su eliminación y con el resto se calculó la desviación típica y variancia experimental. La desviación típica ha sido calculada de la siguiente manera (30):

$$s = \sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 / n-1}$$

donde  $x_i$  es el resultado de una medición,  $\bar{x}$  la media del conjunto de las mediciones y  $n$  el número de mediciones a partir de las cuales se calcula la desviación típica.

De esta manera se ha calculado la imprecisión interdiaria a unos valores determinados de la magnitud. Sin embargo para poder asignar la incertidumbre metrológica a cualquier valor del mensurando es necesario diseñar un modelo que permita asignar a cada resultado su incertidumbre metrológica asociada. Para conseguir este objetivo es necesario establecer que relación existe entre las dos variables definidas, es decir entre la concentración del componente medido y la desviación típica o variancia interdiaria estimada a esa concentración. Se desea en definitiva saber cual es la función matemática que mejor se ajusta a los puntos definidos por ambas variables.

Cualquier relación matemática entre dos variables puede ser siempre definida como una función general  $y = f(x)$  siendo en el caso que nos afecta  $x$  la variable independiente la concentración del componente en estudio, e  $y$  la variable dependiente la desviación típica o la variancia correspondiente a la imprecisión interdiaria. Las relaciones matemáticas entre dos variables pueden adoptar múltiples formas bajo esta definición general  $y = f(x)$ , siendo la más sencilla la línea recta definida por la ecuación  $y = a + bx$ .

Para hallar cual es la función que relaciona dos variables es necesario aplicar una prueba estadística de regresión, que en el caso más sencillo de una línea recta se puede hacer mediante una regresión lineal simple basada en un ajuste de mínimos cuadrados. No obstante existen otros modelos de regresión curvilíneas que también pueden ser aplicados. En un estudio de regresión suele ser conveniente dibujar en primer lugar los diversos puntos definidos por ambas variables o el polinomio resultante de la unión de dichos puntos. Esta

representación puede proporcionar una primera información de cual es el tipo de relación que existe entre ambas variables. El uso de programas estadísticos que incorporan diversos procedimientos de regresión curvilínea puede facilitar también la labor de estimar de cual es la mejor función de ajuste.

En este trabajo se ha utilizado el programa desarrollado por Sadler y colaboradores (80-82) Variance Function Program Versión 2.0, basado en el método de máxima similitud condicional aproximada, para estimar la función que relaciona a ambas variables. Es un programa que está diseñado específicamente para facilitar la introducción y manejo de datos para la estimación y dibujo de la relación entre la variancia metrológica de un procedimiento y el valor al que se ha estimado la variancia. La función estimada por este programa está en todos los casos basada en la función de tres parámetros  $s_M^2 = (\beta_1 + \beta_2 \cdot c)^j$ , siendo  $s_M^2$  la variancia correspondiente a la imprecisión interdiaria,  $c$  la concentración de la magnitud y  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $j$  los parámetros que definen la función. La función de tres parámetros tiene múltiples aplicaciones, pero la que interesa en este trabajo es en el campo del cálculo de las funciones de variancia y los perfiles de imprecisión de un procedimiento. Este programa permite incorporar asimismo en las gráficas los intervalos de confianza y el grado de confianza deseado de la función estimada. El tamaño de estos intervalos de confianza es una medida indirecta de la confianza que se puede tener en que la función de variancia estimada sea un buen estimador de la verdadera relación subyacente que existe entre ambas variables. Una vez obtenida la función de relación entre la concentración y la variancia es posible obtener también la gráfica que las relaciona. También es posible obtener las gráficas que relacionan la concentración y el coeficiente de variación y las que relacionan la concentración y la desviación típica. Mediante el uso de estas funciones que establecen la relación entre la concentración y la variancia es posible asignar a cada resultado la incertidumbre causada por la imprecisión del procedimiento.

Como ya se ha comentado, en muchos laboratorios clínicos la estimación de la

incertidumbre típica debida a la imprecisión interdiaria se hace a partir de los resultados del control interno de la calidad. Teniendo en cuenta datos previos referentes al distinto comportamiento de las muestras (83) de control comercial y la muestras sin aditivos, adicionalmente y con el fin de valorar la conveniencia de utilizar los datos del control interno para establecer la imprecisión interdiaria de un procedimiento, se ha estudiado la intercambiabilidad de la imprecisión interdiaria entre ambos tipos de materiales para la diversas magnitudes estudiadas. Para ello se compararon, usando la  $F$  de Snedecor (34) con un nivel de significación de 0,05, los pares de variancias correspondientes a los resultados obtenidos con los materiales de control y con las mezclas de suero de concentraciones similares.

### 3.3.3. Incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores

Una parte fundamental de la medición de una magnitud es la calibración del procedimiento que permite transforma la señal que se mide en las unidades de la magnitud. La calibración requiere la existencia de un calibrador que posea un valor específico del mensurando. Para que una medida sea correcta el valor del calibrador debería ser trazable a una unidad del sistema internacional (40). La trazabilidad es la propiedad del resultado de una medición, o del valor de un calibrador, de estar relacionado con un calibrador primario u otro material de referencia. Esta relación se establece a través de una cadena ininterrumpida de calibraciones, cada una con una incertidumbre asociada.

La Organización Internacional de Normalización (40) define material de referencia como aquel material o sustancia del que una o más magnitudes son lo suficientemente homogéneas y bien establecidas como para ser utilizadas en la calibración de instrumentos, en la evaluación de procedimientos o en la atribución de valores a otros materiales. Se pueden distinguir en principio dos tipos de materiales de referencia:

-Materiales de referencia primarios: son aquellos materiales homogéneos,

estables de los que se han determinado experimentalmente una o mas propiedades físicas o química con una incertidumbre bien definida. Los valores de estas propiedades se determinan con procedimientos que poseen un error sistemático nulo bien con varios procedimientos independientes de gran exactitud.

-Materiales de referencia secundarios son soluciones de sustancias puras en agua, solventes orgánicos o sistemas biológicos complejos que se pueden preparar en el laboratorio o adquirir comercialmente y que se emplean en la calibración de los procedimientos analíticos.

En el campo del laboratorio clínico a menudo es difícil obtener calibradores que sean trazable a un material de referencia primarios ya que estos han de estar relacionados con la unidad de la magnitud, para lo que se debe contar con métodos de medida lo más absolutos posibles y se debe disponer de la sustancia que se mide en un elevado grado de pureza. En el caso de los materiales de referencia certificados el organismo suministrador proporciona un valor de la incertidumbre asociada a su valoración y un valor de factor de cobertura  $k$  que generalmente es 2 (se asume una distribución normal con un grado de confianza del 95%).

En el caso de un calibrador fabricado en el propio laboratorio, del cual se posee información sobre su procedimiento de fabricación, para la estimación de la incertidumbre asociada a la valoración de los mismos se debe tener en cuenta las incertidumbres de los distintos procesos relacionados con el proceso de fabricación del calibrador: del establecimiento de las masas molares de la sustancia, de la pesada de la sustancia, de la pureza de la sustancia, del volumen de la disolución, etc.

En aquellos casos en los que los calibradores son suministrados por un fabricante es deseable que éste ofrezca siempre información sobre los siguientes aspectos:

- Sobre la trazabilidad que posee el material de calibración con respecto a los

posibles materiales de referencia existentes.

- Sobre como se realizó la valoración del material de calibración.
- Sobre cual es la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores.

Así si el fabricante informa de la incertidumbre típica relativa asociada a la valoración del calibrador  $u_{\text{Rel Cal}}$ , si se supone que el valor de este componente de incertidumbre es dependiente del valor del mensurando y si se supone también que esta incertidumbre relativa es constante en todo el intervalo de concentraciones aplicable, para estimar el efecto de esta incertidumbre sobre un valor particular de una medición,  $u_{\text{Cal}}$ , sólo es necesario multiplicar el valor obtenido en la medición,  $x_i$ , por la incertidumbre típica relativa:

$$u_{\text{Cal}} = u_{\text{Rel Cal}} \cdot x_i$$

En el caso de que los calibradores posean trazabilidad respecto a un material de referencia certificado del Sistema Internacional, si se posee la incertidumbre asociada a la valoración este material de referencia, para saber cual es la incertidumbre total asociada a la valoración de los calibradores sería necesario conocer dos componentes de incertidumbre:

- La incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores (patrón secundario) respecto al material de referencia (patrón primario),  $u_{\text{Ref sec}}$
- La incertidumbre asociada a la propia valoración del material de referencia (patrón primario)  $u_{\text{Ref pri}}$ .

Para calcular la incertidumbre asociada a la valoración de este tipo de calibradores se tiene que combinar las incertidumbres típicas asociadas a estos dos componentes:

$$u_{\text{Cal}} = (u_{\text{Ref sec}}^2 + u_{\text{Ref pri}}^2)^{0,5}$$

Se supone, por otro lado, que en los casos estudiados no hay falta de intercambiabilidad de los calibradores con las muestras séricas en las que se hacen las mediciones y que por tanto no es un componente de incertidumbre a

tener en cuenta. En el caso de que se sospechase que existe una falta de intercambiabilidad de los calibradores, ésta debería incluirse en el estudio de la incertidumbre.

El estudio de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores se ha hecho mediante una evaluación de tipo B en la que se ha utilizado los datos aportados por el fabricante de los calibradores.

Por tanto se solicitó al fabricante de los calibradores la información de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores siguientes:

Calibrador CFAS, calibrador CFAS proteínas, calibradores alto, bajo y Compensador de iones, calibrador TSH, calibrador FT4 CalSet, calibrador T3 CalSet. De todos estos calibradores poseen trazabilidad respecto a un material de referencia internacional los siguientes:

El Calibrador TSH posee trazabilidad respecto al segundo calibrador de referencia IRP 80/558 de la Organización Mundial de la Salud.

El Calibrador CFAS proteínas posee trazabilidad respecto al material de referencia CRM 470.

En estos casos se debería incluir también, por tanto, la incertidumbre asociada a la valoración de estos materiales de referencia.

#### 3.3.4. Incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes

Una interferencia analítica es el error sistemático producido, por un componente distinto al que se quiere medir, en un procedimiento de medida. La cuantía de la interferencia depende frecuentemente de la concentración de la sustancia interferente y algunas veces de la concentración de la sustancia a medir (1). Las muestras en las que se realizan las mediciones en el laboratorio clínico son muestras complejas que contienen un gran número de componentes, alguno de los cuales es posible que generen una interferencia. En general teniendo en cuenta las características de los sistemas de medida

que habitualmente son empleados en los laboratorios clínicos los estudios de interferencias deberían ser realizados por las empresas fabricantes de los reactivos o de los analizadores. Los usuarios sólo deberían estudiar las interferencias de procedimientos en los que se ha producido una modificación sustancial del mismo. En general no se deben considerar como sustancia interferente a aquellos compuestos que teniendo en cuenta sus propiedades físicas o químicas no se sospeche que pueden interferir en un procedimiento de medida.

Por todo esto para evaluar la incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes se ha tenido en cuenta la información incluida en los equipos de reactivos. El criterio que establece el fabricante para aceptar que una magnitud influyente no produce interferencia es en todos los casos que la posible magnitud interferente endógena no altere el valor del mensurando en  $\pm 10\%$ . En principio el fabricante estudió el posible efecto de tres de las magnitudes interferentes endógenas que más frecuentemente afectan a los procedimientos de medida del laboratorio clínico: la concentración de bilirrubina, la concentración de hemoglobina y la concentración de triglicérido. Además se estudió en determinadas magnitudes el efecto particular que producen otros constituyentes sospechosos de producir interferencias en estos procedimientos.

### 3.3.5. Cálculo de la incertidumbre típica combinada y de la incertidumbre expandida

A continuación se ha procedido al cálculo de la incertidumbre típica combinada  $u_c$  asociada a los resultados, que ha sido obtenida a partir de las incertidumbres de los diversos componentes individuales de incertidumbre estudiados. Teniendo en cuenta el modelo de función usado para el procedimiento, el valor numérico de su incertidumbre combinada es igual a la raíz cuadrada positiva de la suma de las variancias de los componentes individuales de incertidumbre. Para su cálculo se ha tenido en cuenta las

incertidumbres correspondientes a los componentes de la fase premetroológica, metrológica, de la valoración de los calibradores y de la debida a las magnitudes influyentes:

$$u_c = (u_{PM}^2 + u_M^2 + u_{Cal}^2 + u_{Int}^2)^{0,5}$$

Finalmente se ha calculado la incertidumbre expandida  $U$  multiplicando la incertidumbre típica combinada  $u_c$  por un factor de cobertura  $k$ :

$$U = k u_c$$

para elegir un valor del factor  $k$  se ha supuesto que la distribución de valores es aproximadamente normal de manera que para  $k=2$  se obtiene un intervalo con un grado de confianza de aproximadamente el 95% y para  $k=3$  se obtiene un intervalo con un grado de confianza de aproximadamente un 99%. En este trabajo se ha utilizado un valor de  $k=2$  y por tanto un intervalo de confianza del 95%.

## 4. Resultados

### 4.1. Resultados de los componentes individuales de la incertidumbre evaluados

A continuación se exponen los resultados correspondientes a los componentes de la incertidumbre que han sido evaluados en este trabajo, que son el producido por la variabilidad premetrológica y el producido por la variabilidad metrológica, para los que se ha utilizado una evaluación de tipo A, y el relacionado con la valoración de los calibradores y el producido por las magnitudes influyentes para los que se ha utilizado una evaluación de tipo B.

#### 4.1.1. Resultados de la incertidumbre debida a la variabilidad premetrológica

Para el cálculo de la incertidumbre típica debida a la variabilidad premetrológica se ha estimado previamente la variancia global  $s_G^2$  del experimento realizado. La variancia global es la suma de la variancia metrológica intraserial ocurrida durante el mismo y de la premetrológica. De esta manera los resultados de la incertidumbre debido a la variabilidad premetrológica del procedimiento expresados como variancia premetrológica,  $s_{PM}^2$ , fueron obtenidos al restar a la variancia global la variancia correspondiente a la variabilidad metrológica intraserial  $s_{ID}^2$ . Para ello la variancia metrológica intraserial ha sido calculada a partir de las diferencias entre las mediciones repetidas de la magnitud en una de las muestras extraídas en cada paciente. Los resultados de los coeficientes de variación metrológico intraserial y premetrológico y de la variancia premetrológica se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Valores medios de las muestras usadas para el estudio de la incertidumbre premetroológica, coeficientes de variación metrológico intraserial y premetroológico y variancia premetroológica

Magnitud	Concentración Media	CV <sub>ID</sub> (%)	CV <sub>PM</sub> (%)	S <sub>PM</sub> <sup>2</sup>
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.	0,450 ukat/L	3,2	1,4	0,00004
Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.	0,350 ukat/L	2,3	3,4	0,0001
Srm—Bilirrubina; c.sust.	9,3 μmol/L	3,2	4,2	0,1520
Srm—Calcio(II); c.sut.	2,510 mmol/L	1,2	0,7	0,0003
Srm—Colesterol; c.sust.	5,75 mmol/L	1,9	1,2	0,0047
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	1,34 μkat/L	1,5	3,4	0,0021
Srm—Creatinino; c.sust.	88,6 μmol/L	1,7	2,3	4,1400
Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)	110,80 μg/L	8,1	0,0	0,0000
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.	0,92 μkat/L	3,2	3,4	0,001
Srm—Fosfato; c.sust.	1,340 mmol/L	1,7	2,0	0,0007
Srm—Glucosa; c.sust.	5,20 mmol/L	2,1	3,2	0,0276
Srm—Hierro; c.sust.	19,6 μmol/L	2,1	0,0	0,0000
Srm—Ion potasio; c.sust.	4,30 mmol/L	0,9	3,1	0,0177
Srm—Ion sodio; c.sust.	141,7mmol/L	0,9	0,4	0,3212
Srm—Proteína ; c.masa	74,5 g/L	1,0	2,0	2,2209
Srm—Tirotropina; c.sust.arb. IRP 80/558)	2,000 mint.u/L	2,75	2,7	0,0022
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	18,28 pmol/L	2,91	0,9	0,0250
Srm—Triglicérido; c.sust.	1,300 mmol/L	4,1	1,2	0,0002
Srm—Triyodotironina; c.sust.	1,850 nmol/L	3,83	0,6	0,0010
Srm—Urato; c.sust.	338,3 μmol/L	1,5	0,8	7,3240
Srm—Urea; c.sust.	6,21 mmol/L	2,3	0,0	0,0000

#### 4.1.2. Resultados de la incertidumbre producida por la variabilidad metrológica

Para el cálculo de la incertidumbre producida por la variabilidad metrológica se ha tenido en cuenta que para la mayoría de los procedimientos de medida usados en el laboratorio clínico esta variabilidad tiene un comportamiento heterocedástico. Por este motivo se ha estimado cual es la ecuación matemática que mejor define la relación entre la concentración del componente y la variancia o el coeficiente de variación correspondiente a su imprecisión interdiaria. Para ello en primer lugar se ha calculado la desviación típica debida a la imprecisión interdiaria a diversas concentraciones del componente, concentraciones que abarcan el intervalo más amplio posible de los procedimientos estudiados. A continuación se han introducido estos resultados en la base de datos del programa estadístico Variance function program 2.0 y se ha obtenido la función de la variancia ( $s_M^2 = (\beta_1 + \beta_2 \cdot X)^j$ ) correspondiente a la imprecisión interdiaria, que es aquella función de ajuste que relaciona dicha variancia con la concentración del componente, de manera que con esta ecuación se pueda asignar a cada resultado de una medición la incertidumbre producida por la imprecisión interdiaria del procedimiento. En las tablas 4.2. a 4.8. se muestran los resultados de los coeficientes de variación correspondientes a la imprecisión interdiaria para las distintas mezclas de suero y controles junto a los valores de los parámetros  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $j$  que definen las funciones de variancia correspondientes a las distintas magnitudes. En las gráficas 4.1 a 4.21 se muestran las funciones de variancia y los perfiles de imprecisión, junto a sus intervalos de confianza del 95 %, correspondientes a los procedimientos estudiados.

Tabla 4.2. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	j
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat. [ $\mu\text{kat/L}$ ]	Mezcla 1	0,202	9,85	0,05257	0,08483	2,92684
	Mezcla 2	0,846	5,43			
	Mezcla 3	1,106	6,39			
	Mezcla 4	1,540	4,79			
	Mezcla 5	2,659	5,10			
	Mezcla 6	2,932	5,64			
	Mezcla 7	3,669	6,92			
	Control 1	0,580	2,20			
	Control 2	1,700	1,10			
Srm—Aspartato-aminotransferasa;c.cat. [ $\mu\text{kat/L}$ ]	Mezcla 1	0,516	4,07	-0,00569	0,02493	1,56405
	Mezcla 2	1,051	4,49			
	Mezcla 3	1,468	4,86			
	Mezcla 4	2,061	3,70			
	Mezcla 5	2,730	4,51			
	Mezcla 6	3,656	3,88			
	Mezcla 7	4,364	3,93			
	Control 1	0,580	2,30			
	Control 2	3,330	1,00			
Srm—Bilirrubina; c.sust. [ $\mu\text{mol/L}$ ]	Mezcla 1	4,7	10,00	0,91428	0,00211	7,75985
	Mezcla 2	29,5	4,28			
	Mezcla 3	83,5	1,56			
	Mezcla 4	119,7	1,39			
	Mezcla 5	198,2	1,38			
	Mezcla 6	265,3	1,89			
	Mezcla 7	331,8	1,92			
	Control 1	16,1	1,90			
	Control 2	87,2	1,00			

Tabla 4.3. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	j
Srm—Calcio(II); c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	1,305	2,35	20,63292	-3,76992	-2,54090
	Mezcla 2	1,549	2,03			
	Mezcla 3	2,099	1,86			
	Mezcla 4	2,435	1,93			
	Mezcla 5	2,677	1,94			
	Mezcla 6	3,115	1,86			
	Mezcla 7	3,600	2,36			
	Control 1	1,950	0,70			
	Control 2	3,020	0,70			
Srm—Colesterol; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	1,19	2,35	0,13601	0,02183	3,95033
	Mezcla 2	3,01	1,43			
	Mezcla 3	5,33	1,01			
	Mezcla 4	7,29	1,33			
	Mezcla 5	9,39	1,34			
	Mezcla 6	11,65	1,47			
	Mezcla 7	13,86	1,25			
	Control 1	3,40	1,30			
	Control 2	16,04	1,50			
Srm—Creatina-cinasa; c.cat. [ $\mu$ kat/L]	Mezcla 1	2,41	2,62	-0,00974	0,00532	0,95387
	Mezcla 2	4,24	2,97			
	Mezcla 3	5,31	2,98			
	Mezcla 4	7,79	2,50			
	Mezcla 5	12,01	1,70			
	Mezcla 6	14,89	1,80			
	Mezcla 7	19,24	1,89			
	Control 1	3,04	0,90			
	Control 2	8,92	1,40			

Tabla 4.4. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	j
Srm—Creatinino; c.sust. [ $\mu\text{mol/L}$ ]	Mezcla 1	44,5	3,62	1,16475	0,00975	2,41710
	Mezcla 2	90,0	2,77			
	Mezcla 3	124,6	2,51			
	Mezcla 4	180,9	2,14			
	Mezcla 5	307,0	1,51			
	Mezcla 6	592,4	1,71			
	Mezcla 7	900,0	1,88			
	Control 1	163,0	1,50			
	Control 2	512,0	1,20			
Srm—Ferritina; c.masa (CRM470) [ $\mu\text{g/L}$ ]	Mezcla 1	21,27	9,47	1,32174	0,06833	1,39767
	Mezcla 2	53,42	5,87			
	Mezcla 3	89,11	4,48			
	Mezcla 4	136,74	4,12			
	Mezcla 5	215,10	3,03			
	Mezcla 6	326,50	2,54			
	Mezcla 7	503,33	2,59			
	Control 1	61,40	8,90			
	Control 2	338,70	8,40			
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat. [ $\mu\text{kat/L}$ ]	Mezcla 1	1,01	3,05	0,00241	0,01205	1,62487
	Mezcla 2	3,01	2,82			
	Mezcla 3	4,99	1,94			
	Mezcla 4	7,54	1,74			
	Mezcla 5	13,78	1,47			
	Mezcla 6	22,51	1,64			
	Mezcla 7	28,21	1,58			
	Control 1	1,34	4,50			
	Control 2	4,95	1,53			

Tabla 4.5. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	J
Srm—Fosfato; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	0,290	4,66	0,00053	-0,14999	0,53515
	Mezcla 2	0,619	3,20			
	Mezcla 3	0,974	2,18			
	Mezcla 4	1,446	1,77			
	Mezcla 5	2,470	1,06			
	Mezcla 6	2,975	0,94			
	Mezcla 7	4,130	0,90			
	Control 1	0,820	1,40			
	Control 2	2,520	1,10			
Srm—Glucosa; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	1,58	4,06	0,02770	0,02438	2,03308
	Mezcla 2	4,43	2,73			
	Mezcla 3	7,01	3,01			
	Mezcla 4	10,96	2,53			
	Mezcla 5	15,19	2,58			
	Mezcla 6	18,33	2,66			
	Mezcla 7	23,28	2,46			
	Control 1	4,57	1,50			
	Control 2	16,04	1,50			
Srm—Hierro; c.sust. [ $\mu$ mol/L]	Mezcla 1	5,8	5,85	0,08788	0,03453	1,75255
	Mezcla 2	9,3	4,67			
	Mezcla 3	13,3	4,75			
	Mezcla 4	22,0	3,74			
	Mezcla 5	29,0	3,84			
	Mezcla 6	35,2	3,39			
	Mezcla 7	41,7	3,59			
	Control 1	39,6	4,37			
	Control 2	12,1	4,59			

Tabla 4.6. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	j
Srm—Ion potasio; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	3,39	1,24	0,00152	6,67048	-0,09487
	Mezcla 2	4,04	0,87			
	Mezcla 3	4,54	0,81			
	Mezcla 4	5,04	0,69			
	Mezcla 5	5,56	0,59			
	Mezcla 6	6,00	0,75			
	Mezcla 7	6,67	0,84			
	Control 1	3,66	1,16			
	Control 2	6,25	0,84			
Srm—Ion sodio; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	130,0	0,61	1,64564	-0,00450	-8,97575
	Mezcla 2	133,9	0,63			
	Mezcla 3	137,0	0,55			
	Mezcla 4	138,7	0,65			
	Mezcla 5	141,4	0,69			
	Mezcla 6	145,7	0,77			
	Mezcla 7	154,3	0,79			
	Control 1	121,8	0,92			
	Control 2	142,7	0,93			
Srm—Proteína; c.masa [g/L]	Mezcla 1	40,3	1,44	0,73692	0,00305	7,85637
	Mezcla 2	53,0	1,26			
	Mezcla 3	59,2	1,06			
	Mezcla 4	73,2	1,00			
	Mezcla 5	81,7	1,30			
	Mezcla 6	91,7	1,27			
	Mezcla 7	119,9	1,16			
	Control 1	40,8	1,30			
	Control 2	60,3	1,10			

Tabla 4.7. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV(%)	$\beta_1$	$\beta_2$	j
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP80/558) [mint.u/L]	Mezcla 1	0,414	6,76	0,00153	0,07611	2,08785
	Mezcla 2	1,426	7,50			
	Mezcla 3	3,360	6,96			
	Mezcla 4	8,101	7,33			
	Mezcla 5	11,660	7,35			
	Mezcla 6	23,970	7,67			
	Mezcla 7	53,700	8,45			
Srm—Tiroxina libre; c.sust. [pmol/L]	Control 1	8,500	7,00	0,22585	0,03599	2,71051
	Mezcla 1	4,88	5,96			
	Mezcla 2	15,92	4,33			
	Mezcla 3	25,07	5,38			
	Mezcla 4	32,04	4,45			
	Mezcla 5	49,51	5,36			
	Mezcla 6	70,67	4,66			
	Mezcla 7	91,19	6,60			
	Control 1	20,00	3,90			
Control 2	36,00	4,70				
Srm—Triglicérido; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	1,150	1,81	0,33576	0,04267	8,29040
	Mezcla 2	2,230	0,99			
	Mezcla 3	3,260	1,54			
	Mezcla 4	4,330	1,66			
	Mezcla 5	5,850	1,91			
	Mezcla 6	6,950	1,90			
	Mezcla 7	7,750	2,49			
	Control 1	1,280	1,50			
	Control 2	2,760	1,60			

Tabla 4.8. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control y parámetros de la función de variancia.

Magnitud	Muestras	Concentración	CV	$\beta_1$	$\beta_2$	J
Srm—Triyodotironina; c.sust. [nmol/L]	Mezcla 1	0,667	18,14	1,80206	-0,06121	-7,15382
	Mezcla 2	1,637	9,47			
	Mezcla 3	2,508	7,16			
	Mezcla 4	4,345	5,11			
	Mezcla 5	5,410	4,58			
	Mezcla 6	7,514	4,21			
	Mezcla 7	9,262	5,31			
	Control 1	2,200	6,30			
	Control 2	6,100	3,10			
Srm—Urato c.sust. [ $\mu$ mol/L]	Mezcla 1	108,4	2,78	0,92300	0,01520	2,37630
	Mezcla 2	205,2	2,57			
	Mezcla 3	259,1	2,80			
	Mezcla 4	418,3	2,33			
	Mezcla 5	469,4	2,26			
	Mezcla 6	562,1	2,52			
	Mezcla 7	634,2	2,87			
	Control 1	288,0	3,70			
	Control 2	668,0	2,72			
Srm—Urea; c.sust. [mmol/L]	Mezcla 1	1,70	6,59	0,18021	0,02152	2,83076
	Mezcla 2	6,17	3,37			
	Mezcla 3	15,43	2,24			
	Mezcla 4	22,91	2,45			
	Mezcla 5	31,73	2,81			
	Mezcla 6	44,70	2,66			
	Mezcla 7	49,03	2,69			
	Control 1	6,20	2,40			
	Control 2	17,70	1,40			

En las tablas 4.9 y 4.10 se muestran los valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control de parecido valor y la probabilidad de rechazar correctamente la hipótesis nula, de intercambiabilidad entre los resultados de imprecisión, con la prueba estadística  $F$  de Snedecor ( $\alpha = 0.05$ ) (34)

Tabla 4.9. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control de parecida concentración y probabilidad de rechazar correctamente la hipótesis nula (intercambiabilidad) con la prueba  $F$  de Snedecor ( $\alpha = 0.05$ ).

Magnitud	Mezclas de suero	Valor medio	CV (%)	Material de control	Valor medio	CV (%)	$F$ -Snedecor
Srm—Alanina-aminotrasferasa; c.cat.	1	0,85	5,4	1	0,58	2,2	$P < 0,01$
	2	1,54	4,8	2	1,70	1,1	$P < 0,01$
Srm—Aspartato-aminotrasferasa;c. cat.	1	0,52	4,1	1	0,58	2,3	NS
	2	3,65	3,9	2	3,33	1,0	$P < 0,01$
Srm—Bilirrubina; c.sust.	1	29,5	4,3	1	16,1	1,9	$P < 0,01$
	2	119,7	1,4	2	87,2	1,0	$P < 0,01$
Srm—Calcio(II); c.sust	1	2,10	1,9	1	1,95	0,7	$P < 0,01$
	2	3,12	1,9	2	3,02	0,7	$P < 0,01$
Srm—Colesterol; c.sust.	1	3,01	1,4	1	3,40	1,3	NS
	2	13,86	1,25	2	16,04	1,5	NS
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	1	2,41	2,6	1	3,04	0,9	$P < 0,01$
	2	7,79	2,5	2	8,92	1,4	$P < 0,05$
Srm—Creatinino; c.sust.	1	181	2,1	1	163	1,5	$P < 0,05$
	2	592	1,7	2	512	1,2	$P < 0,01$
Srm—Ferritina; c.masa(CRM 470)	1	53,4	5,9	1	61,4	8,9	$P < 0,05$
	2	326,5	2,5	2	338,7	8,4	$P < 0,01$
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.	1	1,01	3,1	1	1,34	4,5	NS
	2	4,99	1,9	2	4,95	1,5	NS
Srm—Fosfato; c.sust.	1	0,97	2,2	1	0,82	1,4	NS
	2	2,97	0,9	2	2,52	1,1	NS

NS = no significativo.

Tabla 4.10. Valores medios y coeficientes de variación observados en las mezclas de suero y materiales de control de parecida concentración y probabilidad de rechazar correctamente la hipótesis nula (intercambiabilidad) con la prueba  $F$  de Snedecor ( $\alpha = 0.05$ ).

Magnitud	Mezclas de suero	Valor medio	CV (%)	Material de control	Valor medio	CV (%)	$F$ -Snedecor
Srm—Glucosa; c.sust.	1	4,43	2,7	1	4,57	1,5	P < 0,05
	2	15,19	2,6	2	16,04	1,5	P < 0,05
Srm—Hierro; c.sust.	1	41,7	3,6	1	39,60	4,4	NS
	2	13,3	4,8	2	12,13	4,6	NS
Srm—Ion potasio; c.sust.	1	3,39	1,2	1	3,66	1,2	NS
	2	6,00	0,7	2	6,25	0,8	NS
Srm—Ion sodio; c.sust.	1	130,0	0,6	1	121,8	1,2	P < 0,05
	2	141,4	0,7	2	142,7	1,3	P < 0,05
Srm—Proteína; c.masa	1	40,3	1,4	1	40,8	1,3	P < 0,05
	2	59,2	1,1	2	60,3	1,1	NS
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP80/558)	1	8,1	7,3	1	8,5	7,0	NS
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	1	16	4,3	1	20	3,9	NS
	2	32	4,5	2	36	4,7	NS
Srm—Triglicérido; c.sust.	1	2,23	1,0	1	1,28	1,5	NS
	2	3,26	1,5	2	2,76	1,6	NS
Srm—Triyodotironina; c.sust.	1	2,5	5,1	1	2,2	6,3	NS
	2	5,4	4,6	2	6,1	3,1	NS
Srm—Urato; c.sust.	1	259,7	2,8	1	288,0	3,7	NS
	2	634,5	2,9	2	668,1	2,7	NS
Srm—Urea; c.sust.	1	6,2	3,4	1	6,2	2,4	NS
	2	15,4	2,2	2	17,7	1,4	NS

NS=no significativo.

#### 4.1.3. Resultados de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores

Para la evaluación de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores se propuso utilizar una evaluación de tipo B para la que se solicitó estos datos al fabricante de los calibradores.

El fabricante de los calibradores respondió de manera negativa a esta petición alegando que ésta era una información reservada y de uso interno de la empresa, y por tanto no fue posible incorporar los resultados de la incertidumbre en la valoración de los calibradores al cálculo de la incertidumbre típica combinada final.

#### 4.1.4. Resultados de la incertidumbre asociada al efecto de las magnitudes influyentes

Para la estimación de la incertidumbre producida por las magnitudes influyentes se ha utilizado la información suministrada por el fabricante de los reactivos. El fabricante de los equipos de reactivos informa del efecto de ciertas magnitudes influyentes en los resultados obtenidos con sus procedimientos.

El criterio que usa el fabricante para decidir la significación de la interferencia es, para todas las magnitudes estudiadas, que el cambio producido por la magnitud influyente sea superior a  $\pm 10\%$  del valor del mensurando. Por tanto establece que si una magnitud influyente en concreto no produce interferencia esto significa que la influencia sobre el mensurando no es superior a  $\pm 10\%$ . Esta información se refiere al efecto que se puede producir cuando la magnitud influyente está en un intervalo de concentración determinado. Los intervalos de concentración de las magnitudes interferentes estudiados junto al efecto que producen en los resultados del mensurando aparecen recogidos en las Tablas 4.11. y 4.12.. Esto significa que, por ejemplo, para la medición de la

concentración catalítica de alanina-aminotransferasa si la concentración de bilirrubina es inferior a 1026  $\mu\text{mol/L}$ , la concentración de hemoglobina inferior a 3,0 g/L y la de triglicéridos inferior a 11,40 mmol/L, el efecto de cada una de estas magnitudes sobre el mensurando es inferior a  $\pm 10\%$ .

Para estimar la incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes es necesario, cuando se usa esta clase de información, establecer el tipo de distribución que se le supone a estos datos. Aunque el criterio para decidir la significación de la interferencia se presenta como un intervalo simétrico  $\pm 10\%$ , los cambios en el valor de un mensurando que puede producir una de estas magnitudes en concreto estarán en el intervalo de  $[-10, 0\%]$  o bien entre  $[0, 10\%]$ . Como según este criterio se establece que no existe interferencia es más probable que no actúe la magnitud influyente endógena que no el contrario y por tanto el efecto de una posible magnitud influyente estará más cerca de 0 que de 10 o  $-10\%$ . En estos casos los errores que puede producir una magnitud interferente siguen una distribución triangular rectángulo por lo que la estimación de la incertidumbre típica relativa correspondiente a una magnitud interferente será:

$$u_{\text{rel inf}} = [(b - a)^2 / 18]^{0,5}$$

donde a y b son respectivamente los límites inferior y superior del intervalo, es decir en este caso 0 y 10. El resultado obtenido con esta ecuación es una incertidumbre típica relativa y por tanto se expresa en tanto por ciento. Por tanto si se aplica esta incertidumbre típica relativa a los distintos valores del mensurando se está considerando que el efecto interferente de las magnitudes influyentes es de naturaleza multiplicativa, es decir que la interferencia es proporcional a la concentración del mensurando. De esta manera al multiplicar la incertidumbre típica relativa de una magnitud influyente por el valor del mensurando se obtiene la incertidumbre típica ocasionada por una magnitud influyente. Si finalmente se multiplica este resultado por el número de magnitudes influyentes sospechosas se obtiene la incertidumbre típica

combinada de todas las magnitudes influyentes estudiadas:

$$u_{\text{Int}} = [n \cdot (u_{\text{rel int}} \cdot x_i)^2]^{0,5}$$

$u_{\text{Int}}$  : incertidumbre típica debida a todas las magnitudes influyentes estudiadas

$n$ : número de magnitudes influyentes

$u_{\text{rel int}}$  : incertidumbre relativa de cada una de las magnitudes influyentes estudiadas

$x_i$  : concentración del mensurando

Teniendo en cuenta todo esto, si se sustituye a y b por sus valores la ecuación correspondiente a la incertidumbre típica relativa de una magnitud interferente queda:

$$u_{\text{rel Int}} = [(10 - 0)^2 / 18]^{0,5} = 2,4 \text{ (\%)}$$

Este resultado corresponde como se ha dicho a la incertidumbre típica relativa producida por una magnitud influyente y se expresa en tanto por ciento. Si se multiplica este valor por la concentración del mensurando  $x_i$  se obtiene la incertidumbre típica ocasionada por una magnitud influyente a una concentración determinada. Como actúan varias magnitudes influyentes la incertidumbre típica combinada correspondiente a todas las magnitudes influyentes estudiadas será:

$$u_{\text{Int}} = [n \cdot (u_{\text{rel Int}} \cdot x_i)^2]^{0,5} = [n \cdot (0,024 \cdot x_i)^2]^{0,5}$$

$x_i$ : concentración del mensurando

$n$ : número de magnitudes influyentes estudiadas

Tabla 4.11. Sustancias interferentes, intervalo de concentraciones de dichas sustancias y efecto sobre el mensurando

Magnitud	Sustancias interferentes	Intervalo de concentraciones	Efecto de la interferencia
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.	Bilirrubina	< 1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	< 3,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<11,4 mmol/L	<± 10%
Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	No valorado	Interfiere
	Triglicérido	<11,4 mmol/L	<± 10%
Srm—Bilirrubina; c.sust.	Hemoglobina	<3,5 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<5,7 mmol/L	<± 10%
Srm—Calcio(II); c.sust.	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<10,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Colesterol; c.sust.	Bilirrubina	<427 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<7,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<28,5 mmol/L	<± 10%
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<2,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Creatinino; c.sust.	Bilirrubina	<171 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<7,5 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Ferritina; c.masa (CRM 470)	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<5,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<17,1 mmol/L	<± 10%
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<10,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Fosfato; c.sust	Bilirrubina	<1060 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<3,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<28,5 mmol/L	<± 10%
Srm—Glucosa; c.sust.	Bilirrubina	<615 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<8,5 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<4,9 mmol/L	<± 10%



Tabla 4.12. Sustancias interferentes, intervalo de concentraciones de dichas sustancias y efecto sobre el mensurando

Magnitud	Sustancia interferente	Intervalo de concentraciones	Efecto de la interferencia
Srm—Hierro; c.sust.	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<8,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Ion potasio; c.sust.	Bilirrubina	No disponibles	No disponibles
	Hemoglobina	No disponibles	No disponibles
	Triglicérido	No disponibles	No disponibles
Srm—Ion sodio; c.sust.	Bilirrubina	No disponibles	No disponibles
	Hemoglobina	No disponibles	No disponibles
	Triglicérido	No disponibles	No disponibles
Srm—Proteína ; c.masa	Bilirrubina	<1231 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<8,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<28,5 mmol/L	<± 10%
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP80/558)	Bilirrubina	<701 µmol/L	<± 10%
	Biotina	<60 µg/L	<± 10%
	Hemoglobina	<10,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<17,1 mmol/L	<±10%
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	Bilirrubina	<701 µmol/L	<± 10%
	Biotina	<100 µg/L	<± 10%
	Hemoglobina	<20,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Triglicérido; c.sust.	Bilirrubina	<462 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<6,0 g/L	<± 10%
Srm—Triyodotironina; c.sust.	Bilirrubina	<598 µmol/L	<± 10%
	Biotina	<20 µg/L	<± 10%
	Hemoglobina	<20,0 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<20,5 mmol/L	<± 10%
Srm—Urato; c.sust.	Bilirrubina	<683 µmol/L	<± 10%

	Hemoglobina	<10 g/L	<± 10%
	Triglicérido	22,8 mmol/L	<± 10%
Srm—Urea; c.sust.	Bilirrubina	<1026 µmol/L	<± 10%
	Hemoglobina	<10 g/L	<± 10%
	Triglicérido	<22,8 mmol/L	<± 10%

## 4.2. Resultados de la incertidumbre típica combinada

A continuación se ha calculado la incertidumbre típica combinada,  $u_c$ , y la incertidumbre expandida,  $U$ , a partir de los componentes individuales de la incertidumbre estimados anteriormente. La incertidumbre típica combinada calculada a partir de los resultados de los componentes premetroológico, metroológico y del producido por las magnitudes influyentes es la raíz cuadrada positiva de la suma de las variancias correspondientes a estos componentes individuales:

$$u_c = (u_{PM}^2 + u_M^2 + u_{inf}^2)^{0,5}$$

Así por ejemplo si se quiere calcular la incertidumbre típica combinada para la concentración catalítica de alanina-aminotransferasa a una concentración determinada  $x_1$  se debe sustituir en la ecuación  $u_c = (u_{PM}^2 + u_M^2 + u_{inf}^2)^{0,5}$  los componentes individuales de la incertidumbre por su valor a dicha concentración. En el caso de la incertidumbre premetroológica se ha supuesto que este componente de la incertidumbre no cambia con la concentración del mensurando y por tanto  $u_{PM}^2$  tiene un valor constante en la ecuación independientemente de cual sea la concentración del componente medido y sólo es necesario sustituir  $u_{PM}^2$  por el valor correspondiente que aparece en la Tabla 4.1 de resultados. En el caso de la incertidumbre típica metroológica su valor proviene de sustituir en la ecuación de ajuste de la variancia metroológica correspondiente a esta magnitud,  $u_M^2 = (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684}$ , la concentración  $x_1$  del componente por su valor particular  $x_1$  de tal manera que para la concentración catalítica de alanina-aminotransferasa será  $u_M^2 = (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684}$ . En el caso de la incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes su valor proviene de multiplicar la incertidumbre típica relativa de las magnitudes influyentes por el valor particular de la magnitud  $x_1$ . y por el número de magnitudes influyentes,  $n$ . De esta manera la incertidumbre típica combinada queda como sigue:

$$u_c = (0,00004 + (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_1)^2])^{0,5}$$

Por tanto la incertidumbre típica combinada para las diversas magnitudes estudiadas queda como aparece en la Tabla 4.13.

Tabla 4.13. Incertidumbre típica combinada de los diversos procedimientos

Magnitud	Incertidumbre típica combinada
Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat	$u_c = (0,00004 + (0,05257 + 0,08483 \cdot x_i)^{2,92684} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Aspartato-aminotransferasa; c.cat.	$u_c = (0,0001 + (-0,00569 + 0,02493 \cdot x_i)^{1,56405} + [2 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Bilirrubina; c.sust.	$u_c = (0,152 + (0,91428 + 0,00211 \cdot x_i)^{7,75985} + [2 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Calcio(II); c.sust..	$u_c = (0,0003 + (20,63292 - 3,76992 \cdot x_i)^{-2,54090} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Colesterol; c.sust.	$u_c = (0,0047 + (0,13601 + 0,02183 \cdot x_i)^{3,95033} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Creatina-cinasa; c.cat.	$u_c = (0,0021 + (-0,00974 + 0,00532 \cdot x_i)^{0,95387} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Creatininio; c.sust.	$u_c = (4,140 + (1,16475 + 0,00975 \cdot x_i)^{2,41710} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Ferritina; c.masa(CRM470)	$u_c = (0,000 + (1,32174 + 0,06833 \cdot x_i)^{1,39767} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Fosfato; c.sust.	$u_c = (0,0007 + (0,00053 + 0,14999 \cdot x_i)^{0,53515} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Fosfatasa alcalina; c.cat.	$u_c = (0,001 + (0,00241 + 0,01205 \cdot x_i)^{1,62487} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Glucosa; c.sust.	$u_c = (0,0276 + (0,02770 + 0,02438 \cdot x_i)^{2,03308} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Hierro; c.sust.	$u_c = (0,000 + (0,08788 + 0,03453 \cdot x_i)^{1,75255} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Ion potasio; c.sust.	$u_c = (0,0177 + (0,00152 + 6,67048 \cdot x_i)^{-0,09487})^{0,5}$
Srm—Ion sodio; c.sust.	$u_c = (0,3212 + (1,64564 - 0,00450 \cdot x_i)^{-8,97575})^{0,5}$
Srm—Proteína; c.masa	$u_c = (2,2209 + (0,73692 + 0,00305 \cdot x_i)^{7,85637} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Tirotropina; c.sust.arb.(IRP 80/558)	$u_c = (0,0022 + (0,00153 + 0,07611 \cdot x_i)^{2,08785} + [4 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Tiroxina libre; c.sust.	$u_c = (0,025 + (0,22585 + 0,03599 \cdot x_i)^{2,71051} + [4 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Triglicérido; c.sust.	$u_c = (0,0002 + (0,33576 + 0,04267 \cdot x_i)^{8,29040} + [2 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Triyodotironina; c.sust.	$u_c = (0,001 + (1,80206 - 0,06121 \cdot x_i)^{-7,15382} + [4 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Urato; c.sust.	$u_c = (7,324 + (0,92300 + 0,01520 \cdot x_i)^{2,37630} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$
Srm—Urea; c.sust.	$u_c = (0,000 + (0,18021 + 0,02152 \cdot x_i)^{2,83076} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_i)^2])^{0,5}$

$x_i$  = concentración del componente

### 4.3. Informe de los resultados de la incertidumbre típica combinada y de la incertidumbre expandida

Los organismos internacionales de normalización recomiendan informar la incertidumbre de los resultados de pacientes obtenidos en el laboratorio clínico. En este ámbito esto se puede hacer por medio de la incertidumbre típica combinada o bien mediante la incertidumbre expandida.

#### 4.3.1. Informe de la incertidumbre típica combinada

Cuando se informa la incertidumbre típica combinada ésta se debe expresar de la siguiente manera:

Nombre de la magnitud: concentración del componente (unidades) con una incertidumbre típica combinada de  $u_c$  (unidades)

Así que, por ejemplo, tomando los resultados de la incertidumbre típica combinada contenidos en la Tabla 4.12. el informe de la incertidumbre para un resultado particular  $x_1$  para la concentración de alanina-aminotransferasa debería hacerse de la siguiente manera:

Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat.:  $x_1$   $\mu\text{kat/L}$  con una incertidumbre típica de  $u_c = (0,00004 + (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684} + [3 \cdot (0,024 \cdot x_1)^2])^{0,5} \mu\text{kat/L}$

#### 4.3.2. Informe de la incertidumbre típica expandida

Cuando la incertidumbre se informa como incertidumbre típica expandida,  $U$ , ésta se obtiene al multiplicar la incertidumbre típica combinada  $u_c$  por el factor de cobertura  $k$  elegido, que en este trabajo ha sido de 2 y que corresponde a un

intervalo de confianza de aproximadamente 0,95. La incertidumbre expandida se debe expresar de la siguiente forma:

(Nombre de la magnitud):  $(x \pm U)$  (unidades)

donde  $x$  unidades es el resultado del sistema de medida y  $U$  unidades la incertidumbre expandida multiplicada por 2 como factor de cobertura.

De acuerdo con esto los resultados de la incertidumbre expandida, para un resultado particular  $x_1$ , de la concentración catalítica de alanina-aminotransferasa debe ser informada de la siguiente forma:

Srm—Alanina-aminotransferasa; c.cat. =  $(x_1 \pm 2 (0,00004 + (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684}) + [3 \cdot (0,024 \cdot x_1)^2])^{0,5} \mu\text{kat/L}$

donde  $x_1 \mu\text{kat/L}$  es el resultado del sistema de medida y  $2 (0,00004 + (0,05257 + 0,08483 \cdot x_1)^{2,92684}) + [3 \cdot (0,024 \cdot x_1)^2]^{0,5} \mu\text{kat/L}$  la incertidumbre expandida multiplicada por 2 como factor de cobertura.

## **5. Discusión**

Cuando se mide una magnitud biológica los resultados obtenidos pueden contener errores sistemáticos y aleatorios que producidos en diferentes partes del proceso de medida dan lugar al error de medida. La existencia de este error de medida hace que se produzca una duda, incertidumbre, sobre cual es el valor verdadero de la magnitud medida. Teniendo en cuenta este hecho, diversos organismos internacionales de normalización han desarrollado el concepto de incertidumbre de medida y creado un cuerpo de documentos sobre la incertidumbre asociada a los resultados de los procedimientos de medida (1, 2, 7). En estos documentos se aportan entre otras informaciones, las definiciones sobre los conceptos básicos relacionados con la incertidumbre, sus formas de estimarla y como expresarla.

Uno de los objetivos de estos documentos es el difundir la importancia que tiene el conocimiento y la información de la incertidumbre asociada a los resultados de medida, recomendando que todo resultado de medida vaya acompañado de una información que refleje la incertidumbre asociada a su medición. En el ámbito del laboratorio clínico se considera que éste debería poder suministrar la información sobre la incertidumbre de un resultado ya que de hecho desde el punto de vista metrológico un resultado no está completo si no está acompañado de la incertidumbre correspondiente.

A pesar de la labor desarrollada por estos organismos en estos últimos años, la estimación e informe de la incertidumbre asociada a los resultados de las mediciones son prácticas que no se realizan todavía, habitualmente, en el laboratorio clínico. Existen diversos motivos que pueden originar este hecho. Por un lado está el desconocimiento o la falta de valoración por parte del personal perteneciente a los laboratorios clínicos de la importancia que conlleva el conocimiento de la incertidumbre de un resultado. En general este personal si que conoce y valora la existencia de diversas características metrológicas inherentes al procedimiento de medida como son la imprecisión, el error

sistemático, el límite de detección, las interferencias, etc. Estas características están fundamentalmente relacionadas con la fase metrológica del procedimiento de medida y si bien cada una de ellas puede ofrecer una información parcial sobre la incertidumbre metrológica del procedimiento de medida, no son utilizadas con el fin expreso de estimar cual es la incertidumbre relacionado con los resultados obtenidos con ese procedimiento. Otro motivo que podría explicar esta situación es la relativa complejidad de los trabajos para estimar la incertidumbre, especialmente la asociada a la valoración de los calibradores o al efecto de las magnitudes influyentes. La identificación de los principales componentes de incertidumbre que afectan a un procedimiento, la elección de cuales son los experimentos adecuados para estimarlos, las fuentes de información que se pueden utilizar o el establecimiento de un modelo de función adecuado a las distintos componentes de incertidumbre significativos son procesos que requieren un notable esfuerzo para su realización, especialmente si la evaluación está basada en la repetición de mediciones, motivo que también puede contribuir a este hecho. Por otro lado sería necesario valorar el posible rechazo que se podría suscitar entre los médicos destinatarios de los resultados de las mediciones a la recepción de resultados informados no como un único valor sino como un intervalo de valores posibles.

El objetivo de este trabajo es establecer un modelo general que facilite la estimación de la incertidumbre asociada a los resultados obtenidos en el laboratorio clínico y no hace referencia al posible uso que se pueda dar a esta información. No obstante existen ya estudios (84) en los que se usa esta información para valorar la utilidad de determinados valores discriminantes o entidades nosológicas y que anticipa cual puede ser la utilidad de esta información.

Independientemente de cuales sean las causas de esta situación es necesario hacer un esfuerzo para transmitir la importancia que tiene el conocimiento e informe de la incertidumbre asociada a un resultado.

La finalidad de los dos tipos de estimación existentes de la incertidumbre, el A y el B, es el mismo y no existe ninguna diferencia en la naturaleza de los componentes resultantes en ambas estimaciones. Ambos tipos de evaluaciones están basadas en distribuciones de probabilidad y los componentes de incertidumbre resultantes en cada uno de estas evaluaciones están cuantificados como desviaciones típicas o variancias. Como ya se ha explicado el proceso básico para la estimación de la incertidumbre de un procedimiento es en primer lugar especificar cual es la magnitud objeto de medición estableciendo la función que la relacione con las magnitudes intermedias y parámetros de las que depende. No obstante, frecuentemente, la dificultad de establecer de manera exacta esta función hace que ésta no se enuncie de manera explícita. En estos casos la especificación se hace usualmente en forma de diferentes componentes o partes del procedimiento a los que se puede asignar una incertidumbre. A continuación se tienen que cuantificar los componentes de incertidumbre identificados valorando cuales de estos componentes son significativos y pueden ser estimados de forma conjunta, y por último está el cálculo de la incertidumbre combinada total teniendo en cuenta las relaciones establecidas por el modelo de función especificado de la magnitud objeto de medición.

Para conseguir estos objetivos es necesario que una vez que se tiene el listado de los posibles componentes de incertidumbre se estudie de forma crítica dicho listado. Con este estudio basado en la experiencia y conocimiento de cada magnitud y procedimiento en cuestión se obtiene información acerca de la importancia de cada componente de incertidumbre y se identifican cuales son aquellos componentes que es posible evaluar de manera conjunta. También se debe valorar que tipo de evaluación, A o B, se debe usar para estimar determinado componente de incertidumbre de acuerdo con los recursos de tiempo y medios disponibles o con la información compatible con el procedimiento de que se dispone. Es necesario tener en cuenta en este momento la dificultad que puede entrañar la estimación de la incertidumbre

asociada al resultado de una magnitud. La tendencia actual en el laboratorio clínico es a la incorporación de nuevas magnitudes con valor para el diagnóstico, pronóstico o seguimiento de enfermedades ya conocidas o de nueva aparición o conocimiento. Este hecho complica aun más, si cabe, la dificultad de conocer la incertidumbre asociada a los resultados obtenidos con los diversos procedimientos que se miden en un laboratorio. Por tanto la gran cantidad de procedimientos que se usan en un laboratorio clínico, los distintos pasos que configuran cada uno de estos procedimientos, la diversidad de analizadores en que están incorporados o la variedad de procedimientos manuales que se tienen, son puntos que se deben tener en cuenta previamente cuando se plantea realizar cualquier estudio de la incertidumbre. De esta manera es posible que en determinados procedimientos sea necesario estudiar componentes de la incertidumbre que no es necesario estudiar en otros y así por ejemplo la incertidumbre asociada a la estabilidad de las magnitudes puede ser un componente de incertidumbre incluido dentro de la fase premetroológica que en algunos casos será necesario estudiar. En otros casos será necesario descartar el estudio de ciertos componentes de incertidumbre ante la imposibilidad de acceder a la información necesaria para ello o simplemente porque la información que aportan en determinadas circunstancias no se considera relevante. Por tanto la evaluación de la incertidumbre de un procedimiento de medida, ya sea ésta una evaluación de tipo A o B, no debe ser nunca un trabajo rutinario, siendo necesario analizar cada procedimiento de manera particular para establecer cuales son las características que lo definen y los medios o la información de que se va a disponer para el estudio de la incertidumbre.

La ISO (2) ha establecido la metodología para la estimación de la incertidumbre. Esta metodología es por si misma una ayuda para conocer de manera pormenorizada los procedimientos de medida desde el momento en que ello es necesario para estimar la incertidumbre asociada a todas las magnitudes y parámetros de las que depende. No obstante la simple observación de los ejemplos anexos a la *Guía para la expresión de la*

*incertidumbre en las mediciones* (2) muestra que el modelo que propone, en el que se identifica y estima la incertidumbre de cada una de las magnitudes y parámetros asociados, está orientado fundamentalmente a la estimación de la incertidumbre en magnitudes físicas y es de difícil aplicación a las magnitudes medidas en el laboratorio clínico. Uno de los puntos básicos para conseguir solucionar este problema y poder establecer un modelo sencillo y general para estimar la incertidumbre de los resultados es especificar el modelo de función en base a las distintas partes del procedimiento cada una asociada a su incertidumbre típica.

En este trabajo el modelo de función aplicado ha sido un modelo aditivo que supone que el resultado de una medición es igual al resultado observado en la medición más una serie de constantes de corrección debidas a los efectos producidos por la toma de la muestra, la calibración y la producida por la interferencias:

$$y = C_{\text{Obs}} + C_{\text{te PM}} + C_{\text{te Cal}} + C_{\text{te Inf}}$$

como el concepto de incertidumbre de medida se aplica únicamente a resultados de medida sin error sistemático o bien a resultados de medida corregidos, del resultado observado se han eliminado todos los posibles errores sistemáticos y por tanto el valor de estas constantes de corrección es igual a cero, pero sin embargo el valor de sus incertidumbres es distinto de 0. El uso de un modelo aditivo facilita, por otra parte la combinación de los distintos componentes de incertidumbre, especialmente si estos no están correlacionados, ya que la expresión de la incertidumbre típica combinada,  $u_c$ , derivada de este modelo se simplifica siendo del tipo:

$$u_c = u(y) = (u(x_1)^2 + u(x_2)^2 + \dots + u(x_n)^2)^{0,5}$$

donde  $u(x_n)$  es la incertidumbre típica de cada uno de los componentes individuales de incertidumbre en que se ha dividido el procedimiento, de

manera que en este caso esta ecuación quedaría:

$$u_c = (u_M^2 + u_{PM}^2 + u_{Cal}^2 + u_{Int}^2)^{0,5}$$

es decir que la incertidumbre típica combinada sería la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres de los componentes metrológico, premetrológico, del asociado a la valoración de los calibradores y del producido por las magnitudes influyentes.

Este modelo se puede aplicar de manera general a la mayoría de los procedimientos del laboratorio clínico una vez estimado cada uno de los componentes individuales siendo su cálculo sencillo y no necesitando del apoyo de herramientas estadísticas complejas.

Es posible, no obstante, que en determinados procedimientos sea necesario evaluar otros componentes de incertidumbre.

Debido a la naturaleza multiplicativa que poseen algunos de estos componentes de incertidumbre se ha propuesto (85) el uso de un modelo de tipo multiplicativo en el que el resultado de una medición se especifica como sigue:

$$Y = C_{Obs} \cdot f_P \cdot f_{Cal} \cdot f_{Inf}$$

Es decir que el resultado sería igual a la concentración observada multiplicada por una serie de factores debidos a los procesos de toma de muestras, calibración y los producidos por las interferencias. Como el concepto de incertidumbre de medida se aplica únicamente a resultados de medida sin error sistemático o cuyos errores sistemáticos ya han sido corregidos en el factor  $C_{Obs}$ , los demás factores deberían de ser 1, pero sin embargo sus incertidumbres serán generalmente distintas de 0. es decir que partiendo de los mismos o similares componentes de incertidumbre la magnitud se especifica

como un conjunto de factores multiplicativos.

De esta manera y como ya se ha mencionado en un modelo el que solo existen multiplicaciones o divisiones su incertidumbre combinada quedaría de la siguiente forma:

$$u_{c \text{ rel.}} = u(y)/y = ([u(x_1)/x_1]^2 + [u(x_2)/x_2]^2 + \dots + [u(x_n)/x_n]^2)^{0,5}$$

es decir que en un modelo multiplicativo se estima la incertidumbre combinada relativa a partir de la combinación de las incertidumbres típicas relativas.

Ambos modelos pueden ser válidos para la estimación de la incertidumbre, basándose en general en parecidos componentes individuales y diferenciándose únicamente en la forma de combinar dichos componentes. La justificación del uso de un modelo u otro se basa en cual es la naturaleza de cada componente de incertidumbre y varía con el valor del mensurando. El uso de un modelo multiplicativo se basa en la suposición de que determinados componentes de incertidumbre son multiplicativos en su naturaleza, es decir que el valor de su incertidumbre es proporcional a su concentración. No obstante el uso de un modelo aditivo, para combinar los distintos componentes de incertidumbre, como el usado en este trabajo permite tener en cuenta también este fenómeno cuando se produzca.

### 5.1. Incertidumbre premetrológica

Aunque se acepta que las variaciones que se producen en los factores que forman parte de la fase premetrológica pueden afectar a los resultados de las mediciones se considera habitualmente que la adecuada normalización de estos factores puede hacer despreciable estas fuentes de variación. Sin embargo la completa normalización de los procesos que forman parte de esta

fase es un objetivo complejo difícil de conseguir. Para conseguir esta normalización es necesario tener en cuenta las características particulares de cada magnitud y procedimiento en cuestión mediante un análisis pormenorizado de cuales son los componentes de incertidumbre significativos dentro de esta fase. Pero incluso si se tiene normalizado adecuadamente todo el proceso premetroológico no es posible asegurar que la incertidumbre producida durante esta fase sea despreciable.

El objetivo de la normalización de las condiciones de preparación, extracción y tratamiento de la muestra es evitar la aparición de errores sistemáticos indeseables. Estos errores si bien son de naturaleza sistemática para cada muestra considerada individualmente, tomados de forma conjunta en el análisis día a día se manifiestan de manera aleatoria y por tanto la estimación de su variancia permite la cuantificación de la incertidumbre producida por los mismos.

En una evaluación de la incertidumbre premetroológica se debe tener en cuenta todo el conjunto de actividades realizadas desde la obtención de la muestra de sangre, u otra muestra, hasta que la misma está lista para la medición. Estos procesos incluyen la toma de las muestras, el efecto de los aditivos, las condiciones de almacenamiento y centrifugación, etc. Una vez identificados estos componentes de incertidumbre se deberían variar todos los factores de los cuales se sabe que dependen los resultados para la estimación de la incertidumbre.

La incertidumbre producida durante la fase premetroológica ha sido estimada en este trabajo con una evaluación de tipo A en la que el experimento utilizado ha permitido evaluar de manera conjunta el componente premetroológico de incertidumbre debido a algunos de los factores que tienen una mayor influencia sobre el mismo: la toma de la muestra en diferentes brazos, la extracción a cargo de diferentes personas y la realización del resto de manipulaciones premetroológicas diferidas en el tiempo.

En el caso de que en un estudio de incertidumbre se evalúen de manera conjunta varias magnitudes, es posible y conveniente para facilitar la evaluación de la incertidumbre premetroológica agrupar aquellas magnitudes que poseen iguales condiciones premetroológicas. Es decir cuando un conjunto de magnitudes estudiadas compartan los procesos que forman parte de esta fase como son las condiciones de preparación del paciente, el proceso de extracción de la muestra, o el uso del mismo tipo de muestra se puede simplificar la evaluación usando la misma muestra para la estimación conjunta de la incertidumbre en dichas magnitudes. Como las magnitudes que forman parte de este estudio cumplen estos requisitos para simplificar este trabajo, se ha realizado la estimación de la incertidumbre de forma conjunta para todas las magnitudes. Existen sin embargo muchas magnitudes, no incluidas en este estudio, que tienen condiciones premetroológicas particulares referentes a la preparación del paciente, toma de la muestra, conservación o tipo de muestra que impedirían la realización de este estudio de forma conjunta.

En la tabla 4.1 de resultados aparecen aquellos correspondientes al estudio de incertidumbre de la fase premetroológica expresados como coeficientes de variación premetroológicos,  $CV_{PM}$ . En ella se observa que sólo para los procedimientos de medida de la concentración de ferritina, hierro y urea el coeficiente de variación premetroológico es cero. Para 8 de las 21 magnitudes estudiadas el coeficiente de variación debido a la fase premetroológica es mayor o igual a 2 %. Para 9 de ellas el coeficiente de variación premetroológico es igual o superior al coeficiente de variación correspondiente a la imprecisión intradiaria,  $CV_{ID}$ , observado en este mismo experimento. Por tanto se observa que para muchas de las magnitudes que se miden en el laboratorio clínico la incertidumbre premetroológica no es despreciable y que en ciertos casos la variabilidad producida por la incertidumbre premetroológica es superior a la producida por la imprecisión intradiaria. Estos resultados demuestran que la variancia premetroológica  $s_{PM}^2$  debería ser tomada en cuenta a la hora del cálculo de la incertidumbre combinada total de un procedimiento.

No obstante cuando se usa la variancia premetrológica estimada de esta manera para el cálculo de incertidumbre combinada se plantea una duda. El estudio de la incertidumbre premetrológica se ha hecho como ha sucedido en este trabajo en voluntarios sanos y como consecuencia de ello su valor ha sido estimado en muestras cuyas concentraciones están dentro del intervalo de referencia de las magnitudes estudiadas. A pesar de ello, y teniendo en cuenta el modelo de función usado en este trabajo, los resultados de la variancia premetrológica estimada a dicha concentración se han usado para el cálculo de la incertidumbre combinada final independientemente de cual es el valor de la magnitud, es decir que en este caso se ha asumido que los resultados de la incertidumbre premetrológica no varían con el valor de la magnitud. Sin embargo con los datos obtenidos no es posible asegurar que este fenómeno se produzca y que la variancia premetrológica sea la misma a otra concentración de la magnitud. Por tanto no se conoce si la variancia correspondiente a la incertidumbre premetrológica varía con la concentración de la magnitud, es decir si al igual que la variancia metrológica posee heterocedasticidad y si por tanto es correcto aplicar un valor de incertidumbre premetrológica estimado a una concentración determinada para el cálculo de la incertidumbre combinada a otra concentración. A pesar de este desconocimiento si que se tiene información de que existen determinados procesos como son los fenómenos de degradación del componente que afectan a su estabilidad en la muestra que son dependientes de la concentración (86) y que por tanto inducen a pensar que la incertidumbre asociada a estos procesos es dependiente de la concentración. Por esto tal vez fuese más conveniente el uso de un modelo de información de la incertidumbre premetrológica basado en la incertidumbre típica relativa. No obstante el uso de un coeficiente de variación como incertidumbre relativa, que sea aplicable a todo un intervalo de valores implica la suposición de que éste es el mismo en todo el intervalo en el que se aplica y como se verá en el caso de la incertidumbre metrológica esto no tiene por que ser cierto. La asunción de un comportamiento heterocedástico, ya sea este correspondiente a la variabilidad metrológica o a la premetrológica, no implica

que el coeficiente de variación correspondiente a la incertidumbre relativa sea constante en el intervalo estudiado. Una aproximación más correcta, si se confirmase un comportamiento heterocedástico en la incertidumbre premetrológica, sería establecer un sistema de información similar al que se ha utilizado en este trabajo para estimar incertidumbre metrológica. Lógicamente el esfuerzo que requeriría realizar una estimación de este tipo se debería valorar de acuerdo a la información suplementaria que aporte.

## 5.2. Incertidumbre metrológica

La incertidumbre producida durante la fase metrológica ha sido estimada en este trabajo con una evaluación de tipo A calculando la imprecisión interdiaria de cada procedimiento de medida. Debido a la existencia del fenómeno de la heterocedasticidad para conocer cual es la incertidumbre de la fase metrológica a distintos valores de la magnitud se ha estimado la imprecisión interdiaria de cada procedimiento a diversos valores de la magnitud y se ha obtenido la gráfica y función matemática que relaciona el valor del mensurando y la variancia, denominada función de variancia. También se ha obtenido la relación gráfica entre el valor del mensurando y el coeficiente de variación, denominada perfil de imprecisión.

Para obtener estas funciones matemáticas y gráficas se ha usado el programa desarrollado por Sadler *et al.* Variance función programme 2.0. Se ha elegido este programa estadístico además de por su fácil manejo, porque se ha desarrollado de manera específica para la estimación de variancias y demás estadísticos relacionados con la imprecisión. Este programa permite calcular simultáneamente las ecuaciones y gráficas que definen la relación entre la concentración de la magnitud y el valor de la variancia (función de variancia) y la gráfica del perfil de imprecisión. También ofrece la posibilidad de incorporar a las gráficas un intervalo de confianza del 95 %. Este intervalo de confianza define un límite inferior y otro superior alrededor de la función en cuestión. Si

se asume que la fórmula matemática de la función de variancia es un modelo razonable para los datos, el tamaño del intervalo de confianza puede ser un indicativo indirecto de la confianza que se puede tener de que la función de variancia haya estimado la verdadera relación subyacente.

Los resultados de este estudio muestran que para las funciones de variancia sólo se encuentran puntos fuera de sus correspondientes intervalos de confianza en el caso de la concentración de bilirrubina, el punto 2 correspondiente a una concentración media de 29,5  $\mu\text{mol/L}$ , y en el caso de la concentración de triglicérido, el punto 2 correspondiente a una concentración de 2,23  $\text{mmol/L}$ . Si estos intervalos de confianza fuesen utilizados como un criterio de la bondad del ajuste se podría establecer que los resultados demuestran que excepto para los dos procedimientos mencionados el ajuste ha sido correcto y que en estos intervalos se encuentra con un 95% de probabilidad la verdadera variancia subyacente.

Si se analiza los resultados correspondientes a la función de variancia, gráficas principales 1-21, se observa que la variancia aumenta en todos los casos cuando aumenta el valor de la magnitud. Es decir, que si se usa la variancia como el estadístico para definir la imprecisión del procedimiento se confirma que todos los procedimientos de medida estudiados poseen heterocedasticidad.

Sin embargo si se analizan los resultados correspondientes al perfil de imprecisión, gráficas superpuestas 1-21, el comportamiento es distinto según cual sea el procedimiento estudiado. Por un lado existen algunos procedimientos que muestran coeficientes de variación aproximadamente constantes a lo largo de todo el intervalo de concentraciones estudiado. Presentan un perfil de imprecisión de este tipo los siguientes procedimientos: concentración de aspartato-aminotransferasa, calcio, colesterol, glucosa, hierro, ion potasio, ion sodio, proteína, tirotropina, tiroxina libre, triglicérido y urato.

Por otro lado existen otros procedimientos de medida en los que el coeficiente de variación muestra un comportamiento diferente a lo largo del intervalo de medida estudiado. Estos procedimientos tienen un primer intervalo de concentraciones en el cual el coeficiente de variación disminuye cuando aumenta el valor de la magnitud, generalmente este intervalo de concentraciones coincide con la parte inferior del intervalo de medida del procedimiento. A continuación se encuentra otro intervalo de concentraciones en el cual el coeficiente de variación se mantiene aproximadamente constante. Presentan un perfil de imprecisión de este tipo los siguientes procedimientos: concentración de alanina-aminotransferasa, bilirrubina, creatinina, fosfatasa alcalina, triyodotironina y urea

Por último existen otros procedimientos de medida que presentan coeficientes de variación que varían a lo largo de todo el intervalo de concentraciones estudiado. En estos casos el coeficiente de variación disminuye cuando aumenta el valor de la magnitud en el caso de los procedimientos para medir las concentraciones de creatina-cinasa y ferritina, mientras que el coeficiente de variación aumenta en el caso de la concentración de fosfato.

Desde un punto de vista práctico es útil diferenciar entre aquellos procedimientos en los que el coeficiente de variación, su incertidumbre típica relativa, se mantiene constante en todo el intervalo de medida estudiado y aquellos en los que el coeficiente de variación varía con el valor de la magnitud. La importancia de este hecho radica en que si el coeficiente de variación se mantiene constante para un procedimiento en un intervalo de concentraciones determinado se puede utilizar este coeficiente como la incertidumbre relativa metrológica del mismo en todo este intervalo y posteriormente usar este valor para el cálculo de la incertidumbre combinada. Sin embargo como se ha visto en este trabajo éste no es el caso de la mayoría de los procedimientos usados en el laboratorio clínico y el uso de un modelo de información como el utilizado en este trabajo permite recoger de manera pormenorizada las especiales características de imprecisión de cada procedimiento en particular.

Es habitual en el laboratorio clínico que la estimación de la incertidumbre típica debida a la imprecisión interdiaria se haga a partir de los resultados del control interno de la calidad, asumiendo que la imprecisión obtenida a partir de mediciones realizadas usando materiales de control comerciales es la misma que la que se observaría usando muestras séricas sin aditivos.

Los resultados del estudio de comparación contenidos en las Tablas 4.9. y 4.10. (87) muestran que los materiales de control usados en este estudio fueron intercambiables con los sueros para las mediciones de la concentración de colesterol, fosfatasa alcalina, fosfato, hierro, ion potasio, tirotropina, tiroxina libre, triglicérido, triyodotironina, urato y urea. Sin embargo estos materiales de control no fueron intercambiables con el suero para la medición de la concentración de alanina-aminotransferasa, bilirrubina, calcio, creatinina, creatininio, ferritina, glucosa e ion sodio. En el caso de la concentración de aspartato-aminotransferasa y proteína la intercambiabilidad depende de la concentración del mensurando. Cuando existe este tipo de falta de intercambiabilidad, en general, la imprecisión interdiaria es menor en los materiales de control. Estos resultados son similares a los obtenidos en otro estudio (83) teniendo en cuenta las magnitudes incluidas en ambos estudios: concentraciones séricas de colesterol, glucosa y urea. Esta falta de intercambiabilidad puede producir valores disminuidos en la estimación de la incertidumbre metrológica cuando ésta se hace a partir de materiales de control comerciales.

### 5.3. Incertidumbre asociada a las magnitudes influyentes

La estimación de la incertidumbre relacionada con las magnitudes influyentes se ha hecho mediante una evaluación de tipo B para la que se ha utilizado la información ofrecida por el fabricante de reactivos. El fabricante ofrece información sobre las magnitudes que más habitualmente producen interferencias en los procedimientos en cuestión.

La información que ofrece el fabricante es que no existe interferencia, interpretando esta inexistencia como un efecto inferior a  $\pm 10\%$ , cuando las magnitudes influyentes están dentro de un intervalo determinado de concentraciones. Este tanto por ciento se ha usado para la estimación de la incertidumbre relativa tras suponerse que existe una distribución triangular rectángulo para estos datos. En el caso de la concentración de aspartato-aminotransferasa se informa que la hemólisis puede producir una interferencia sobre los resultados sin especificar que concentración de hemoglobina determina que una muestra está hemolizada y cual es el efecto de una determinada concentración de hemoglobina sobre el mensurando.

Esta manera de ofrecer la información sobre las interferencias es en si misma una fuente de incertidumbre ya que no establece de manera clara cuando existe un posible efecto interferente en que medida lo es y a partir de que concentración de la magnitud influyente existe dicha interferencia.

Debido a la escasa información que aporta el fabricante de reactivos en este caso sería conveniente que la información aportada por el mismo sobre el efecto de las magnitudes influyentes fuese más completa. Diversos autores e instituciones han propuesto diferentes diseños experimentales para el estudio de las interferencias. Uno de los más completos es el propuesto por Kroll y colaboradores (88). En este diseño el componente sospechoso de producir la interferencia se añade *in vitro*, a diversas concentraciones, a muestras con diferentes concentraciones del mensurando. Tras el análisis de los datos se puede determinar que magnitud influyente y a que concentraciones produce determinado efecto sobre la magnitud objeto de medición. Una vez establecido este efecto se aplicaría su correspondiente distribución de frecuencias a estos datos con el fin de establecer la incertidumbre asociada a cada muestra teniendo en cuenta la concentración de estas sustancias interferentes.

## 5.4.Otros componentes de incertidumbre no estudiados

### 5.4.1. Estabilidad de las magnitudes

Para todas las magnitudes que se han estudiado en este trabajo las mediciones se realizan habitualmente (en el trabajo “de rutina”) inmediatamente después de la obtención de las muestras. Por tanto se ha considerado, si éste es el procedimiento que se sigue habitualmente, que no es necesario estimar la incertidumbre debida a la estabilidad de las magnitudes. Por el contrario en caso de que las muestras se almacenasen durante un periodo de tiempo más o menos largo y a pesar de que el proceso de conservación estuviese adecuadamente normalizado para esta magnitud, este componente de incertidumbre no se debería despreciar sin haber sido estimado previamente y se debería incluir dentro del estudio del componente premetroológico.

No obstante es conveniente en este punto hacer un comentario respecto a la estabilidad de las magnitudes. Si bien la estabilidad de las magnitudes no se ha estudiado por la razón expuesta, si que es un componente que ha podido tener una influencia en los resultados de la incertidumbre producida por la imprecisión interdiaria estimados en este trabajo ya que las muestras que forman parte de este estudio si que han sido conservadas durante un cierto periodo de tiempo congeladas para realizar la evaluación de la incertidumbre debida a la imprecisión interdiaria. Los efectos sistemáticos que han podido producirse durante este periodo de conservación han podido tener una influencia sobre su estabilidad y por tanto sobre los resultados de la evaluación de la incertidumbre debida a la imprecisión interdiaria. Estos posible efectos no ha sido estudiados en este trabajo, pero en principio, como ya se ha comentado las magnitudes incluidas en el estudio son estables congeladas durante el periodo que ha durado el experimento (Tabla 3.2).

### 5.4.2.Valoración de los calibradores

Como ya se ha comentado en la introducción la incertidumbre relacionada con la valoración de los calibradores es uno de los componentes de incertidumbre más importantes en los procedimientos de medida relacionados con el laboratorio clínico. Esta incertidumbre es debida a los errores sistemáticos que se producen en la valoración de los calibradores y en el caso de los calibradores liofilizados a los errores que además se producen en su reconstitución. Estos últimos, en muchos casos, producen una incertidumbre que queda incluida en la producida por la imprecisión interdiaria.

En aquellos casos en los que los procedimientos de medida usan calibradores que han sido preparados por el propio laboratorio, a partir por ejemplo de la simple pesada y disolución del componente objeto de medición, la obtención de la incertidumbre asociada a la valoración de estos calibradores sería simple si se sabe cuales han sido los distintos pasos de este proceso de fabricación y la incertidumbre asociada a cada uno de estos pasos. En caso de que los calibradores sean proporcionados por un fabricante el método más sencillo es solicitar la información a éste, o tomar la información suministrada por él, para evaluar este componente de incertidumbre.

La evaluación de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores era en principio uno de los objetivos de este trabajo, mediante una evaluación de tipo B basada en la información suministrada por el fabricante de los calibradores. Sin embargo el fabricante respondió de manera negativa a esta petición alegando que ésta era una información reservada y de uso interno de la empresa y por tanto no fue posible incorporar los resultados de la incertidumbre en la valoración de los calibradores al cálculo de la incertidumbre típica combinada final.

La aplicación de la directiva comunitaria sobre diagnóstico *in vitro* (89) debería garantizar en un futuro próximo el acceso a la información de la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores.

Como ya se ha comentado el concepto de incertidumbre de medida sólo es aplicable a resultados de medida sin error sistemático o a resultados de medida corregidos. Cuando la veracidad del procedimiento de medida que se usa es la misma que la del procedimiento de medida con el que se produjeron los valores de referencia de la magnitud en estudio se puede admitir que a efectos prácticos el error sistemático es cero y no hace falta corregir los resultados.

Si no se cumple la premisa anterior pero se conoce el error sistemático actual y el del periodo de producción de los valores de referencia se han de dar los resultados corregidos o bien se han de corregir los límites de referencia. Si no se conoce la veracidad actual del procedimiento de medida o la veracidad correspondiente al periodo en el que se produjeron los valores de referencia, la fiabilidad de los resultados es muy baja y en estos casos estaría poco justificado el esfuerzo que supone la estimación de la incertidumbre.

Para las magnitudes incluidas en el estudio, en el Servei de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge son de producción propia los intervalos de referencia o valores discriminantes de aplicación mundial (77) correspondientes a todos los procedimientos estudiados excepto para la concentración de colesterol, ferritina y triglicéridos que tienen valores de referencia de transferibilidad comprobada y la concentración de glucosa cuyo valor de referencia inferior es de producción propia y el superior es el recomendado por la Organización Mundial de la Salud (90).

#### 5.4.3. Variabilidad biológica intraindividual

Los resultados de las mediciones efectuadas en pacientes están así mismo sometidos a otra fuente de variación: la originada por la variación biológica intraindividual (91), es decir por las variaciones que se observan en las magnitudes biológicas en un individuo debido a las fluctuaciones fisiológicas

rítmicas y aleatorias. Estas variaciones pueden ser consideradas como otra fuente de incertidumbre, la incertidumbre biológica. Como aproximación general el valor de incertidumbre biológica,  $s_B^2$ , aplicado a cada magnitud y cada paciente puede ser calculado a partir del valor de la magnitud medido en cada paciente  $x_i$  y la mediana de todos los valores publicados de los coeficientes de variación correspondientes a la variación biológica intraindividual de la magnitud  $CV_B$ .

$$s_B^2 = (x_i \cdot CV_B / 100)^2$$

Estas medianas pueden ser calculadas a partir de algunas recopilaciones de datos de variaciones biológicas (92-96).

En un estudio en el que se quisiera incluir este componente de incertidumbre  $s_B^2$  sería el valor del componente biológico de incertidumbre a sumar a los demás componentes de incertidumbre estimados. De manera que si se suma este componente biológico al metroológico, entendido éste como el correspondiente a todo el procedimiento, se estaría estimando la denominada incertidumbre biometrológica (97),  $u_{BM}^2$ , del resultado que sería la raíz cuadrada de la suma de las variancias correspondientes a estos componentes:

$$u_{BM}^2 = (u_B^2 + u_M^2)^{0,5}$$

Al igual que con otros componentes de incertidumbre surge en este momento la duda sobre si los valores de los coeficientes de variación biológica intraindividual  $CV_B$ , obtenidos de esta manera a una concentración fisiológica, cambian si su valor es estimado a otras concentraciones de la magnitud. Es decir si la variabilidad biológica posee heterocedasticidad o no y si por ejemplo esta variabilidad es distinta en un estado de enfermedad.

No obstante si bien la incertidumbre debida a la variabilidad biológica si que afecta a la incertidumbre final del resultado de las mediciones de una

magnitud biológica en un paciente, este componente de la incertidumbre no ha sido estudiado en este trabajo ya que el objetivo del mismo es el estudio de la incertidumbre asociada a las diversas partes que forman el procedimiento de medida.

#### 5.5. Dificultades que plantea el cálculo de la incertidumbre y soluciones a algunos de los problemas planteados

En este trabajo se han evaluado la incertidumbre producida por la variabilidad premetroológica y la producida por la imprecisión interdiaria del procedimiento con una evaluación de tipo A y la producida por las magnitudes influyentes mediante una evaluación de tipo B. La evaluación de la incertidumbre combinada final de un procedimiento de medida, especialmente si es una evaluación basada en la repetición de mediciones, no es un proceso sencillo entre otros por los siguientes motivos:

1. La incertidumbre asociada a la fase premetroológica no debería ser considerada como despreciable aunque esta fase esté aparentemente bien normalizada. Con un experimento como el realizado en este trabajo se puede estimar la incertidumbre premetroológica a una concentración determinada. No obstante subsiste la duda de si esta variabilidad premetroológica posee heterocedasticidad y en caso de que la posea si puede ser estimada.

2. En la mayoría de los procedimientos de medida usados en el laboratorio clínico el coeficiente de variación metroológico varía con el valor del mensurando debido al fenómeno de la heterocedasticidad. Este hecho debe ser tenido en cuenta cuando se estima la incertidumbre.

3. Los resultados de imprecisión obtenidos en los materiales de control no son siempre intercambiables con los obtenidos en las muestras biológicas sin aditivos. En estos casos el uso de datos del control interno de calidad para

establecer la incertidumbre metrológica puede suponer, generalmente, una subestimación de este componente de incertidumbre.

4.Los fabricantes de reactivos no acostumbran a informar la incertidumbre asociada a la valoración de los calibradores.

5.La información que hacen los fabricantes de las posibles interferencias que se producen en un procedimiento suelen ser frecuentemente limitadas y ambiguas.

6.El número creciente de magnitudes que se miden en el laboratorio clínico hace que la realización de una evaluación basada en la repetición de mediciones esté generalmente fuera del alcance de la mayoría de los laboratorios clínicos.

Alguno de estos hechos producen que las evaluaciones de tipo A sean, para la mayoría de los laboratorios clínicos, inviables desde un punto de vista económico o práctico. En estos casos el uso de una evaluación de tipo B puede ser una alternativa a las evaluaciones de tipo A. La información necesaria para realizar una evaluación de tipo B la incertidumbre está, frecuentemente, disponible en diversas formas al alcance del investigador.

Una de las fuentes de información que se puede utilizar para, mediante una evaluación de tipo B, estimar el componente metrológico de incertidumbre son los programas de evaluación externa de la calidad. La información proporcionada por los programas de evaluación externa de la calidad se ha utilizado ya en otros campos de la metrología, como es en el establecimiento de objetivos metrológicos de calidad. Algunos autores proponen el uso de esta información para establecer la incertidumbre metrológica de un procedimiento. No obstante al igual que sucede cuando se usa se usa esta información para establecer objetivos de calidad (98), es necesario actuar de manera prudente

con los datos contenidos en estos programas debido a las distintas objeciones que se han hecho a su uso.

En otros casos es posible hacer una evaluación de tipo B de la incertidumbre metrológica usando la información suministrada por las compañías fabricantes de reactivos o analizadores. El fabricante debería ser consciente de la necesidad de informar de la incertidumbre asociada a los distintas fases del procedimiento y así como generalmente se ofrece la información del intervalo de referencia de una magnitud para un procedimiento o de otras características metrológicas del mismo, no se considera sin embargo necesario informar la incertidumbre asociada a la fase metrológica, o a otras fases, de un procedimiento de medida. Entre la información de las características metrológicas que se acostumbra a adjuntar suelen haber datos sobre la inexactitud e imprecisión del procedimiento. Habitualmente se ofrecen datos de la imprecisión intraserial e interdiaria del procedimiento a diversas concentraciones del componente. Esta información puede haber sido obtenida a partir de muestras procedentes de sueros humanos o de muestras de control. El número de muestras a las que se estima la imprecisión es variable dependiendo del fabricante y del procedimiento estudiado. En este punto se debe señalar que no existe un número de puntos mínimo deseable establecido para estimar una función de variancia pero si es obvio que cuantos más valores se tengan mejor estimador será la función obtenida de la función de variancia subyacente que representa la incertidumbre metrológica del procedimiento. Lo que se plantea en este momento es no tanto la posibilidad de usar la información sobre la imprecisión que acompaña a los reactivos para estimar la incertidumbre metrológica como la necesidad de que la incertidumbre debida a la imprecisión interdiaria del procedimiento y la de otros componentes de la incertidumbre se informen de forma específica. En este estudio se ha demostrado que para la mayoría de los procedimientos no se debe asumir un coeficiente de variación constante para la imprecisión interdiaria a lo largo de todo el intervalo de medida, y por tanto la información de la incertidumbre

debida a este componente de incertidumbre se debe hacer mediante una perfil de imprecisión que cubra todo el intervalo de medida del procedimiento.

## 6. Conclusiones

De los resultados obtenidos con este trabajo se concluye que:

- 1- El componente de incertidumbre correspondiente a la variabilidad premetrológica generalmente no es despreciable a pesar de que todos los procesos que forman parte de la fase premetrológica estén aparentemente bien normalizados.
- 2- La imprecisión interdiaria estimada con materiales de control no siempre es la misma que la estimada con muestras de pacientes. Por tanto, el uso de la información proveniente del control interno de la calidad para estimar la incertidumbre típica debida a la imprecisión interdiaria sólo se debe hacer si está comprobado que los materiales de control y las muestras de pacientes son intercambiables en lo que respecta a la imprecisión interdiaria.
- 3- La variancia correspondiente a la imprecisión interdiaria de los distintos procedimientos estudiados tiene un comportamiento heterocedástico, aumentado su valor a medida que lo hace la concentración del componente. Se debe tener en cuenta este hecho cuando se estima la incertidumbre metrológica de un procedimiento a diversas concentraciones del componente.
- 4- El coeficiente de variación correspondiente a la imprecisión interdiaria tiene un comportamiento variable dependiendo de cual sea el procedimiento estudiado y no todos muestran un coeficiente de variación constante en el intervalo estudiado. El uso del coeficiente de variación como incertidumbre metrológica relativa aplicable a un intervalo de concentraciones determinado sólo se debe hacer en aquellos procedimientos cuyo coeficiente de variación sea constante en dicho intervalo.

5- Las interferencias tienen un potencial efecto sobre la incertidumbre de una medición que debe ser tenido en cuenta cuando se estima la incertidumbre de un resultado.

## 7.Referencias

1.International Bureau of Weights and Measures, International Electrotechnical Commission, International Organization for Standardization, International Organization of Legal Metrology, International Federation of Clinical Chemistry, International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Pure and Applied Physics. International Vocabulary of basic and General Terms in Metrology. ISO: Geneva,1993.

2.International Organization for Standardization, International Electrotechnical Commission, International Organization of Legal Metrology, International Bureau of Weights and Measures. Guide to the expression of uncertainty in measurement. Geneva: ISO, 1993.

3.International Union of Pure and Applied Chemistry, International Federation of Clinical Chemistry. Compendium of terminology and nomenclature of properties in clinical laboratory sciences [Prepared by Rigg JC, Brown SS, Dybkaer R, Olesen H]. Oxford: Blackwell: 1995.

4.European Committee for Standardization. Medical informatics-Expression of the results of measurements in health sciences. ENV 12435. Brussels. CEN, 1996.

5.International Organization for Standardization. Quality management in the medical laboratory. ISO/DIS 15189. Geneva: ISO;2000.

6.Fuentes Arderiu X. Interpretación diagnóstica de los datos de laboratorio: Variabilidad de las magnitudes bioquímicas. Fuentes de variación y análisis de componentes. Quím Clín 1990; 9: 431-433.

7.Ellison SRL, Rosslein M, Williams A, dir. Quantifying uncertainty in analytical measurements. 2<sup>nd</sup>.Ed. London: EURACHEM/CITAC; 2000.

8.Sociedad Española de Química Clínica. Variaciones analíticas y extra-analíticas en la producción de valores de referencia. *Quim Clin* 1984;3:43-50.

9.Young DS. Biological variability. En Brown SS, Mitchel FL, Young DS, dirs. *Chemical diagnosis of disease*. Amsterdam: Elseiver,1979.

10.Fuentes Arrderiu X. Variabilidad y valores de referencia. En Fuentes Arderiu X, Queraltó Compañó JM. *Bioquímica Clínica: Aspectos semiológicos*. Barcelona: Ediciones Mayo, S.A. 1992.

11.Fraser CG. Interpretación de datos bioquímico-clínicos. 1ª ed.. Barcelona: Mayo, 1988.

12. Minors DS, Waterhouse JM. Chronobiochemistry: an overview of circadian rhythms and some applications to clinical medicine and biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1987; 24:16-27.

13. Harris EK, Brown SS. Temporal changes on the concentrations of serum constituents in healthy men. *Ann Cli Biochem* 1979; 16:169-76.

14.Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Cli Lab Sci* 1989; 27:409-37.

15. Interbnational Federation of clinical chemistry. Approved recommendation of the theory of reference values. *J Cli Chem Clin Biochem* 1987;25:337-42. *J Cli Chem Clin Biochem* 1987;25:639-44. *J Cli Chem Clin Biochem* 1987;25:645-56. *J Cli Chem Clin Biochem* 1987;25:657-62. *J Cli Chem Clin Biochem* 1988;26:593-98. *J Cli Chem Clin Biochem* 1991;29:531-5.

16. Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with insulin-dependent diabetes-mellitus. *Clin Chem* 1987;33;57-61.

17. Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1987;33; 670-3.
18. Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with chronic liver disease. *Clin Chem* 1987;33;1133-3.
19. Guder WG, Narayanan S, Wiser H, Zawta B. *Samples: From the patient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results.* Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
20. Young DS. *Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests.* Washington: AACC, 1997.
21. Rehak NN, Chiang BT. Storage of Whole Blood: Effect of Temperature on the Measured Concentration of Analytes in Serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2211-4.
22. Statland BE, Winkel P. Effects of preanalytical factors on the intraindividual variation of analytes in the blood of healthy individuals consideration of preparation of the subject and time of venipuncture. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1977;8:105.
23. Statland BE, Winkel P. Response of clinical chemistry quantity values to elect physical, dietary, and smoking activities. *Prog Clin Path* 1981;8:25.
24. Dybkaer R. Result, error and uncertainty. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;55:97-118.
25. Bablok. W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. *Journal of automatic Chemistry* 1985;7:74-9.

- 26.ISO. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result. Part 1. General principles and definitions. ISO/DIS 5725-1. Geneva: ISO, 1991.
- 27.ISO. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result. Part 2. A basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. ISO/DIS 5725-2. Geneva: ISO, 1991.
28. European Committee for Clinical Laboratory Standards. Guidelines for the evaluation of analysers in clinical chemistry. Berlin: Beuth Verlag, 1986.
- 29.Bokelund H, Winkel P, Stantland BE. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents:3. Use of randomized duplicate serum specimens to evaluate sources of analytical error. Clin Chem 1974; 20:1507-12.
- 30.Fuentes Arderiu X. Variabilidad metrológica. En Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra MJ. Bioquímica Clínica: Aspectos metrológicos e instrumentales. Barcelona: Ediciones Mayo, S.A. 1996.
- 31.Société Française de Biologie Clinique. Influence des facteurs analytiques sur les valeurs de référence. Ann Biol. Clin 1979;37:125-26. de V)
- 32.Frey E, Fuentes Arderiu X, Querlató JM. Comparación de métodos analíticos. Educación continuada en Química Clínica 1988;1:69-80.
- 33.Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result. Part 3: Intermediate measures of the precision of a standard measurement method. ISO 5725-3:1994.
- 34.Jose Maria Doménech Massons. Tablas estadísticas. Barcelona: Ediciones Signo. 1999.

35.ISO. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result. Part 4. Basic methods for estimating the trueness of test method. ISO/DIS 5725-4. Geneva: ISO, 1991.

36.Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. Editorial. Espasa Calpé, S.A. Madrid 2001.

37.International Union of Pure and Applied Chemistry and International Federation of Clinical Chemistry. Properties and units in the clinical laboratory sciences-I. Syntax and semantic rules. Pure and appl Chem 1995;67;1563-74.

38.International Union of Pure and Applied Chemistry and International Federation of Clinical Chemistry. Properties and units in the clinical laboratory sciences-XI. Coding systems-structure and guidelines. Pure and appl Chem 1997;69;2607-20.

39.Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples: List of Analytes preanalytical variables Darmstadt. German Society of clinical Chemistry 1996.

40.International Organization of Standardization. Certification of reference materials. General and statistical principles. ISO Guide 35. Geneva:ISO, 1985.

41.Kristiansen J, Christensen JM, Nielsen JL. Uncertainty of atomic absorption spectrometry: application to the determination of lead in blood. Mikrochim Acta 1996;123:241-9.

42.International Union of Pure and Applied Chemistry. Definition and classification of interferences in analytical procedures. Pure Appl Chem 1989; 61: 91-5.

43.European Committee for Standardisation. Expression of the results of measurement in health sciences. ENV 12435:1997. Geneve: CEN, 1997.

44. Fraser CG, Peake MJ. Problems associated with clinical chemistry quality control materials. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1980;12:59-86.
45. Kragten J. Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique. *The Analyst* 1994; 119:2161-5.
46. National cholesterol education program: Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents. *Pediatrics* 1992;89: 529-84.
47. National education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, And Blood Institute; 2001.
48. Sociedad Española de Química Clínica. Recomendación sobre la nomenclatura de las magnitudes bioquímicas. *Quím Clín* 1987; 6:225-34.
49. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten biologischen Flüssigkeiten. *Z Clin Chem Clin Biochem* 1972; 10:183-4.
50. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten biologischen Flüssigkeiten. *Z Clin Chem Clin Biochem* 1972; 10:182-3.
51. Wahlefeld AW, Herz G, Bernt E. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; Vol 29, Suppl 126:Abstract 11.12
52. Gindler EM, King JD. *Am J Clin Pathol* 1972;58:376.
53. Roeschlau P. *Z klin Chem Klin Biochem* 1974;12:226.

54.Horder M, Elser RC, Gerhart M. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for Creatine kinase. Eur j Clin Chem Clin Biochem 1991;29:435-56.

55.Seeling HP, Wüst H. *Ärzt Labor* 1969;15:34.

56.Bartels H. *Clin Chim Acta* 1972;37:193

57.Dubois S, McGovern M, Ehrhardt V. Eisenstoffwechsel-Diagnostik mit Boehringer Mannheim/Hitachi-Analysensystemen: Ferritin, Transferrin und Eisen. *GIT Labor-Medizin* 1988;9:468-71.

58.Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen phosphatase. *Z klin Chem u klin Biochem* 1972;10:191.

59. Henry R(ed). *Clinical Chemistry: principles and technics*, 2<sup>nd</sup> edition. New York, NY: Harper and Row, 1974;773.

60.Trider P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clin Biochem* 1969;6:24-7.

61.Siedel J, Wahlefeld AW, Ziegenhorn J. A new iron ferrozine-reagent without deproteinization. *Clin Chem* 1984;30:975 (AACC-Meeting-Abstract).

62.*Analytical Letters* 1969;2(12):665-74.

63.*J Electroanal Chem*. Elsevier Sequoia SA;Lausanne1982;132:99-105.

64.Shibata Y, Maruizume T, Miyage H. *Journal of the Chemical Society of*

- Japan. Chemistry and industrial Chemistry 1992;9:961-7.
65. Weichselbaum TE. Am J Clin Pathol 1946;16:40.
66. TSH-Tirotropina. Roche. 1810430001. Edición enero 1999.
67. FT4-Tiroxina libre. Roche. 1810537001. Edición septiembre 1999.
68. Siedel J. AACC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39:1127.
69. T3-Triyodotironina. Roche. 1810456001. Edición mayo 1999.
70. Siedel J(Roche) comunicación personal.
71. Talke H, Schubert GE. Enzymatische harnstoffbestimmung im blut und serum in optischem test nach warburg. Klin Wschr 1965;43:174-5.
72. Logan JE, Allen RH. Control serum preparations. Clin Chem 1968; 14:437-48.
73. Vinkelsoe J, Bechgaard E, Magid E: A procedure for the evaluation of precision and accuracy of analytical methods. Scad J Clin Lab Invest 1974;34:149-52.
74. Ross JW, Fraser MD. The effect of analyte and analyte concentration upon precision estimates in clinical chemistry. Am J Clin Pathol 1976;66:193-205.
75. Guidelines for the evaluation of analyzers in clinical chemistry. ECCLS Document. Berlin: Beuth Verlag, 1986.
76. Guidelines for a User Laboratory to Evaluate and Select a Kit for its Own Use. ECCLS Document. Berlin: Beuth Verlag, 1986.

77. González de la Presa B, Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra MJ, Torralba Rodríguez A. Magnituds Bioquímiques, Informació metodològica. Institut Català de la Salut, 1995.

78. Elfath D, Cooney J, McDaniel et al. Effect of frozen storage of serum on the level of 22 chemistry analytes. Clin Chem 1991;37:931.

79. Dixon WJ. Processing data for outliers. Biometrics 1953; 9:74-89.

80. Sadler WA. Variance function program. Version 2.0. April 1999. [4 Diskettes 3.5"]

81. Sadler WA, Smith MH. Use and abuse of imprecision profiles: some pitfalls illustrated by computing and plotting confidence intervals. Clin Chem 1990;36:1346-50.

82. Sadler WA, Smith MH, Legge HM. A method for direct estimation of imprecision profiles, with reference to immunoassay data. Clin Chem 1988;34:1058-61.

83. Hohnadel DC, Sunderman FW, Terhune P, Reid FH, Pomper IH. Comparisons of the precision of replicate analyses of frozen and lyophilized quality control serums. Ann Clin Lab Sci 1973;3:335-40.

84. Kallner A, Waldenström J. Does the uncertainty of commonly performed glucose measurements allow identification of individuals at high risk for diabetes?. Clin Chem Lab Med 1999, 37:907-12.

85. Kristiansen J. Description of a general applicable model for the evaluation of uncertainty of measurement in clinical chemistry. Clin Chem Lab Med 2001;

39(10):920-31.

86.Cuccherini B, Nussbaum SJ, Seeff LB, Lukaacs L, Zimmerman HJ. Stability of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. J Lab Clin Med 1983;102:370-6.

87.Xavier Fuentes-Arderiu, Bernardino González-de-la-Presa. Interchangeability of Estimates of Day-to-Day Imprecision between Commercial Control Materials and Serum Pools. Clin Chem 2002;48:573-4.

88.Kroll MH, Chesler R. Rationale for using multiple regression analysis with complex interferences. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992;30:415-24.

89.Directive 98/79/Ecof of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices. Official Journal of the European Communities L 331:1-37.7-12-1998.

90. The Expert Committee on the diagnosis classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of the Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997;20:1183-97.

91.Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci 1989;27:409-37.

92.Ross JW. Evaluation of imprecision. In: Werner m, editor. CRC Handbook of clinical chemistry. Vol. I. Boca Raton: CRC Press, 1982:391-422.

93.Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in clinical chemistry. Arch Pathol lab Med 1988;112:404-15.

94.Sociedad Española de Química Clínica. Interpretación de un cambio entre dos valores consecutivos de una magnitud bioquímica. Quim Clin 1989;8:357-

61.

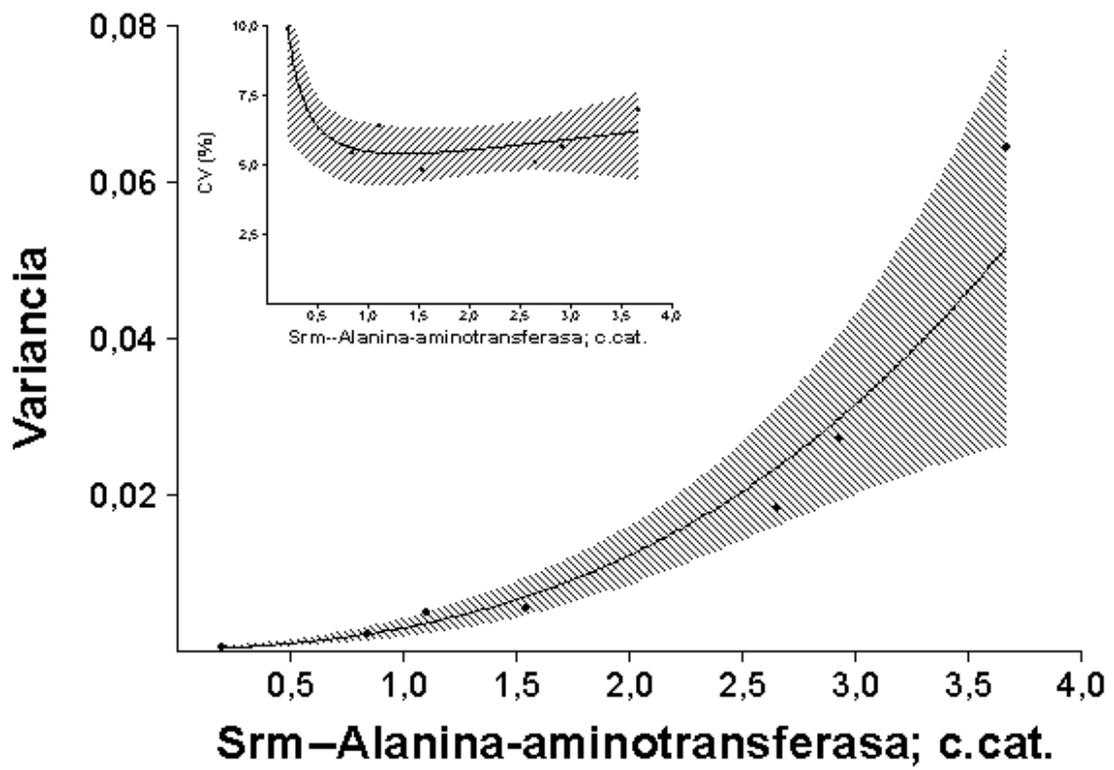
95.Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data, 1988-1991. Arch Pathol Lab Med 1992;116:916-23.

96.Sebastián-Gambaro MA, Lirón-Hernández FJ, Fuentes-Arderiu X. Intra- and Inter.-Individual biological variability data bank. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35(11):845-52.

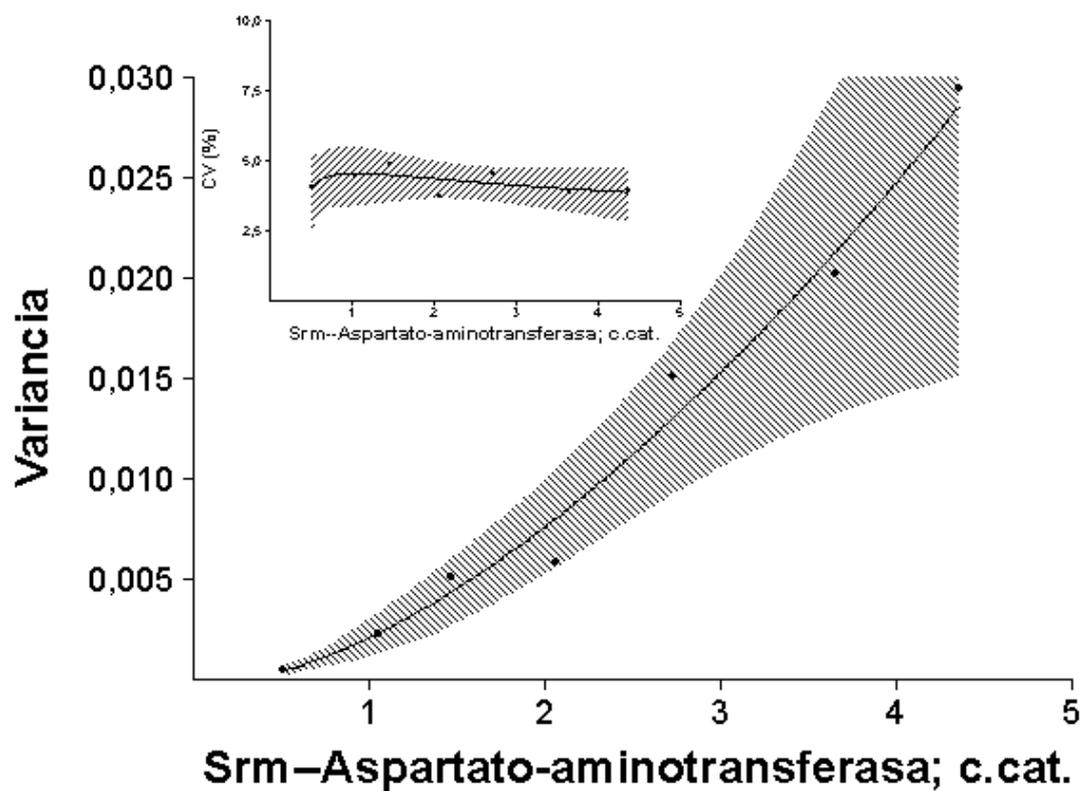
97.Fuentes-Arderiu X, González-de-la-Presa B. Biometrological uncertainty. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:273.

98.Fuentes-Arderiu X, Alía P. Goals for imprecision derived from the “State of the art”. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:543-4.

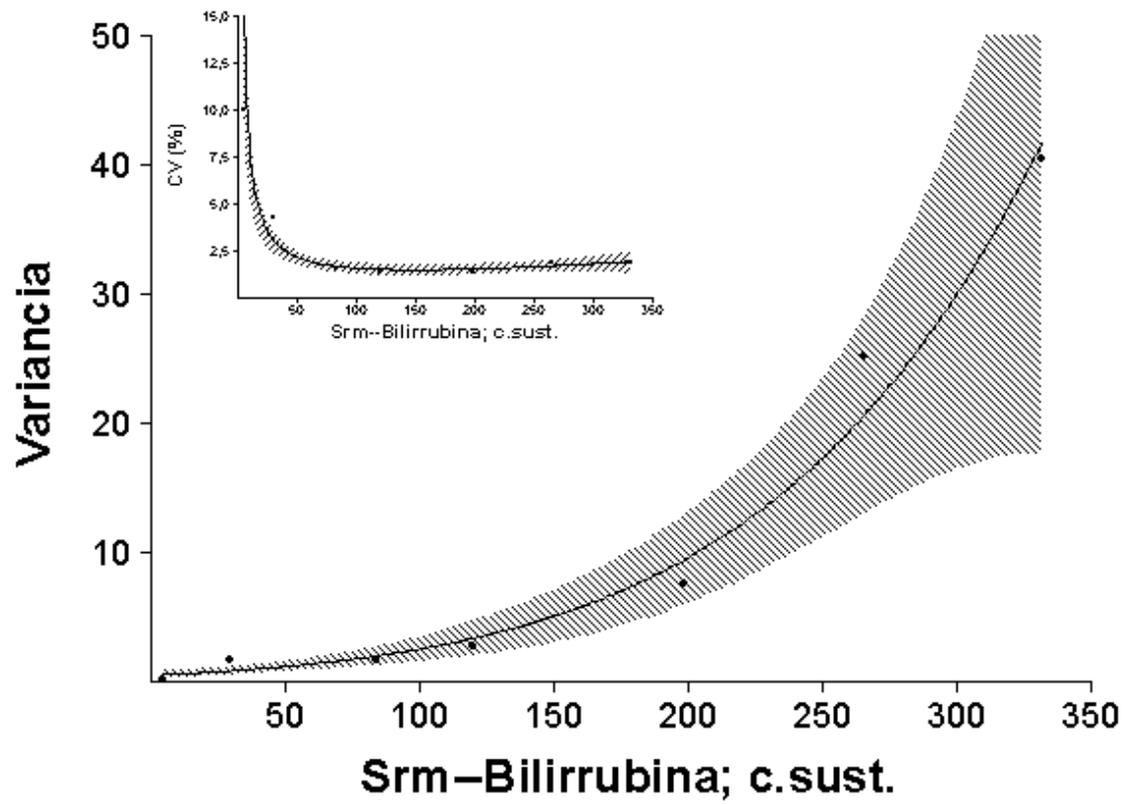
Gráfica 4.1 Función de variancia y perfil de imprecisión de la alanina-aminotransferasa



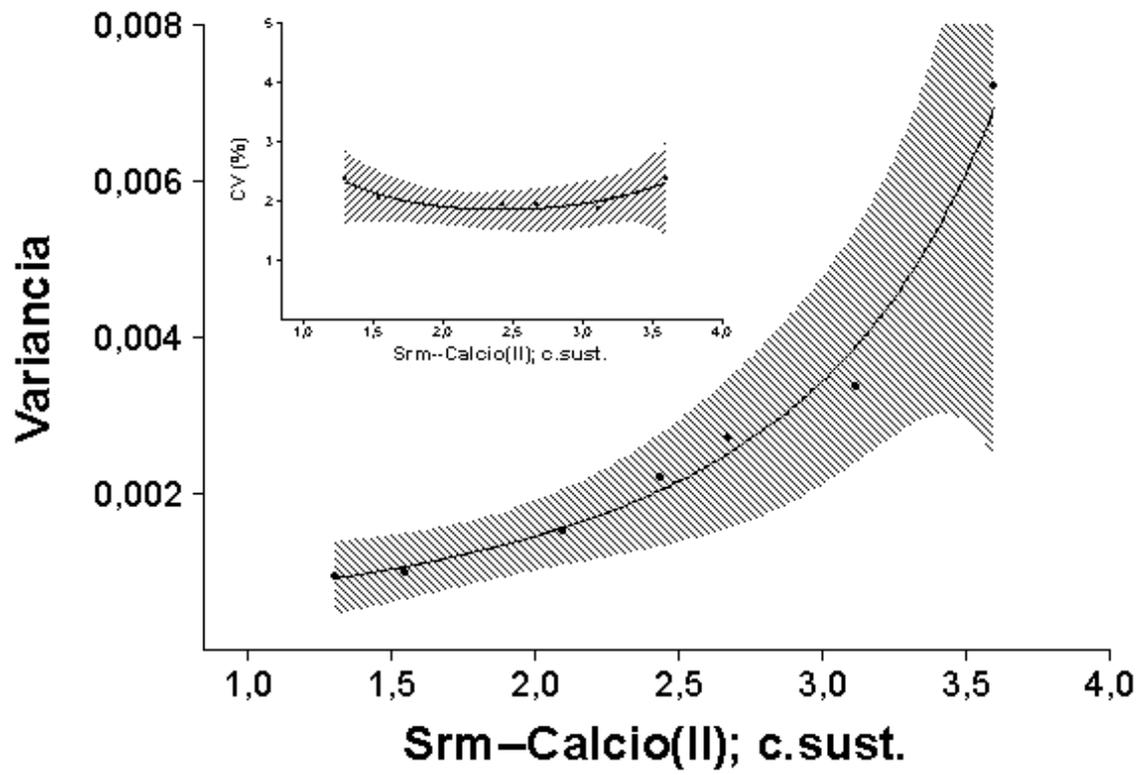
Gráfica 4.2 Función de variancia y perfil de imprecisión de la aspartato-aminotransferasa



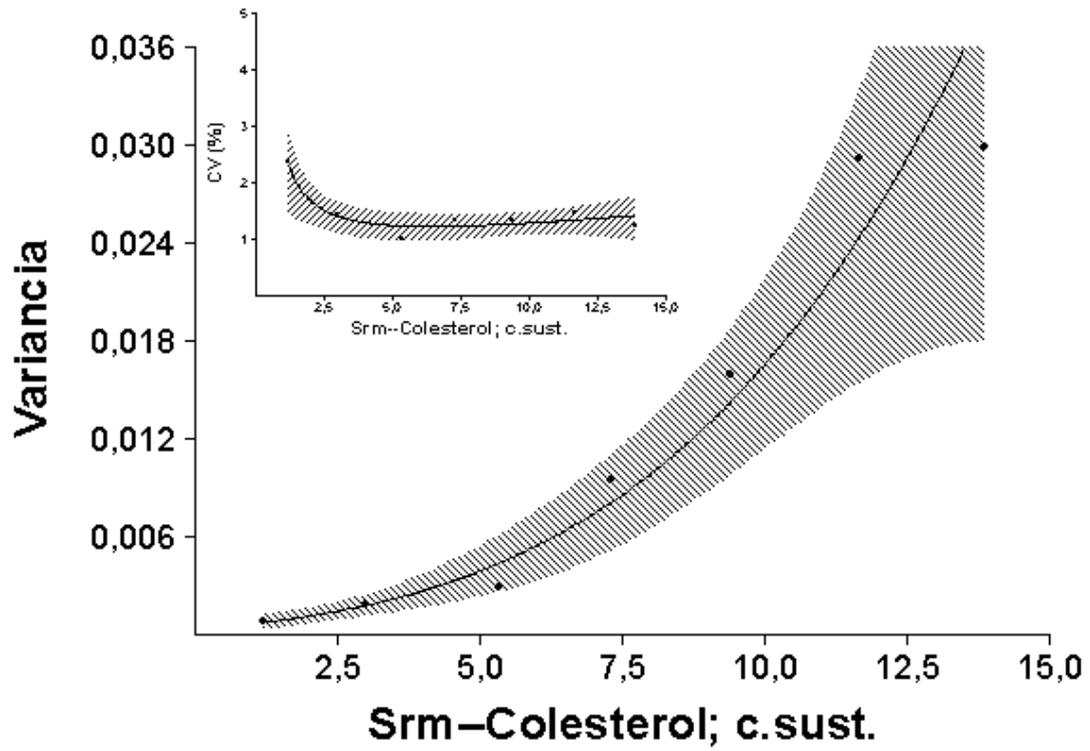
Gráfica 4.3 Función de variancia y perfil de imprecisión de la bilirrubina



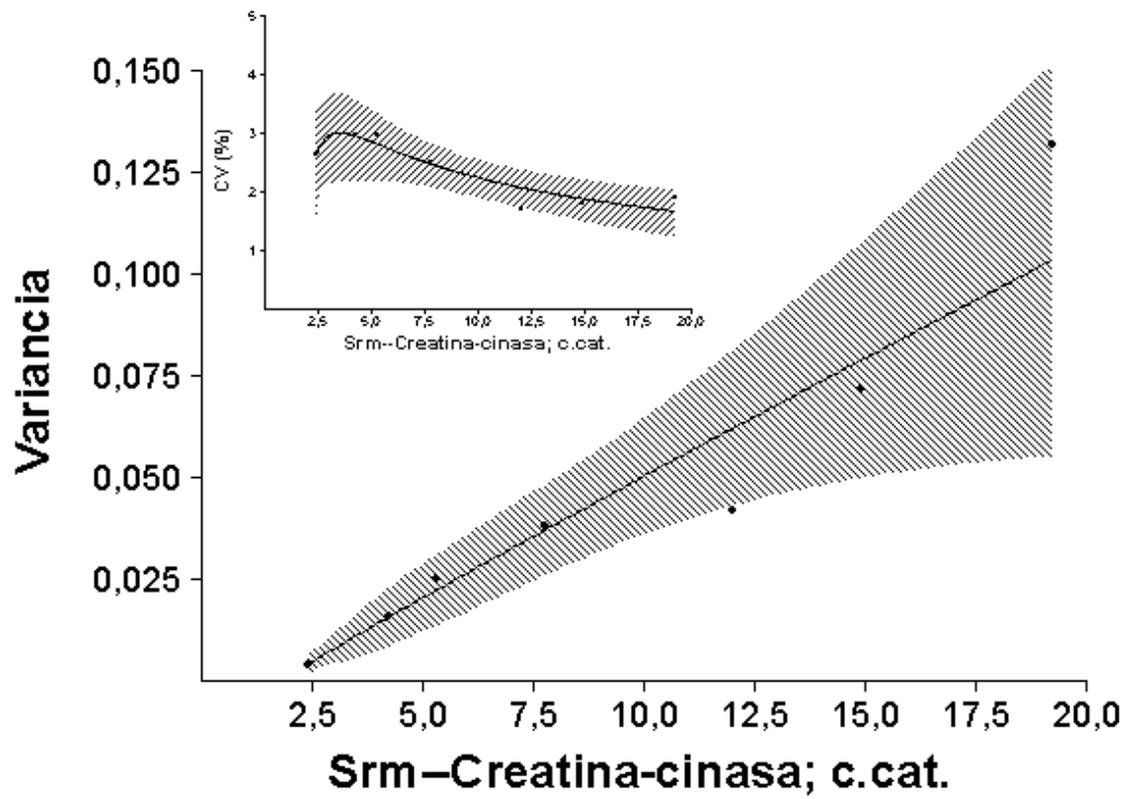
Gráfica 4.4 Función de variancia y perfil de imprecisión del calcio



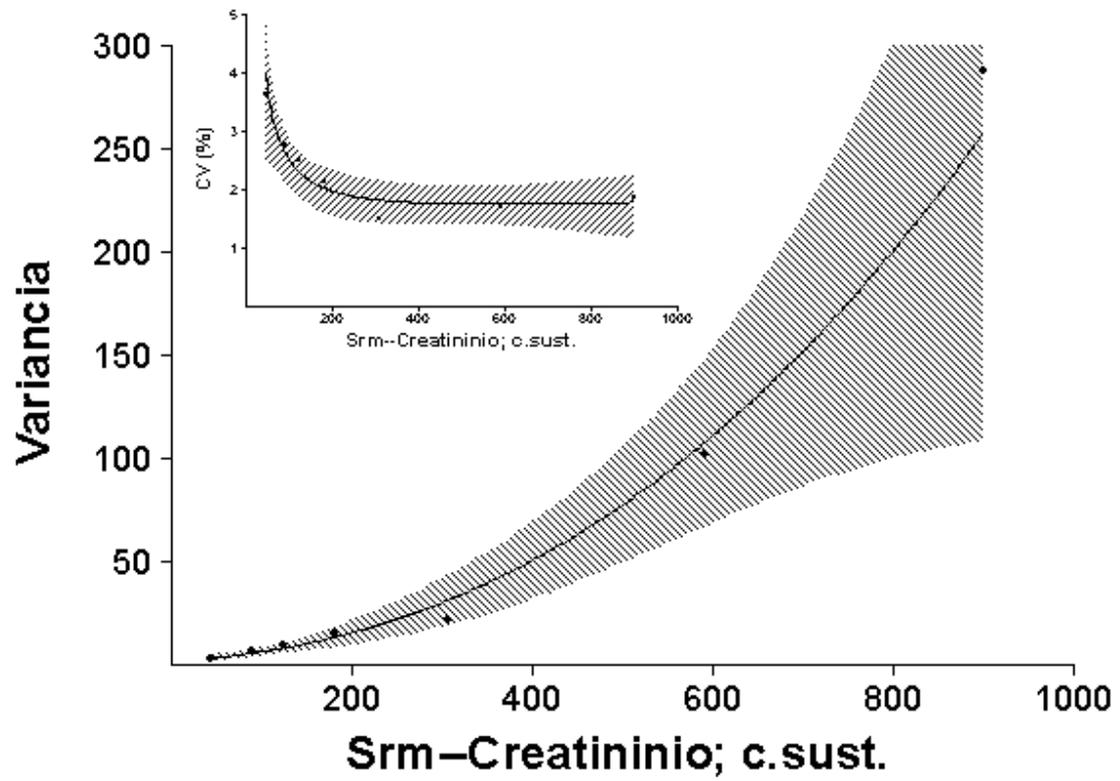
Gráfica 4.5 Función de variancia y perfil de imprecisión del colesterol



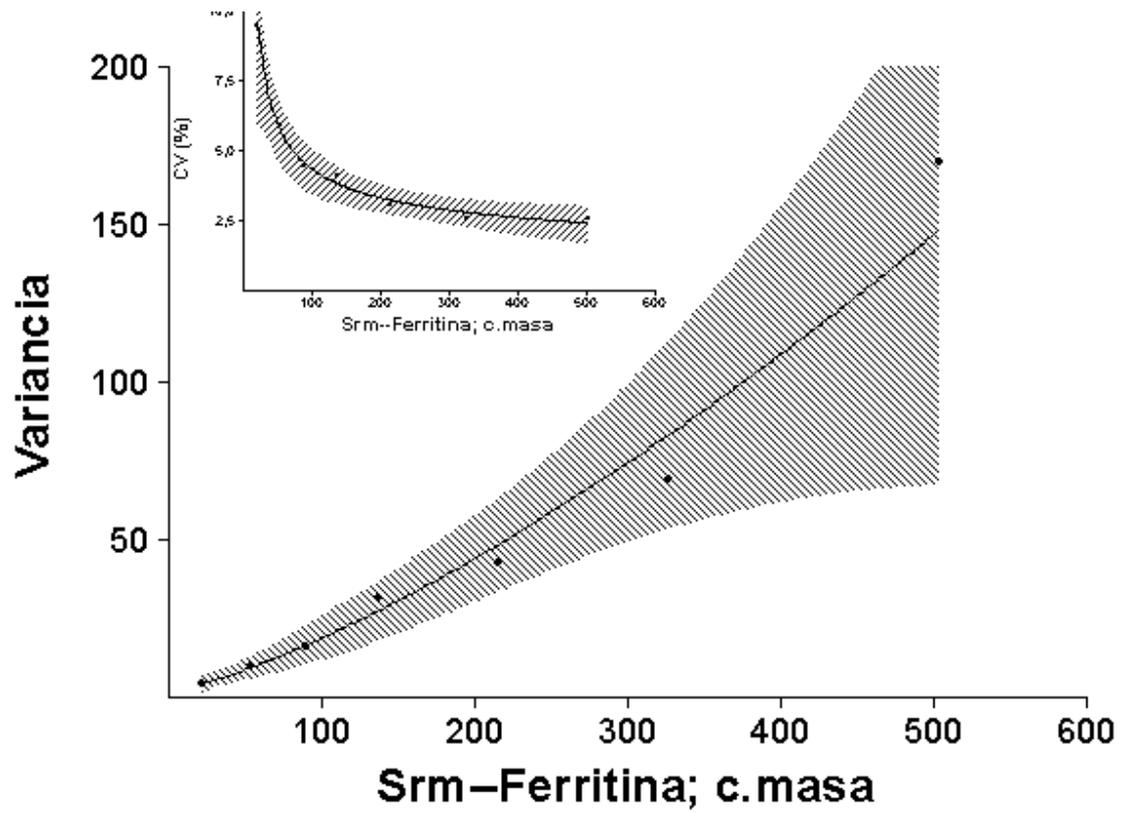
Gráfica 4.6 Función de variancia y perfil de imprecisión de la creatinina



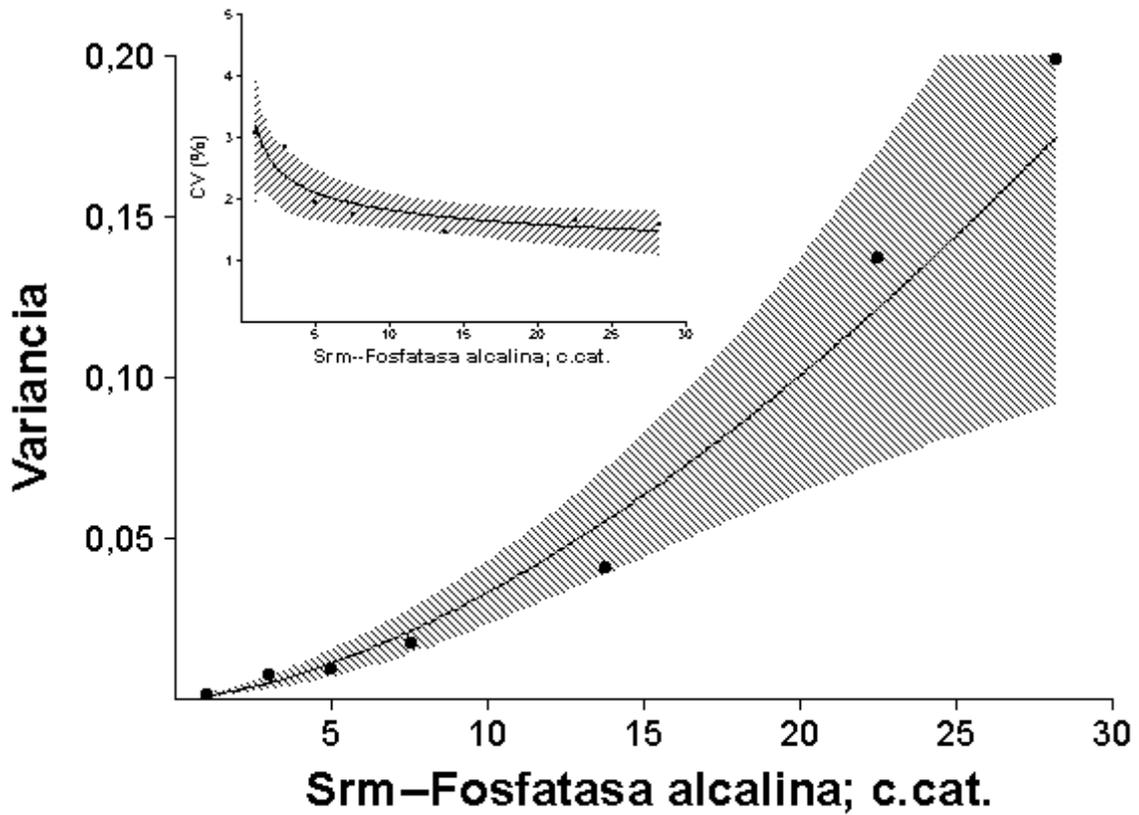
Gráfica 4.7 Función de variancia y perfil de imprecisión del creatinino



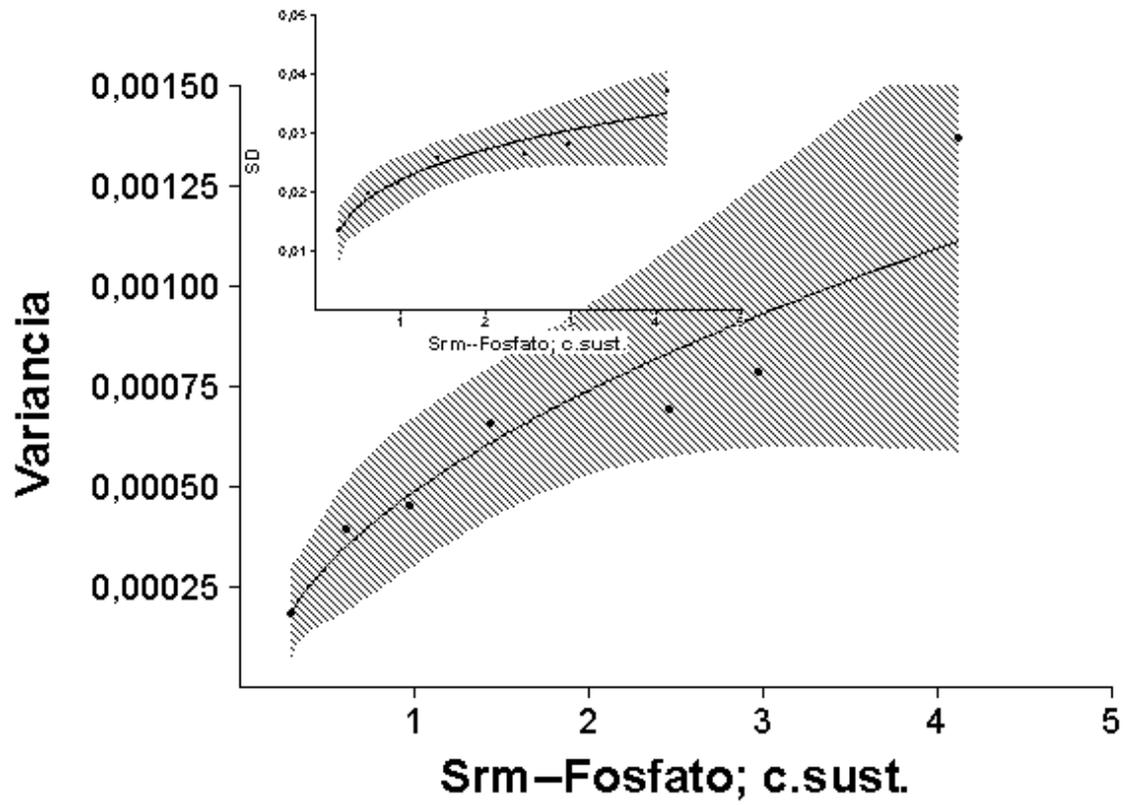
Gráfica 4.8 Función de variancia y perfil de imprecisión de la ferritina



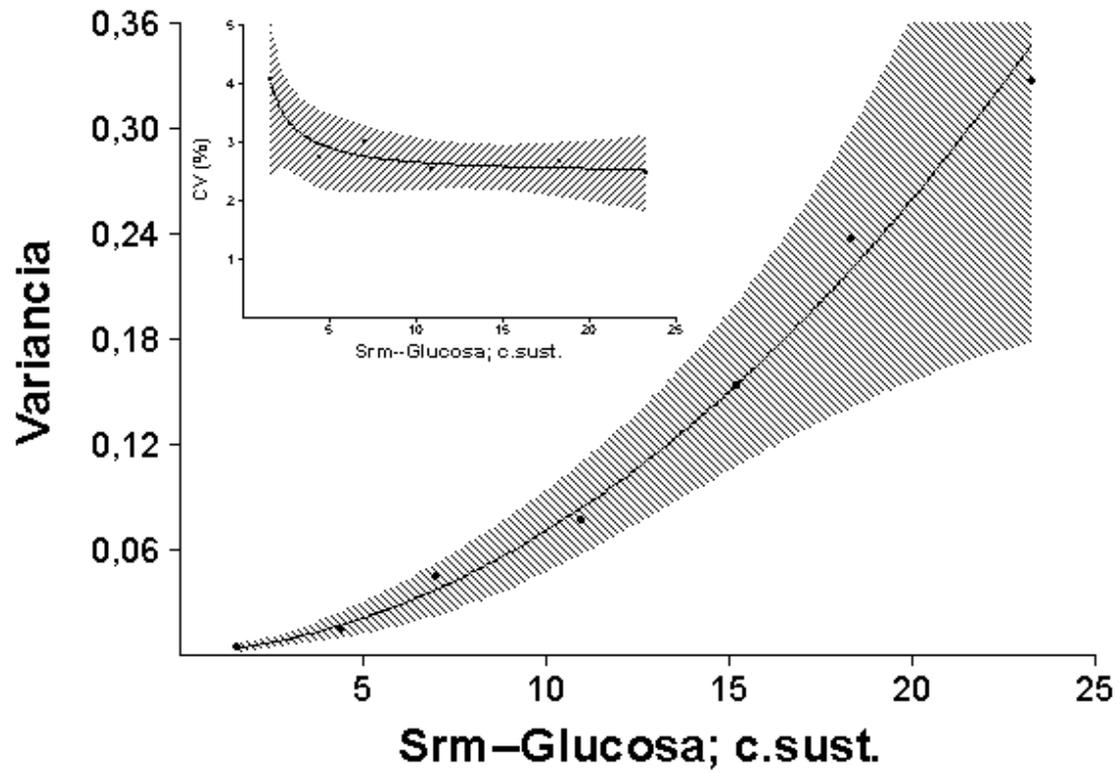
Gráfica 4.9 Función de variancia y perfil de imprecisión de la fosfatasa alcalina



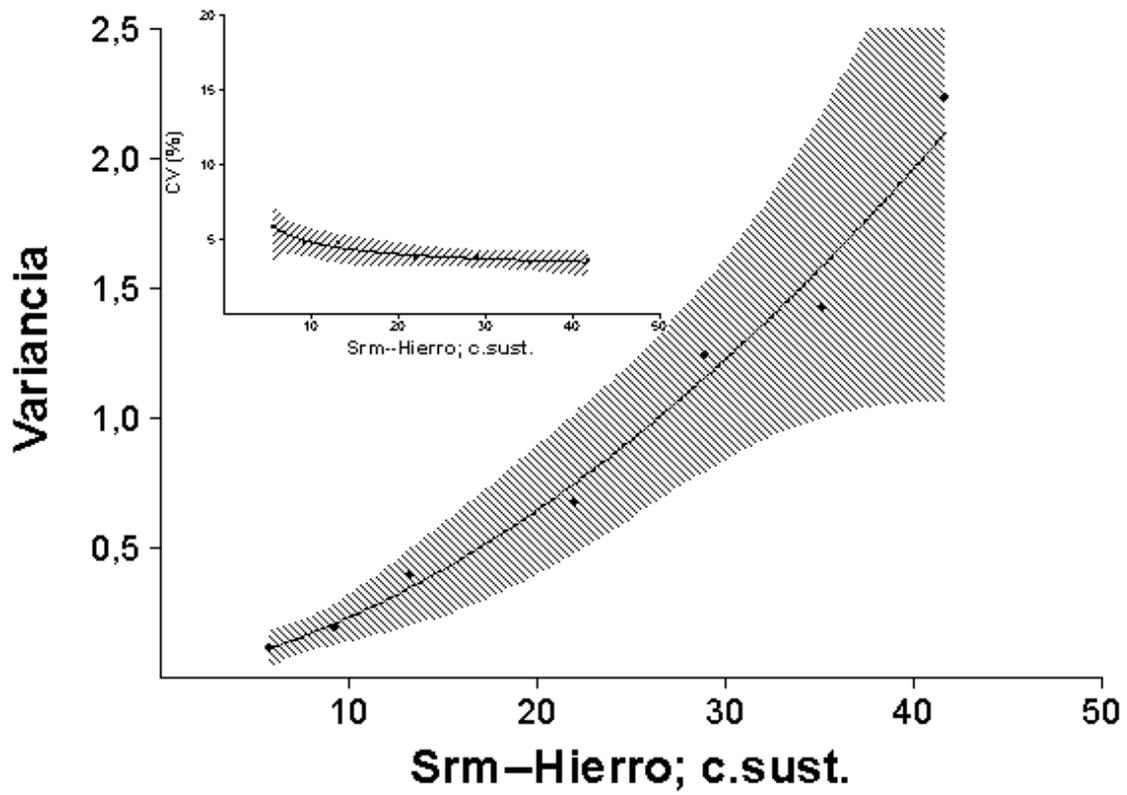
Gráfica 4.10 Función de variancia y perfil de imprecisión del fosfato



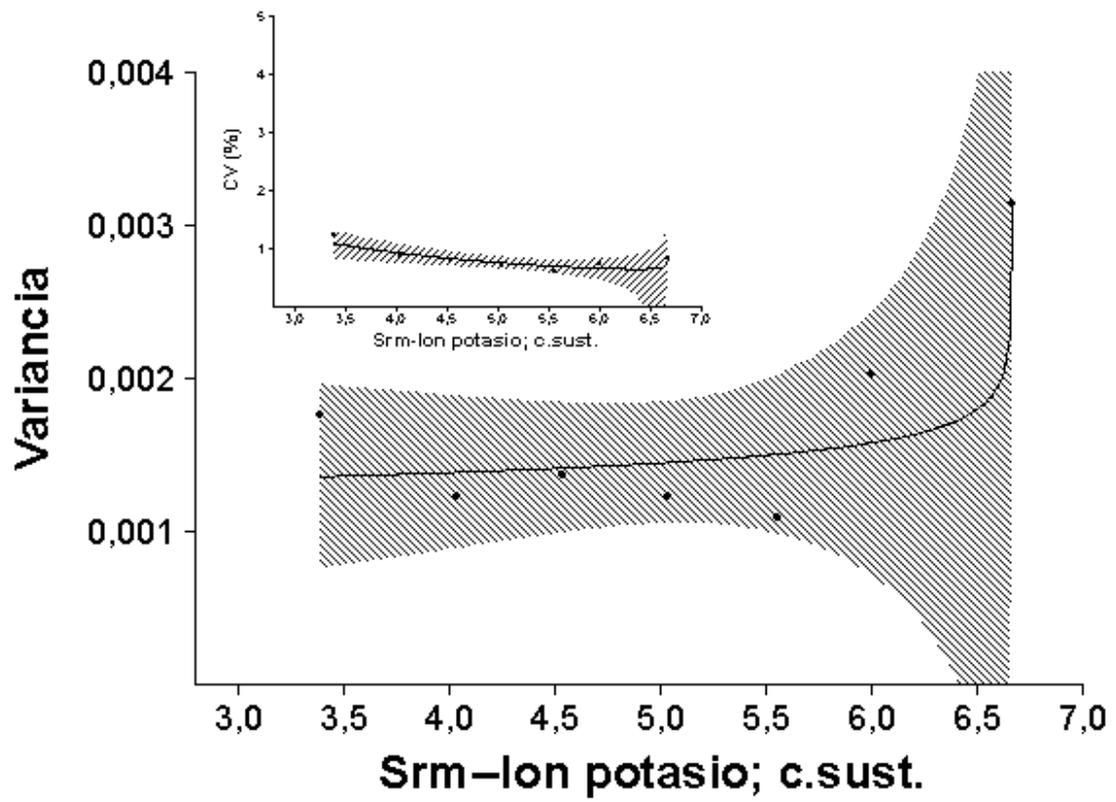
Gráfica 4.11 Función de variancia y perfil de imprecisión de la glucosa



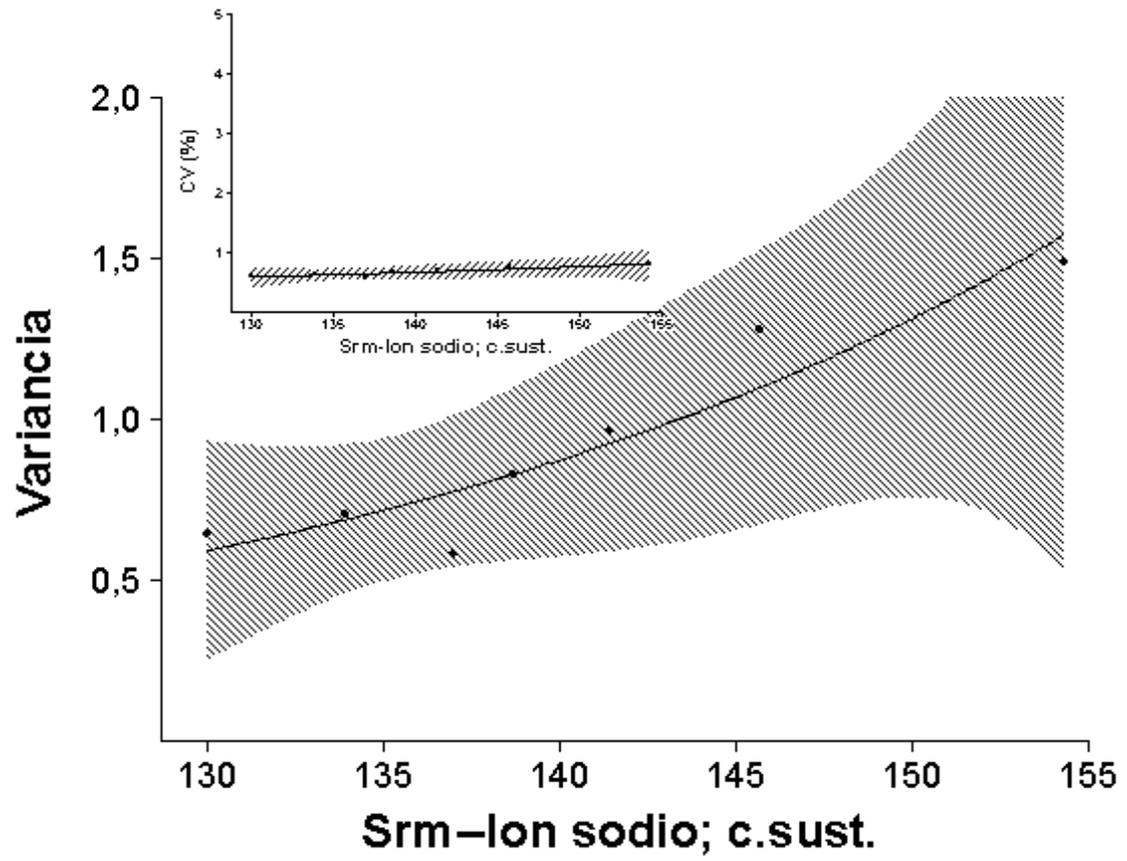
Gráfica 4.12 Función de variancia y perfil de imprecisión del hierro



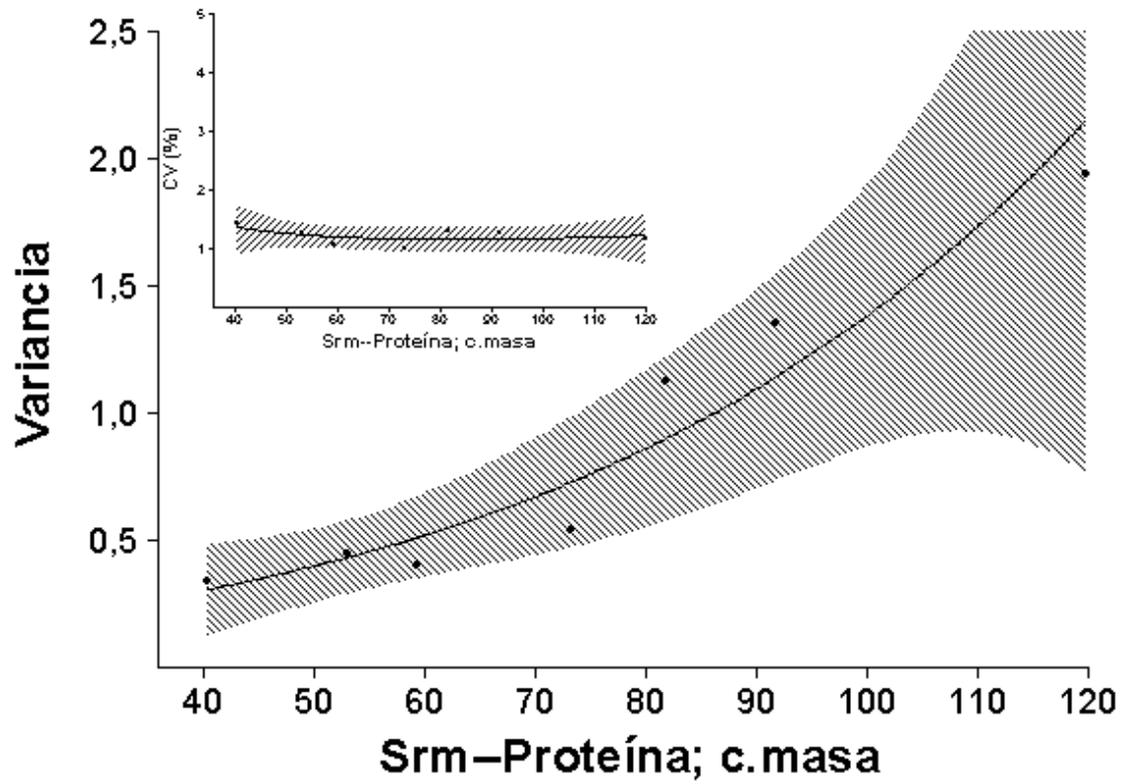
Gráfica 4.13 Función de variancia y perfil de imprecisión del ion potasio



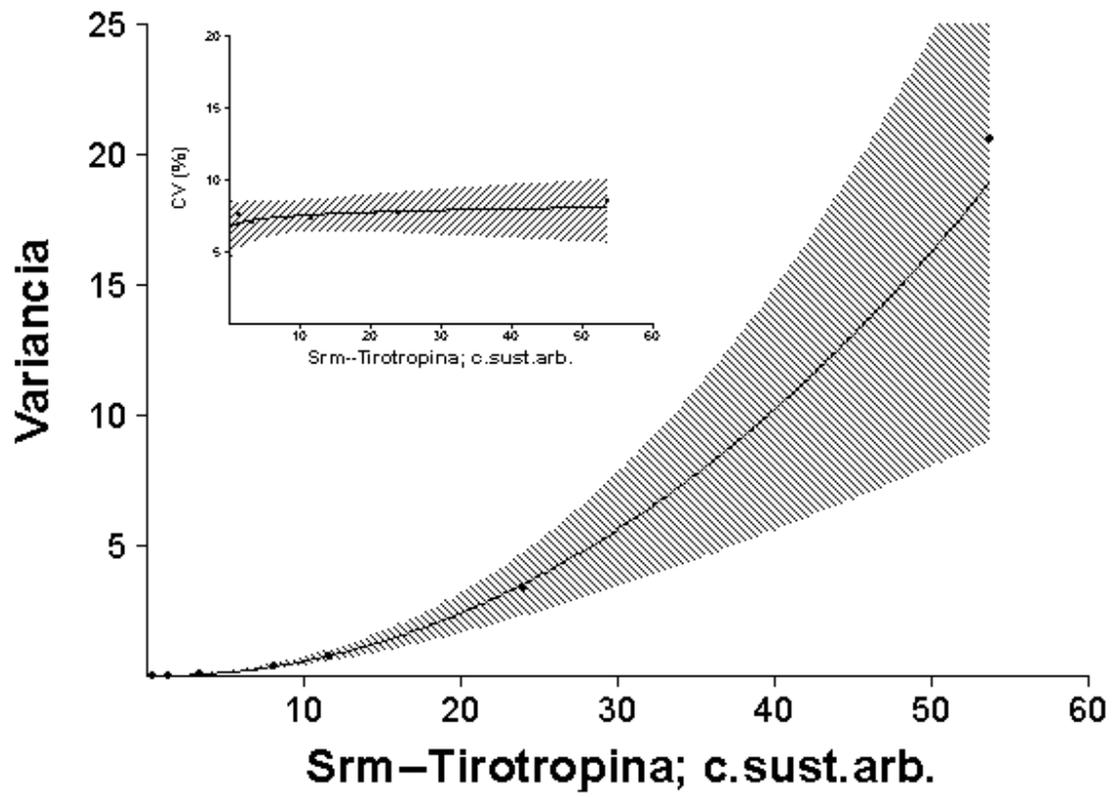
Gráfica 4.14 Función de variancia y perfil de imprecisión del ion sodio



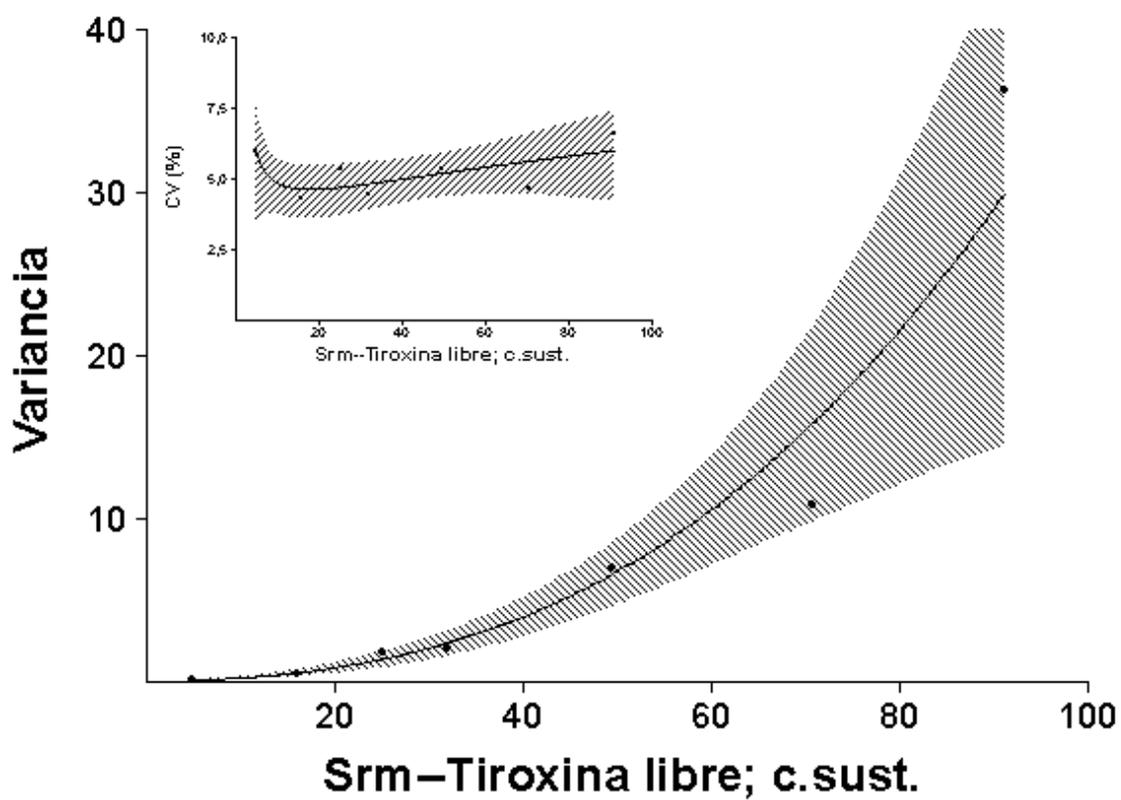
Gráfica 4.15 Función de variancia y perfil de imprecisión de la proteína



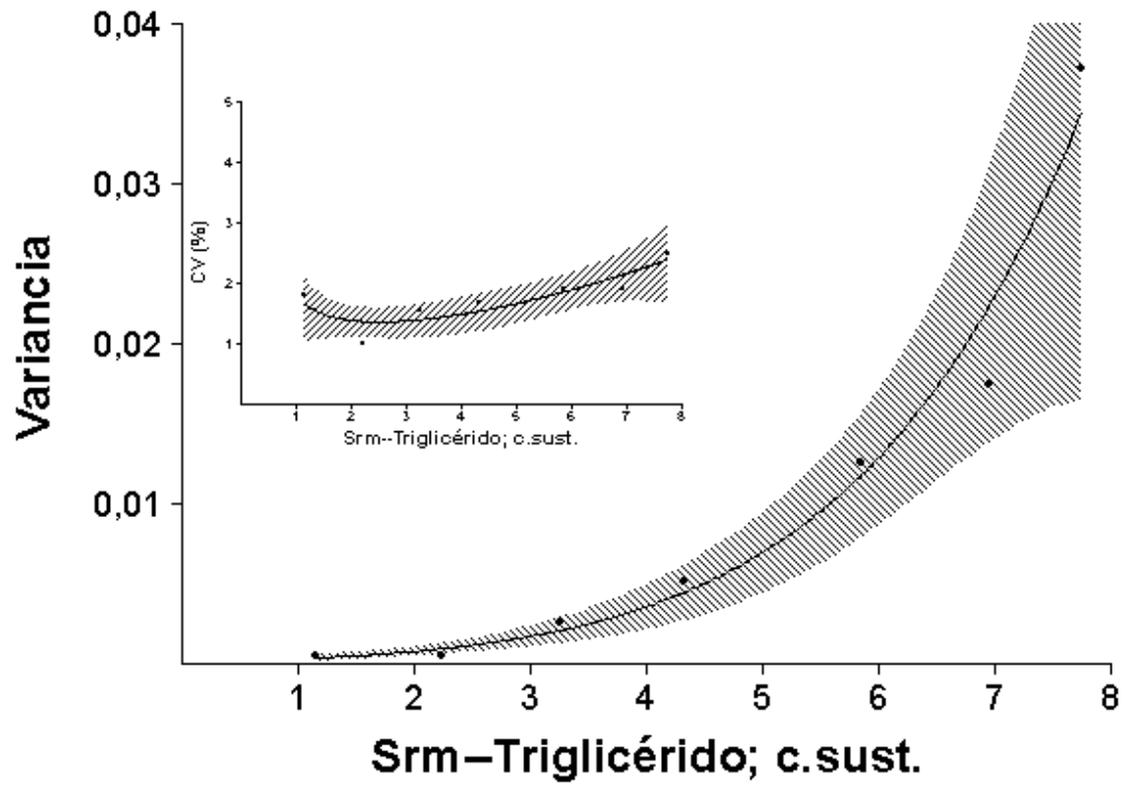
Gráfica 4.16 Función de variancia y perfil de imprecisión de la tirotropina



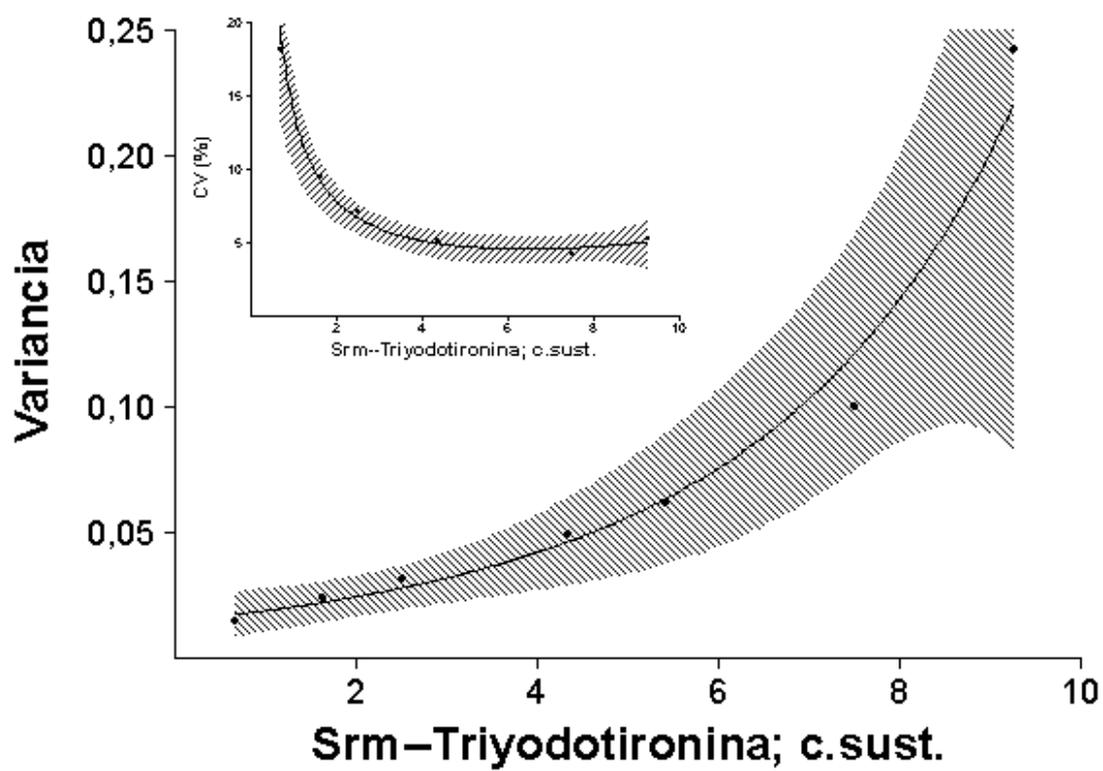
Gráfica 4.17 Función de variancia y perfil de imprecisión de la tiroxina libre



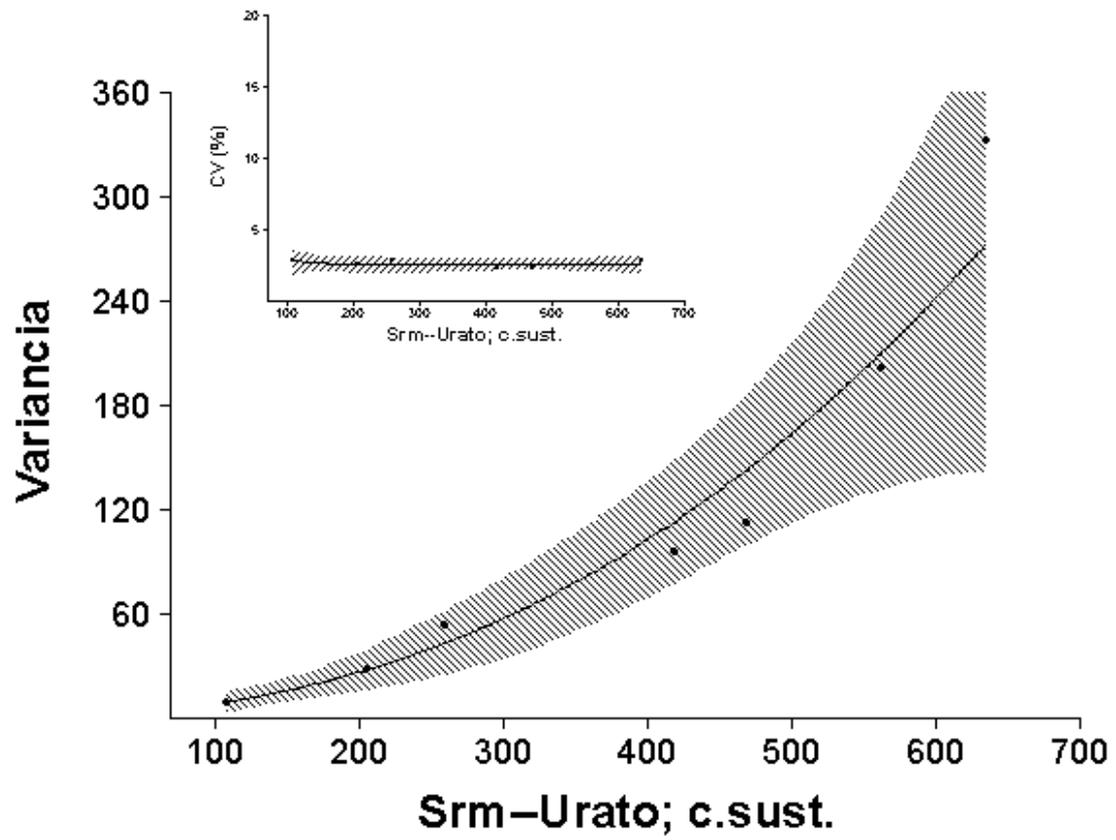
Gráfica 4.18 Función de variancia y perfil de imprecisión del triglicérido



Gráfica 4.19 Función de variancia y perfil de imprecisión de la trydotironina



Gráfica 4.20 Función de variancia y perfil de imprecisión del urato



Gráfica 4.21 Función de variancia y perfil de imprecisión de la urea

