

# **Trazabilidad e Incertidumbre de la Medición**

## **en el Laboratorio Clínico**

*Por el Dr. Javier Gella. Universidad Autónoma de Barcelona y Comisión de Metrología de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. España.*

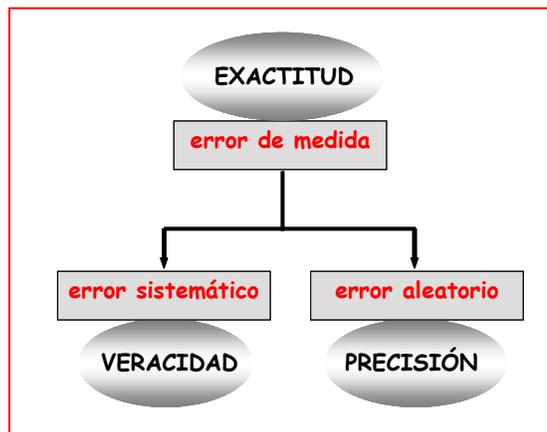
### **1. Normas y leyes**

La trazabilidad e incertidumbre de la medición en el laboratorio clínico es un aspecto normativo para aquéllos que están acreditados en base a la Norma ISO 15189, la cual en sus apartados 5.5.1.3 dice : “El laboratorio debe tener procedimientos para estimar la incertidumbre de las magnitudes que mide”. Y, en el 5.6.3: “El laboratorio debe tener un programa para calibrar sus sistemas de medida de tal manera que asegure que sus resultados son trazables a sistemas de referencia o materiales de referencia”.

Además en Europa, por ley (Directiva Europea 98/79/CE) se obliga a la industria de diagnóstico *in vitro* a proporcionar la trazabilidad de los valores que se asignan a los calibradores. Se entiende que al informar sobre la trazabilidad también se debe proporcionar la incertidumbre de los valores asignados. Esta directiva europea aplica a todas las industrias que venden productos para diagnóstico *in vitro* en Europa.

## 2. La exactitud de las medidas

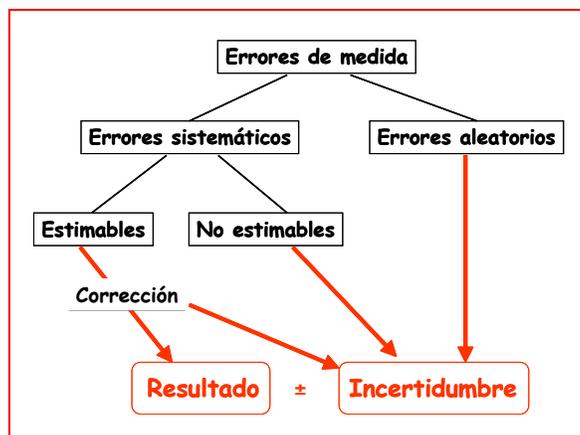
Los conceptos de incertidumbre y trazabilidad metrológicos están relacionados con la exactitud de las medidas. El error de medida puede tener dos componentes: un componente de error aleatorio y un componente de error sistemático. El componente de error aleatorio se relaciona con la precisión de los procedimientos de medida, mientras que el componente de error sistemático lo relacionamos con la veracidad de los procedimientos de medida (Figura 1). No obstante, cuando realizamos una medida única en una muestra de valor desconocido, no podemos saber cuál ha sido el error de medida porque, entre otros, el error aleatorio es impredecible.



*Figura 1. Exactitud, veracidad y precisión.*

En los últimos años se ha producido un desplazamiento en el concepto general sobre la exactitud, pasando de la teoría de los errores a la teoría de la incertidumbre; esto es relativamente nuevo en los laboratorios clínicos, aunque no lo es en otras áreas de la metrología. En esa transición del modelo de los errores al de la incertidumbre (Figura 2), los errores aleatorios son generalmente la parte

principal de la incertidumbre, pero deben distinguirse además dos tipos de error sistemático: unos que pueden ser estimados y que deben corregirse del resultado, y otros que no son estimables y que deben formar parte de la incertidumbre de medición. Además, cuando realizamos la corrección de un error sistemático, se genera también una incertidumbre que se añade a la incertidumbre global de medida; finalmente, para una medida determinada tenemos un resultado y una incertidumbre de ese resultado.



*Figura 2. Del modelo de los errores al modelo de la incertidumbre.*

La incertidumbre se define como un parámetro que se asocia al resultado de una medida y que caracteriza la dispersión de valores que podrían, razonablemente, ser atribuidos al mensurando. Ese parámetro del que estamos hablando es un valor de desviación estándar. La incertidumbre no es lo mismo que el error de medida y no debe confundirse con ese otro concepto.

En la Figura 3 se pretende exponer de una manera sencilla un concepto complejo como es el de la incertidumbre de medida. En esta figura, el eje de

abscisas representa una escala numérica y la flecha negra señala el valor obtenido en una medida. La flecha roja señala el valor verdadero de la magnitud medida. La medición que hemos realizado se ha visto afectado por toda una serie de factores de variabilidad que hacen que tengamos una determinada dispersión de resultados (la curva de trazos). El resultado obtenido (flecha negra) es uno de los posibles, representados por la curva. Nosotros no sabemos donde está el valor verdadero ni tampoco donde está la curva de distribución de posibles resultados. No obstante si que podemos conocer su anchura (su desviación estándar) en estimaciones previas. Tomamos, para el 95% de confianza, dos veces la desviación estándar; esto nos da un intervalo (que es la incertidumbre expandida) que, si lo aplicamos al resultado de nuestra medida, tiene que comprender, con el 95% de confianza, el valor verdadero.

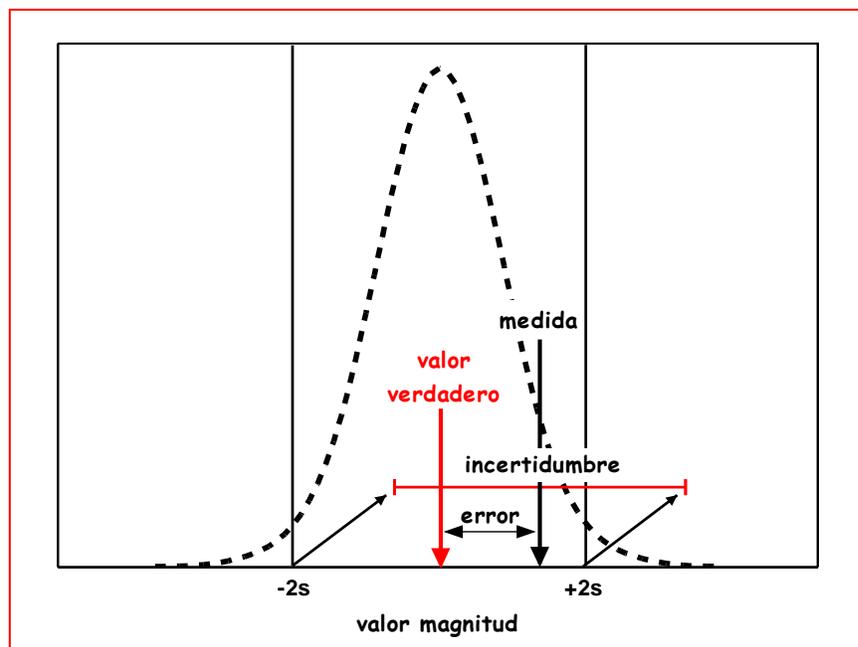
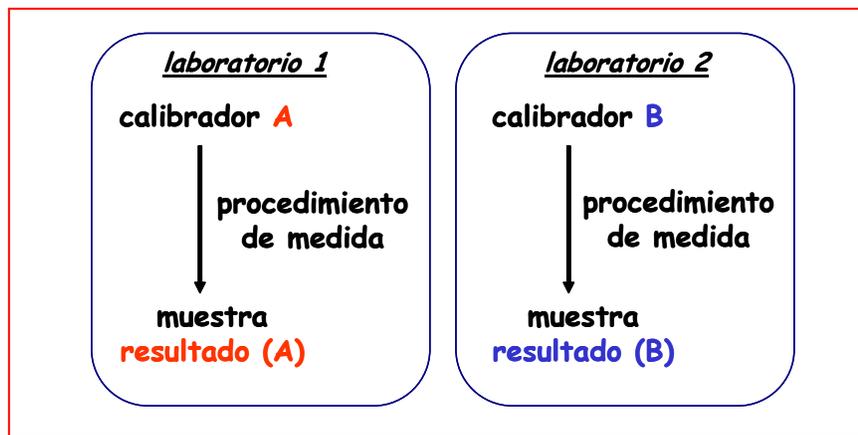


Figura 3. Incertidumbre de medida.

Junto con la incertidumbre de medida, es importante la trazabilidad de los resultados de medida. La trazabilidad tiene que ver con la comparabilidad de los resultados.

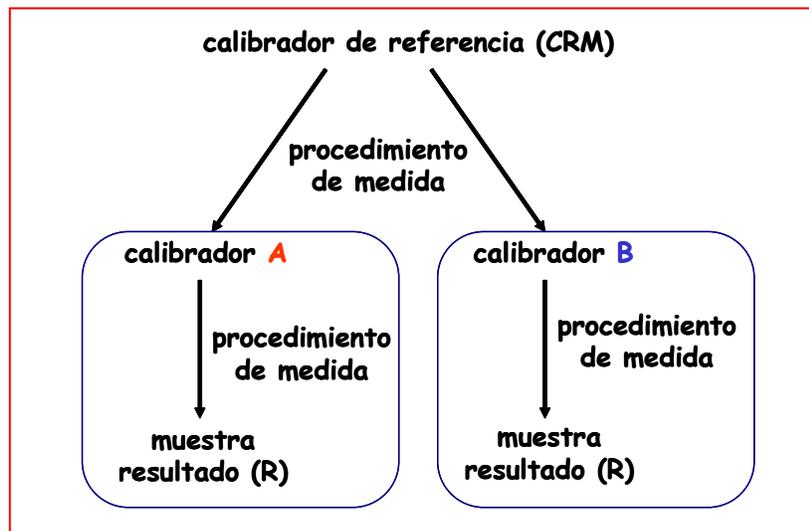
Imaginemos que dos laboratorios distintos (1 y 2) miden la misma magnitud de la misma muestra, pero, en un laboratorio se emplea un sistema analítico (instrumento, reactivos, calibrador) de una industria “A”, y en el otro laboratorio emplean otro sistema analítico de otra empresa “B” (Figura 4). El resultado que se ha obtenido para esta muestra en el laboratorio 1 se relaciona con el calibrador que se ha utilizado, entonces, decimos que el resultado es trazable a este calibrador (A). En el otro laboratorio emplean otro sistema de medida y el resultado que se obtiene es trazable al otro calibrador (B).



*Figura 4. Comparabilidad de resultados entre dos laboratorios que utilizan diferentes calibradores.*

¿Los resultados de esta misma muestra obtenidos en los 2 laboratorios son comparables?. En este caso cada resultado es trazable a su calibrador y por lo tanto no son comparables. Ahora bien, supongamos que la empresa “A”, para

asignar el valor a su calibrador ha empleado un calibrador de referencia certificado y aceptado internacionalmente, y que la empresa "B" también ha asignado valor a su calibrador a partir del mismo calibrador de referencia (Figura 5). En ese caso, el resultado que obtiene tanto el laboratorio 1 como el 2 es trazable al valor asignado a sus respectivos calibradores A o B, los cuales, a su vez, son trazables al valor de un calibrador de referencia común. Ahora, los resultados en el laboratorio 1 y en el laboratorio 2 son comparables porque los dos son trazables al mismo material.



*Figura 5. Comparabilidad de resultados entre dos laboratorios con la misma trazabilidad.*

Con este ejemplo hemos descrito una parte de la llamada "cadena de trazabilidad" (Figura 6). Para completarla, hay que considerar que al material de referencia certificado se le ha asignado su valor usando un procedimiento de medida de referencia primario, que es el que tiene las mayores garantías de exactitud, la más alta calidad y jerarquía metrológica. Siguiendo esta cadena, el

resultado obtenido para la muestra del paciente es trazable a la unidad SI y a las más altas jerarquías metrológicas, por lo que es comparable con resultados de la misma magnitud obtenidos en distintos laboratorios o en distintos tiempos.

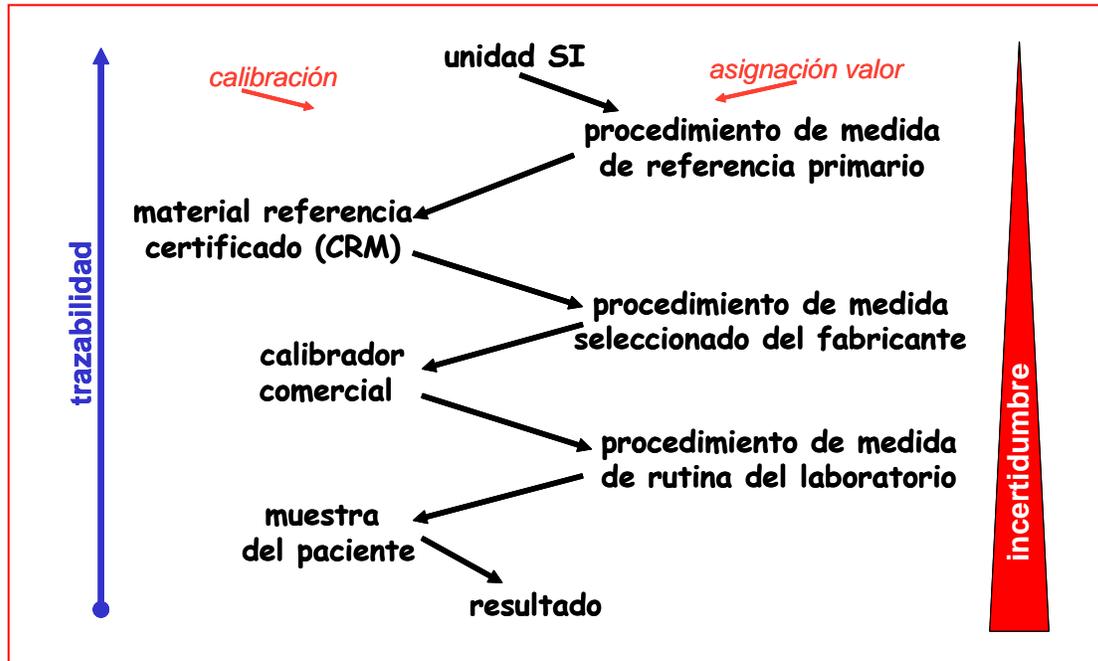


Figura 6. Cadena básica de trazabilidad.

La cadena de trazabilidad puede tener más eslabones de los que se muestran en la Figura. Así, pueden intervenir varios tipos de materiales de referencia: primarios y secundarios, y también el fabricante puede tener un calibrador maestro a partir del cual asigna valor a sus calibradores comerciales lote a lote. Por otra parte, hay determinados analitos para los cuales no existen todavía sistemas de referencia. En estos casos, la cadena de trazabilidad termina en un calibrador maestro del fabricante y no hay comparabilidad de resultados entre distintos fabricantes.

En cada paso de esta cadena se va añadiendo una incertidumbre; la incertidumbre que tiene el valor del material de referencia certificado es menor que la que tiene el calibrador comercial y menor que la del resultado del paciente. La incertidumbre va aumentando a lo largo de la cadena. La trazabilidad, en cambio, va en sentido inverso, desde abajo hacia arriba.

La trazabilidad metrologica se define como la propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón, que lo relaciona con referencias establecidas (generalmente patrones nacionales o internacionales) mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones, cada una de las cuales añade una incertidumbre.

La trazabilidad es una propiedad de un resultado o de un valor, y no es correcto decir que un calibrador es trazable, lo que es trazable es el valor asignado al calibrador; tampoco es correcto decir que un procedimiento de medida es trazable. La trazabilidad asegura que podamos comparar los resultados en el tiempo, en distintos lugares, e incluso con distintos procedimientos de medida; por eso es un componente esencial de la exactitud de los resultados.

En la cadena de trazabilidad, la parte superior o más elevada de la jerarquía metrológica, donde están los métodos y materiales de referencia, es responsabilidad de las organizaciones internacionales como la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) y de los institutos de metrología, que son los que definen las unidades de medida, los procedimientos primarios y los materiales de referencia (Figura 7). La parte intermedia de la cadena es

responsabilidad de la industria de diagnóstico *in vitro*, que prepara calibradores comerciales con valores trazables a las referencias que puedan existir.

Finalmente, la parte inferior de la cadena de trazabilidad es responsabilidad del laboratorio clínico, que debe utilizar calibradores que tengan valores con la adecuada trazabilidad para obtener así resultados fiables en los pacientes.

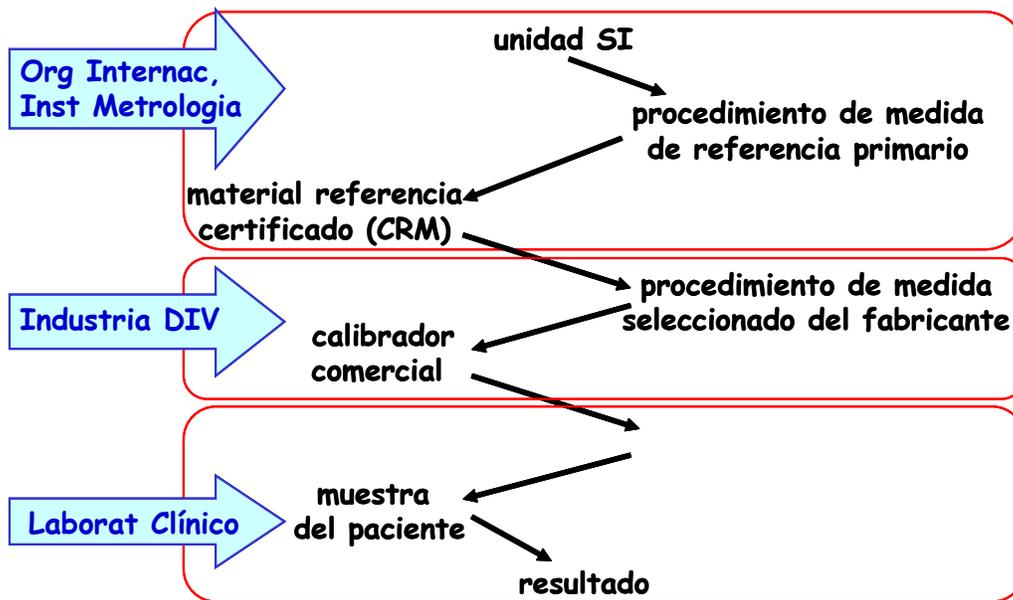


Figura 7. Cadena básica de trazabilidad. Responsabilidades.

Recientemente, y de acuerdo a las publicaciones de la Organización Internacional de Normalización (ISO), y con el apoyo de la IFCC, sabemos que la exactitud debe ser descrita en términos de incertidumbre, que es la duda cualitativa que tenemos sobre el resultado, y de trazabilidad, que nos asegura la comparabilidad de los resultados. La trazabilidad es un atributo del resultado que permite relacionar a éste con referencias establecidas; en cambio, la incertidumbre

es un valor asociado al resultado y que nos indica el grado de duda que tenemos sobre ese valor.

### **3. Estimación de la incertidumbre de medida**

Una vez establecidos los conceptos generales nos tendríamos que preguntar ¿cómo se puede estimar la incertidumbre de medida por el laboratorio clínico?. Existe una *Guía para la expresión de la incertidumbre de medida* elaborada por la Oficina Internacional de Pesos y Medidas en colaboración con diversas organizaciones internacionales (IFCC, ISO, IUPAC, etc.). A partir de esta guía se han elaborado otras que intentan hacerla más asequible o explicarla mejor, como la del NIST (1993), la de Eurachem (1995) o la de EAL (1997). Estas guías son tremendamente complejas, ya que están pensadas primordialmente para estimar la incertidumbre de medidas físicas y para ser aplicadas en laboratorios acreditados de calibración y de ensayo, por lo cual resultan muy poco prácticas y adaptables al laboratorio clínico, que se encuentra en una situación completamente distinta a la de un laboratorio de calibración y ensayo.

No obstante, también se han publicado guías para estimar la incertidumbre adaptadas al laboratorio clínico. La primera, fue publicada en el año 2004 por la Asociación Australiana de Bioquímicos Clínicos (AABC). En 2009 se aprobó la norma ISO 25680. También quisiera destacar la que hemos elaborado en la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC, 2009), que es una recomendación muy fácil de aplicar a los laboratorios clínicos y puede

consultarse en el sitio web de la Sociedad [www.seqc.es](http://www.seqc.es) . Por último, en el año 2010 ha aparecido la guía del NIST-de los EEUU, que en buena parte coincide con los principios aplicados en las guías australiana y española.

Los principios generales para establecer la incertidumbre son los siguientes:

- 1) Se asume que cualquier error sistemático se elimina, se corrige o se ignora.
- 2) Se evalúan los errores aleatorios que influyen sobre el resultado.
- 3) Se establece un intervalo en el cual se encuentra el valor verdadero de la magnitud medida para un determinado nivel de confianza.

Este proceso puede ser relativamente sencillo o extremadamente complejo dependiendo de la aproximación escogida; en cualquier caso, el grado de dificultad en la estimación de la incertidumbre debería ser proporcional al grado de exactitud que se requiere en el laboratorio clínico, que es sustancialmente diferente al de un laboratorio de calibración y ensayo.

El proceso de estimación de la incertidumbre se puede esquematizar tal como se muestra en la Figura 8. Primero hay que especificar el mensurando; a continuación identificar la fuentes de incertidumbre; cuantificar los componentes de la incertidumbre, para ello es conveniente simplificar por agrupamiento; cuantificar los componentes agrupados; cuantificar los que no están agrupados; y transformar todos estos componentes en desviaciones estándar. Una vez que tenemos estos datos, calculamos la incertidumbre combinada estándar y la expandida y allí termina el proceso.

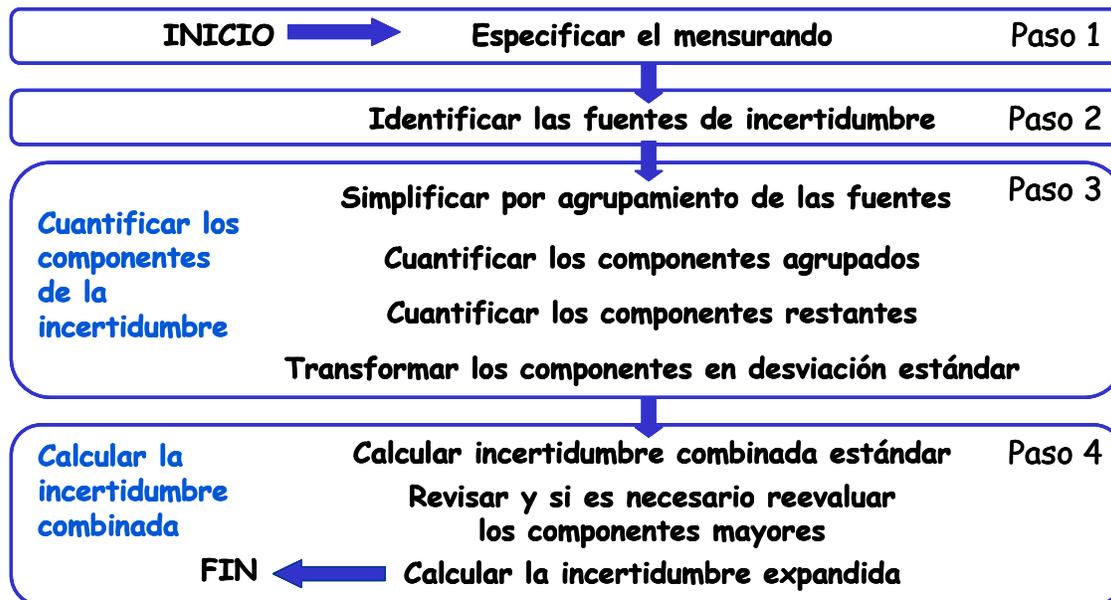


Figura 8. Proceso para estimar la incertidumbre de medida.

Cuando estimamos la incertidumbre tenemos dos tipos de posible estimación: A y B. La tipo A es cuando se puede establecer una distribución de los resultados y ser caracterizada mediante una desviación estándar; un ejemplo típico de este tipo es el coeficiente variación interserie o interdiario. En cambio, otros casos son los que llamamos de tipo B, en donde no sabemos qué distribución de resultados se origina por aquella fuente de variabilidad; por lo tanto, hemos de asignar una posible distribución, a partir de la cual, podremos estimar un valor de desviación estándar.

Algunas de las fuentes de incertidumbre que podemos contemplar en el laboratorio clínico son: la definición del mensurando, la toma de muestra, el transporte-almacenamiento-manejo de muestras, efectos de matriz, interferencias, condiciones del medio ambiente, instrumentos, calibraciones, otras variables en el procedimiento de medida (volúmenes, tiempos, temperaturas, ...), personal,

material y reactivos. Es decir, realmente hay muchos factores que influyen en la variabilidad de los resultados. Ahora bien, podemos simplificarlo. En primer lugar podemos dividir todas esas fuentes de variabilidad en tres grupos: las pre-analíticas, las analíticas y las post-analíticas.

Las fuentes de variabilidad pre-analíticas, como son la toma de muestra, transporte, conservación, estado del paciente, etc., son difícilmente estimables en desviaciones estándar, por lo que la actitud más correcta parece ser conocerlas y minimizarlas mediante una cuidadosa normalización de estos procesos. No quiere decir que quitemos importancia a estas fuentes de variabilidad; de hecho, hay muchos estudios que nos indican que la principal fuente de errores en el laboratorio clínico se encuentra en la fase pre-analítica. Por otra parte, algunas de estas fuentes de variabilidad están contempladas en los valores de referencia o en la capacidad discriminante establecida para el analito en cuestión.

Respecto a las fuentes de variabilidad post-analíticas, como pueden ser los errores de transcripción y comunicación de resultados, tampoco parece práctico ni tal vez posible incluirlas en la incertidumbre de medida. De nuevo, lo que parece más indicado es estudiar su origen y eliminarlas o reducirlas lo más posible.

Por lo tanto, nos queda que podemos estimar la incertidumbre de medida reduciéndola a la fase analítica del procedimiento de medida. Aun así, siguen existiendo un buen número de factores de variabilidad o fuentes de incertidumbre que influyen en los resultados: indefinición del mensurando, estabilidad de la muestra en el sistema analítico, calibración, volúmenes dispensados, lote de

reactivos, instrumento, operarios, condiciones ambientales, .... No obstante, veremos que la mayor parte de estas variables se contemplan en tan solo unas pocas fuentes de incertidumbre que agrupan a varias de ellas.

La primera fuente de incertidumbre importante es la definición del mensurando. Para definir correctamente el mensurando hay que especificar al menos tres, muchas veces cuatro, aspectos diferentes: 1) la molécula o el ente que es objeto de análisis, llamado el analito, por ej., proteína, colesterol, hemoglobina, leucocitos, etc.; 2) en qué sistema se encuentra contenido el analito: suero sanguíneo, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, etc.; 3) qué tipo de magnitud y qué unidad estamos midiendo, puede ser concentración de sustancia (mmol/L), de masa (g/L), catalítica (kat/L), etc.; y 4) en algunos casos, es necesario especificar también el procedimiento de medida.

Por ejemplo, si medimos la concentración catalítica de la lactato deshidrogenasa (LD) en suero sanguíneo humano, podemos utilizar piruvato o lactato como sustrato. Se trata de dos métodos que dan resultados completamente distintos porque se trata de un mismo analito pero de dos mensurados distintos, LD con el método piruvato es un mensurando y la LD medida con el método de lactato, es otro. Lo mismo aplica no solo a la concentración catalítica de enzimas, sino a todas las proteínas que se miden con algún tipo de inmunoanálisis, porque realmente no se mide la proteína (el analito) en concreto sino algunos isotipos (el mensurando) de aquella proteína, que son reconocidos por los anticuerpos que contiene un reactivo determinado. Un reactivo tendrá unos anticuerpos y otro reactivo, de otra empresa, probablemente tiene

otros anticuerpos distintos que tal vez reconocen otros isotipos diferentes de la misma proteína y, por lo tanto, son dos mensurandos distintos.

La incertidumbre que procede de la indefinición del mensurando realmente no la podemos cuantificar, lo que procuramos hacer es eliminarla definiendo adecuadamente el mensurando, lo que incluye algunas veces especificar el procedimiento de medida.

La segunda fuente importante de incertidumbre es la imprecisión; de hecho, la imprecisión interdiaria ( $CV_{id}$ ) y a largo plazo contiene casi todas las fuentes de incertidumbre analíticas. Pequeños errores en los volúmenes, distintos lotes de reactivos, diversas calibraciones, variaciones instrumentales, cambios de analista, etc; todas estas fuentes de variabilidad están contempladas e incluidas en el  $CV_{id}$ , un parámetro estadístico que en los laboratorios clínicos estamos acostumbrados a manejar porque la obtenemos fácilmente con los materiales de control de calidad interno.

Ahora bien, es conveniente que este  $CV_{id}$  sea estimado cubriendo un periodo suficientemente largo para poder recoger todas las distintas fuentes de incertidumbre. La SEQC recomienda que sea de un mínimo de 6 meses. También es importante que recoja distintas calibraciones para que incluya esa importante fuente de variabilidad.

El  $CV_{id}$  varía con la concentración del analito, por lo que también la incertidumbre variará con la concentración. Se recomienda que estimemos el  $CV_{id}$  como mínimo para un valor del analito cercano a los valores importantes de

decisión clínica. Normalmente, en el laboratorio clínico se utilizan dos materiales de control: uno con valor cercano a los de decisión clínica y otro que suele ser patológico; por lo tanto, es frecuente que el laboratorio clínico disponga de estimaciones del  $CV_{id}$  para 2 concentraciones distintas.

La tercera fuente importante de incertidumbre se había ignorado por completo hasta recientemente, y es la incertidumbre del valor de los calibradores. Es necesario que el laboratorio conozca la incertidumbre y la trazabilidad de los valores asignados a los materiales de calibración que se utilizan; y como muy frecuentemente los calibradores son materiales comerciales, es el fabricante el que debe proporcionar estos datos. En caso de que sea un calibrador o un patrón preparado por el laboratorio, entonces sería responsabilidad del propio laboratorio el establecer esos datos de trazabilidad y de incertidumbre.

La incertidumbre de valor asignado al calibrador no debería variar mucho de lote a lote, sino que debería ser parecido para un mismo fabricante y entre distintos lotes de calibrador.

En cuanto el error sistemático, ya hemos comentado que no debería considerarse, sino que normalmente debería identificarse cuando se está validando el procedimiento de medida y ser corregido, eliminado o ignorado si es despreciable. En caso de que se identifique un error sistemático y se corrija, la corrección tiene una incertidumbre, que es la que habremos de añadir a las demás fuentes de incertidumbre y vamos a llamarla "incertidumbre del factor de corrección". Un caso muy frecuente en los laboratorios, es que se mide el mismo

analito en urgencias que en el laboratorio de rutina aunque con instrumentos distintos. Al comparar los resultados, se encuentra que existe una diferencia sistemática significativa entre un aparato y otro. Entonces, lo que procede hacer es corregir los resultados de uno de ellos con un factor para que sean iguales en los 2 instrumentos. No obstante, al aplicar ese factor se está introduciendo una incertidumbre que puede ser calculada empleando fórmulas adecuadas que no procede aquí detallar.

Cada vez que se calibra el procedimiento de medida puede introducirse un error sistemático que será diferente en cada ocasión. Así, los errores sistemáticos de calibración se comportan como un error aleatorio a largo plazo y, por lo tanto, están incluidos en el  $CV_{id}$ .

El siguiente paso es combinar las incertidumbres estándar para obtener la incertidumbre combinada, y para ello existen fórmulas, que son las de propagación del error aleatorio. Las más sencillas son las siguientes:

$$u_c = \sqrt{s_z^2} = \sqrt{s_p^2 + s_q^2 + \dots}$$
$$u_c = \sqrt{CV_z^2} = \sqrt{CV_p^2 + CV_q^2 + \dots}$$

En la primera se contemplan los valores absolutos de las desviaciones estándar y en la segunda los valores relativos porcentuales. Las ecuaciones pueden ser bastante más complejas si existen varias magnitudes de entrada, se tienen en cuenta coeficientes de sensibilidad o existe correlación entre distintas fuentes.

Para muchos analitos que se miden en el laboratorio clínico, la incertidumbre combinada puede calcularse utilizando la siguiente ecuación:

$$u_c = \sqrt{CV_{id}^2 + u_{cal}^2 + u_{fc}^2}$$

- $u_c$ : incertidumbre estándar combinada relativa (%)
- $CV_{id}$  imprecisión (coeficiente de variación) interdiaria
- $u_{cal}$  incertidumbre estándar relativa (%) del valor del calibrador
- $u_{fc}$  incertidumbre estándar relativa (%) del factor empleado para corregir un error sistemático

Esta aproximación al cálculo de la incertidumbre combinada contempla estos tres factores que, aunque no son las únicas fuentes de incertidumbre, en la mayoría de los casos son los principales.

Se recomienda expresar la incertidumbre para un nivel de confianza del 95% y, en este caso, le llamamos incertidumbre expandida, que resulta de multiplicar por dos ( $k = 2$ ) la raíz cuadrada en la fórmula. La incertidumbre expandida se representa por la letra “U” y la incertidumbre estándar se representa con la letra “u”.

$$u_c = 2 \times \sqrt{CV_{id}^2 + u_{cal}^2 + u_{fc}^2}$$

Veamos a continuación algunos ejemplos de cálculo de la incertidumbre a partir de los datos disponibles, en cada caso, en el laboratorio.

El primer ejemplo es la medición de la hormona de crecimiento en suero sanguíneo ( $\mu\text{g/L}$ ) y los datos que tenemos son que el  $CV_{id}$  es 7,3 %; el fabricante

no ha proporcionado ningún dato de incertidumbre del valor asignado al calibrador, por lo tanto, no la conocemos; y en cuanto a un posible error sistemático, no hay referencias de veracidad que sean asequibles al laboratorio. Entonces, el laboratorio no puede más que aplicar la única fuente de incertidumbre que conoce:

$$U_c = 2 \times \sqrt{7,3^2} = 15 \%$$

En un segundo ejemplo, se mide la urea en suero sanguíneo (mmol/L) y, el laboratorio tiene un  $CV_{id}$  para dos niveles: de 3,9 % para 7 mmol/L y de 2,8 % para 22,7 mmol/L. Además el fabricante informa sobre la incertidumbre expandida del valor asignado al calibrador: valor  $14,6 \pm 0,5$  mmol/L ( $k = 2$ ). A partir de estos datos, podemos calcular la incertidumbre estándar relativa del valor asignado al calibrador ( $u_{cal}$ ) de esta forma:

$$u_{cal} = 100 \times (0,5/2)/14,6 = 1,7 \%$$

Por otra parte, el laboratorio está participando en un programa externo de control de la calidad, y no tiene evidencias de error sistemático.

En este caso, para el cálculo de la incertidumbre habrá que tener en cuenta el  $CV_{id}$  y la  $u_{cal}$ ; pero como hay dos coeficientes de variación, tendremos un valor de incertidumbre de 8,5% para valores bajos, y cercanos a los límites críticos, y un valor de 6,6% para valores más elevados.

$$U_c = 2 \times \sqrt{3,9^2 + 1,7^2} = 8,5 \% \text{ (para 5-15 mmol/L)}$$

$$U_c = 2 \times \sqrt{2,8^2 + 1,7^2} = 6,6 \% \text{ (para 15-50 mmol/L)}$$

Recordemos, que la incertidumbre no es la misma a distintas concentraciones; normalmente, la única que nos importa es aquella que sea cercana a los valores de decisión clínica.

Por último, en un tercer ejemplo, un poco más complejo, medimos la albúmina en la orina (mg/L), donde tenemos dos  $CV_{id}$  para dos niveles 5,7 % (18 mg/L) y 3,6 % (57 mg/L). La incertidumbre del valor del calibrador la proporciona el fabricante que indica que la incertidumbre expandida ( $k = 2$ ) es de 1,8 %. Por lo tanto, la incertidumbre estándar relativa del valor asignado al calibrador ( $u_{cal}$ ) es  $1,8/2 = 0,9$  %.

En este caso el laboratorio ha identificado un error sistemático mediante una comparación con un procedimiento de medida de referencia por regresión lineal y en donde encontró que la pendiente ( $b$ ) de la recta de regresión era significativamente distinta de uno:  $b = 0,902$  (i.c 95 %: 0,872 a 0,935). Para corregir este error se incorporó un factor de corrección de 1,11 ( $1/0,902 = 1,11$ ). La incertidumbre estándar relativa que corresponde a este factor de corrección ( $u_{fc}$ ) puede calcularse (para el 95% de confianza) dividiendo el intervalo de confianza de la pendiente entre 4 (cuatro desviaciones estándar):

$$u_{fc} = 100 \times (0,935 - 0,872)/4 = 1,6 \%$$

En este caso la incertidumbre combinada se puede calcular a partir del  $CV_{id}$  (el más cercano a los valores de decisión clínica), la incertidumbre del valor

asignado al calibrador y la incertidumbre asociada a el factor de corrección del error sistemático.

$$U_c = 2 \times \sqrt{5,7^2 + 0,9^2 + 1,6^2} = 12 \%$$

Es interesante destacar que en este ejemplo, las aportaciones a la incertidumbre combinada de las incertidumbres asociadas al valor del calibrador y al factor de corrección son prácticamente despreciables.

#### **4. Expresión de la incertidumbre de medida y de la trazabilidad**

Se recomienda siempre expresar la incertidumbre para un nivel de confianza de 95%, que correspondería a una  $k = 2$  y que se obtiene multiplicando por 2 la incertidumbre estándar combinada.

Al laboratorio le interesa conocer la incertidumbre del procedimiento de medida y lo más práctico es expresarlo en tanto por cierto, con no más de dos cifras significativas, por ejemplo: 4,2% o 16%. Esta incertidumbre, una vez que la ha establecido el laboratorio para un procedimiento de medida, aplica para concentraciones del analito cercanas a los de decisión clínica (o a aquellas para las que se ha establecido el  $CV_{id}$ ).

El laboratorio puede considerar que este valor de incertidumbre se va a mantener en el tiempo, a menos que tenga evidencias de que ha cambiado alguna fuente de incertidumbre. En general, mientras el  $CV_{id}$  se mantenga más o menos

igual y el calibrador que esté utilizando sea el mismo, no tiene por qué pensarse que cambia la incertidumbre de medida.

En caso de que quisiéramos aplicar la incertidumbre al resultado de un paciente, habría que expresarlo en términos absolutos tras el resultado, por ejemplo:  $12 \pm 1,4$  mmol/L. No obstante, no se recomienda en la actualidad entregar resultados con incertidumbre asociada en tanto no se haya realizado una labor de docencia para que los clínicos interpreten estos datos adecuadamente.

En cuanto a la trazabilidad, el laboratorio debe conocer la trazabilidad de los valores de sus calibradores y esa información, en general, la ha de proporcionar la industria de diagnóstico *in vitro*, siempre que se trate de calibradores comerciales. Aunque la trazabilidad se describe mediante una cadena de calibraciones, es muy frecuente indicar solamente el elemento de referencia utilizado en la asignación de valor al calibrador comercial.

A continuación se comentan algunos posibles ejemplos de expresión de la trazabilidad.

1) Se trata de un calibrador de proteína C reactiva comercial. El fabricante indica que tiene un valor asignado de 38,6 mg/L, una incertidumbre expandida ( $k = 2$ ) de 0,8 mg/L, y que es trazable al material de referencia certificado CRM 470 del IRMM europeo.

2) Un calibrador de xilosa que prepara el laboratorio por pesada, y cuya concentración es de 500 mg/L ( $U = 14$  mg/L). El valor de concentración es trazable a la unidad SI de masa, es decir, al kilogramo y para ello, la balanza del

laboratorio tendría que estar calibrada con pesas certificadas. Con eso se establece la cadena de trazabilidad hasta el kilogramo que es la unidad internacional. También, el laboratorio puede calcular, a partir de diversos factores, cuál es la incertidumbre expandida que corresponde a este valor, la cual depende de la incertidumbre de su balanza y de la incertidumbre del material volumétrico utilizado.

3) Calibrador comercial de anticuerpos antigliadina. No existen elementos de referencia internacionales para este mensurando y ni siquiera existe una unidad internacional. Por lo tanto, el valor asignado al calibrador es en unidades arbitrarias del fabricante (200 UA/L) y este valor es trazable a un calibrador maestro del fabricante. La cadena de trazabilidad termina aquí pues no hay elementos de referencia de superior jerarquía metrológica. Esta trazabilidad nos asegura que los resultados serán comparables aunque utilicemos distintos lotes de calibradores y de reactivos del mismo fabricante, pero no serán comparables con los resultados obtenidos con sistemas analíticos de otros fabricantes.

## **5. La incertidumbre de medida no es el "error total"**

El llamado "error total" analítico ( $ET_a$ ) para el 95% de confianza se define como la suma del error sistemático y 1,65 veces el  $CV_{id}$ :

$$ET_a = ES + 1,65 CV_{id}$$

aunque si no hay error sistemático, entonces:

$$ET_a = 1,95 CV_{id}$$

¿Es esto lo mismo que la incertidumbre combinada expandida?. Creemos que no. El  $ET_a$  tiene en consideración al error sistemático, en cambio, la incertidumbre expandida no contiene al error sistemático, aunque puede contener la incertidumbre asociada a una eventual corrección del error sistemático. Además, la incertidumbre expandida tiene en cuenta la incertidumbre de los valores asignados a los calibradores, mientras que el error total no tiene en cuenta este factor.

$$ET_a = ES + 1,65 CV_{id} \text{ (ó } = 1,95 CV_{id}\text{)}$$

$$U_c = 2 \sqrt{CV_{id}^2 + u_{cal}^2 + u_{fc}^2}$$

Solamente en el caso de que no hubiera error sistemático, que la incertidumbre del valor asignado al calibrador fuera cero y que no se hayan utilizado factores de corrección, entonces, el error total sería aproximadamente igual que la incertidumbre expandida.

$$ET_a = 1,95 CV_{id}$$

$$U_c = 2 CV_{id}$$

Algunos ejemplos servirán para ilustrar la diferencia entre los dos conceptos.

En un primer ejemplo supongamos un procedimiento de medida que tiene un  $CV_{id}$  del 3,5 % y que utiliza un calibrador comercial cuyo valor asignado tiene una incertidumbre expandida de 6 % ( $u = 6/2 = 3$  %). La participación en un programa externo de evaluación de la calidad indica que no hay error sistemático significativo pero que la imprecisión en el programa es superior a la esperada por el  $CV_{id}$ . Realizamos los cálculos de  $ET_a$  y de  $U_c$ .

$$ET_a = 1,95 CV_{id} = 1,95 \times 3,5 = 6,8 \%$$

$$U_c = 2 \times \sqrt{3,5^2 + 3^2} = 9,2 \%$$

El cálculo de la  $U_c$  contempla la incertidumbre del valor asignado al calibrador mientras que éste componente se ignora en el cálculo del  $ET_a$ . Diferentes lotes del calibrador a lo largo del año pueden ocasionar fluctuaciones en los resultados de hasta un 6 %, lo que explica que la imprecisión en el programa externo sea superior a la esperada. En este caso, el  $ET_a$  está subestimando la inexactitud del laboratorio porque no tiene en cuenta las desviaciones que ocurrirán cuando se cambie de lotes de calibrador.

En un segundo ejemplo tenemos un  $CV_{id}$  del 3,5 % y utilizamos un calibrador comercial que tiene una incertidumbre expandida del valor asignado del 1,6%. Además, la participación en un programa de control externo de la calidad alerta de que existe un error sistemático, y se ha confirmado ese error al hacer un estudio de comparación donde se ha obtenido una pendiente de 0,915 (i.c. 0,895 a 0,935). Por lo tanto, el laboratorio ha decidido aplicar un factor de corrección de 1,09 ( $1/0,915 = 1,09$ ) a sus resultados. La aplicación de este factor corrige el error

sistemático (8,5 %), pero añade una incertidumbre que se puede calcular mediante:

$$u_{fc} = 100 \times (0,935 - 0,895) / 4 = 1 \%$$

Realizamos los cálculos de  $ET_a$  y de  $U_c$ :

$$ET_a = ES + 1,65 CV_{id} = 8,5 + 5,8 = 14,3 \%$$

$$U_c = 2 \times \sqrt{3,5^2 + 0,8^2 + 1^2} = 7,5 \%$$

En este ejemplo el  $ET_a$  está sobreestimando la inexactitud porque considera un error sistemático que se puede corregir. Implica además que se están entregando todos los resultados con un error conocido por el laboratorio y desconocido para el clínico.

## **6. Utilidad para el laboratorio clínico**

En primer lugar recordemos que la estimación de la incertidumbre y la descripción de la trazabilidad son la forma más adecuada de expresar la exactitud de los resultados, según las recomendaciones de la IFCC y de la ISO.

La exactitud es importante en el laboratorio clínico; los resultados del laboratorio tienen que ser exactos para conseguir una interpretación clínica correcta, porque se compara el resultado obtenido con unos valores de referencia o discriminantes (de corte) o de riesgo. La exactitud también es importante (tanto la trazabilidad como la incertidumbre) para que podamos comparar los resultados

del laboratorio con otros resultados del mismo paciente obtenidos en diferentes ocasiones o en distintos lugares.

Por lo tanto, el conocimiento de la exactitud permite: conocer la veracidad de las medidas, la comparabilidad de los resultados y el poder validar los procedimientos de medida.

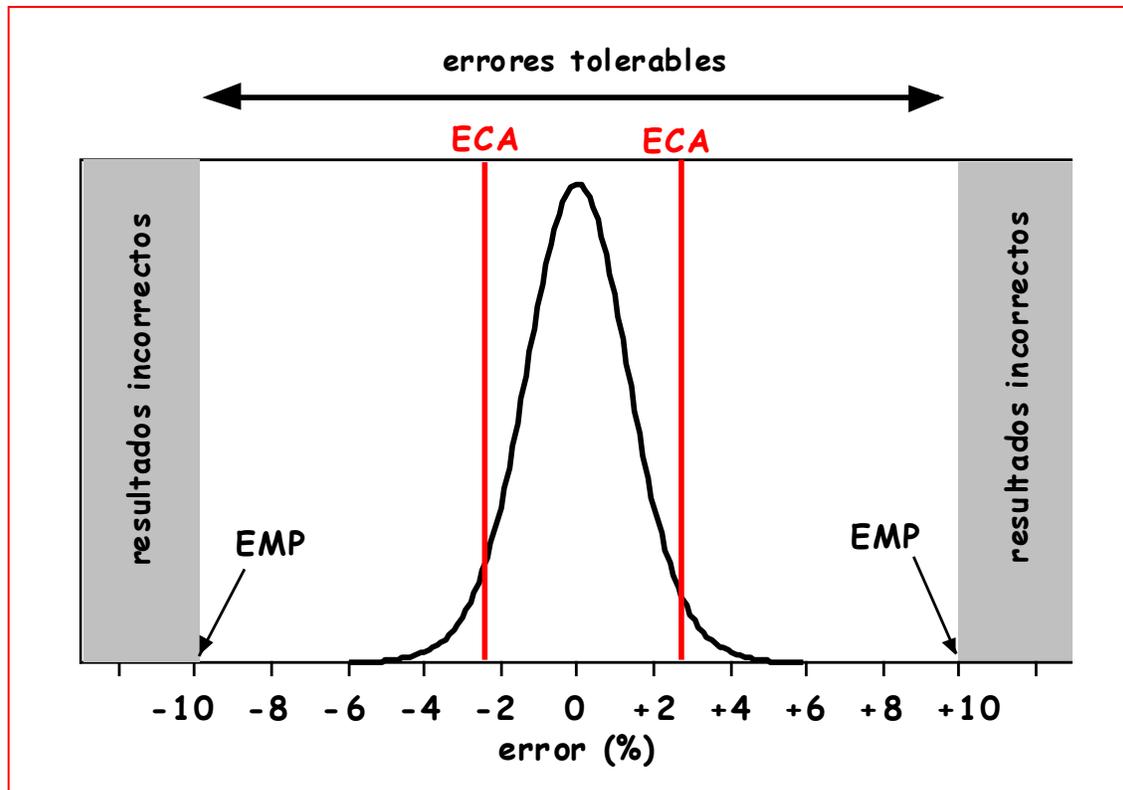
En la validación de un procedimiento de medida hemos de decidir si la exactitud que tiene es suficiente. Para ello es necesario establecer unos requisitos previos. Hay dos tipos de requisitos relacionados con la exactitud que debemos diferenciar, ya que es frecuente confundirlos. En primer lugar, la incertidumbre de medida debe cumplir, siempre que la tecnología lo permita, los llamados requisitos de calidad o especificaciones de la calidad analítica. Estos requisitos suelen establecerse en base a la variabilidad biológica o a la considerada prestación adecuada en algunas situaciones clínicas concretas.

Otro requisito distinto es que, además, la incertidumbre (estandar) de medida debe ser no solo más baja, sino muy inferior, al menos un tercio, del "error máximo permitido" (EMP). El concepto de EMP solo atañe a los laboratorios que están certificados o acreditados por normas ISO o a los laboratorios de países como Estados Unidos o Alemania que han establecido por ley un EMP. El EMP es un requisito distinto a las especificaciones de calidad analítica (ECA) y se suele establecer en base al estado de la tecnología y no con base en la variabilidad biológica.

En los laboratorios que se encuentran en las circunstancias antes mencionadas, el procedimiento de medida debe cumplir el requisito de EMP. En caso de que se evidencie un incumplimiento, en programas de control interno o externo o en pruebas de aptitud, se trata de una "no conformidad" que debe ser tratada como tal, además de los efectos legales que el incumplimiento pueda ocasionar en algunos países.

La figura 9, ilustra la diferencia que hay entre especificaciones de calidad analítica (ECA) y el error máximo permitido (EMP). Supongamos un procedimiento de medida acorde con el estado actual de la tecnología, que tiene un  $CV_{id}$  del 2 %, no hay error sistemático y la ECA es de 2,5 %. Por lo tanto, diríamos que cumple con la ECA. La curva de la figura representa la probabilidad de distribución de errores en los resultados obtenidos con ese procedimiento de medida. Una buena parte de los resultados (aproximadamente el 67 %) contendrán tamaños de error en el intervalo entre  $\pm 2$  %, pero también se obtendrán con relativa frecuencia errores superiores al 2,5 %. De hecho, en este ejemplo, la probabilidad de que un resultado de control de calidad interno supere el error de 2,5%, es cercano al 30%. Es decir, cada 3-4 resultados de control tendríamos una "no conformidad", lo que nos llevaría a una situación absurda porque el requisito de exactitud (si consideráramos así a la ECA) no puede estar tan cerca de la prestación analítica (el  $CV_{id}$ ). El EMP tiene que estar bastante alejado del  $CV_{id}$  (o de la incertidumbre estándar relativa). En este ejemplo, el EMP es del 10 %. Esto quiere decir que solamente los errores con un tamaño superior a  $\pm 10$  % ocasionarían una "no conformidad" o un resultado inaceptable en una prueba de aptitud.

Aunque hay que saber diferenciar entre los conceptos de ECA y EMP, ambos tienen su utilidad en su adecuado contexto.



*Figura 9. Especificaciones de Calidad Permitida versus Error Máximo Permitido.*

La incertidumbre también tiene utilidad para establecer la mínima diferencia significativa (MD) respecto a un valor de referencia o a un valor de decisión:

$$MD = 1,65 u$$

En el seguimiento de los pacientes, donde se analiza a lo largo del tiempo al mismo paciente varias veces, nos interesa saber cuál es el mínimo cambio (MC) significativo en el valor obtenido. Este valor puede obtenerse mediante la fórmula:

$$MC = 2 \times \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

Donde  $u_A$  y  $u_B$  son las incertidumbres estándar del primer (A) y del segundo (B) resultado. En el caso de que los 2 resultados se hayan obtenido en el mismo centro y con la misma incertidumbre:

$$MC = 2,83 \times u \approx 3 \times u$$



Foto 1. 6º Ciclo Internacional de Conferencias de la Calidad IFCC-BIO RAD, Centro Cultural Tlatelolco, Cd de México, a 26 de junio de 2012.