

ARTÍCULO RESEÑA

La incertidumbre asociada al resultado analítico en los laboratorios de ensayo de la rama agropecuaria

Arsenio Betancourt

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.
Correo electrónico: arsenio@censa.edu.cu

RESUMEN: La estimación de la incertidumbre en las mediciones caracteriza a la dispersión de los valores atribuidos a un resultado de una magnitud que se ha medido. La medición de la incertidumbre amplía la información sobre un resultado analítico, que de manera común se expresa como un valor absoluto; sin embargo los analistas de los laboratorios conocen que el resultado de un ensayo, tiene un componente de variabilidad y por ello es conveniente expresar el resultado como un intervalo de valores probables. Esta forma de expresión se justifica plenamente bajo un enfoque estadístico, pero no se utiliza de forma regular para expresar los resultados de una prueba, debido entre otras razones a la forma tradicional de expresar el resultado como valor absoluto, sin tener que estimar previamente la incertidumbre del ensayo. Sin embargo, las regulaciones vigentes para laboratorios acreditados establecen como requisito obligatorio, determinar la incertidumbre de las mediciones de los ensayos. Por otra parte, los clientes pueden en sus contratos de servicio exigir un resultado que contenga la incertidumbre del ensayo; también el laboratorio en ocasiones decide aportar mayor información útil al cliente para fines de diagnóstico o control de la calidad de productos terminados. En la actualidad, se cuenta con varias normas internacionales que buscan armonizar los resultados y proponen la estimación de la incertidumbre por diferentes procedimientos con resultados comparables. Esta se puede determinar por desglose de cada etapa del ensayo o de manera global y el procedimiento a seguir estará en correspondencia con la necesidad que se tenga del conocimiento del ensayo y la complejidad del mismo. Este documento tiene como objetivo actualizar el conocimiento para la estimación de la incertidumbre de las mediciones por los laboratorios de ensayo de la rama agropecuaria.

Palabras clave: incertidumbre de las mediciones, laboratorios de ensayo.

Uncertainty associated to the analytical results of agricultural and livestock testing laboratories

ABSTRACT: Measurement uncertainty estimation characterizes the dispersion of the values attributed to a result of a magnitude measured. Uncertainty measurement widens the information on an analytical result, commonly expressed as an absolute value. However, laboratory analysts know that the result of a test has a variability component, and therefore, it is convenient to express the result as a range of likely values. This form of expression is completely justified in a statistical approach, but it is not regularly used to express test results, due among other reasons, to the traditional way of expressing the result as a single value without previously estimating the uncertainty of the test. Nevertheless, the current regulations for accredited laboratories establish the determination of uncertainty measurements of assays as a mandatory requirement. On the other hand, regarding service contracts, customers can demand results containing the uncertainty of the test; also sometimes, the laboratory decides to provide the client or laboratory a more useful information for diagnostic purposes or the quality control of finished products. At present, there are several international standards seeking to harmonize the results, and they propose uncertainty estimation by different methods with comparable results. Each trial stage can be determined step by step or globally; and the procedure to follow will be in accordance to the need of knowledge about the test and its complexity. This paper is aimed at updating the knowledge about measurement uncertainty estimation for agricultural and livestock testing laboratories.

Key words: measurement uncertainty, testing laboratories.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de la incertidumbre de las mediciones en los métodos de ensayos, es una forma de aumentar la información sobre un resultado analítico, este de manera común se expresa como un valor absoluto; sin embargo, los analistas de los laboratorios de ensayo, conocen que un resultado siempre tiene un componente de variabilidad, por lo que resulta más conveniente expresar un resultado como un intervalo de valores probables (1, 2).

Esta forma de expresión aunque se justifica plenamente bajo un enfoque estadístico, no se utiliza de forma regular para expresar los resultados de un ensayo, debido entre otras razones, a la cómoda forma tradicional de expresar un resultado con un valor único, sin tener que realizar interpretación de un intervalo de resultados, aunque este aporte mayor información al usuario.

Hay varias situaciones que justifican la no aplicación generalizada de la expresión de un resultado como su valor y la variabilidad asociada o incertidumbre que es el término que más se ajusta, una situación sucedió porque los métodos empleados para estimar la incertidumbre en sus inicios resultaron polémicos, situación que ha sido resuelta. Otra situación se manifestó en el uso práctico de la incertidumbre en la magnitud medida, que adquiere su mayor importancia cuando el valor absoluto de la magnitud está cercano a los valores extremos de un intervalo de referencia o una especificación de un producto. Sin embargo, determinaciones donde el resultado tiene una implicación jurídica o comercial, la información de su variabilidad, puede ser importante para una correcta decisión o mejor interpretación del valor de una prueba.

En la actualidad, se cuenta con varias normas internacionales que buscan armonizar los resultados y abordan la estimación de la incertidumbre de los ensayos por diferentes procedimientos con resultados comparables, y las estimaciones se realizan por el laboratorio de manera individual o mediante estudios colaborativos de varios laboratorios (2, 3, 4). La incertidumbre del ensayo se puede evaluar por desglose de cada etapa o de manera global y el procedimiento a seguir estará en correspondencia con la necesidad que se tenga del conocimiento del ensayo y la complejidad del mismo (3, 5). Este documento tiene como objetivo actualizar el conocimiento para la estimación de la incertidumbre de las mediciones por los laboratorios de ensayo de la rama agropecuaria.

PARTE ESPECIAL

LA INCERTIDUMBRE DE LAS MEDICIONES EN LOS ENSAYOS

La incertidumbre de la medición según establece el vocabulario internacional de metrología (1), es un parámetro no negativo que caracteriza a la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza. En esta definición queda implícito, que la incertidumbre es un valor que se determina en métodos cuantitativos, como una medida de dispersión que generalmente corresponde a la desviación típica o la raíz cuadrada de la varianza del mensurando como la magnitud que se intenta medir. Por otra parte se asume que la información de la medición solo permite la asignación de valores razonables al mensurando, basado en el supuesto que no se ha cometido errores al realizar la medición. De esta forma el valor obtenido de una magnitud y su incertidumbre presentan el resultado como un intervalo de valores probables, que permite tomar decisiones más precisas sobre una base estadística disponible.

Los conceptos de precisión del ensayo e incertidumbre de la medición del ensayo se relacionan en cuanto a la forma de expresión, que generalmente es en forma de desviación estándar o desviación estándar relativa; sin embargo no tienen igual significado, debido a que la precisión se relaciona con la variabilidad del método analítico durante su ejecución, mientras que la incertidumbre es una variabilidad asociada al resultado de la determinación, donde la precisión del ensayo es una fuente influyente de variabilidad, como es también la cristalería de medición utilizada o la pureza del patrón empleado (6).

El resultado de la evaluación de una muestra se puede expresar como el intervalo formado por el valor obtenido del resultado (x), la incertidumbre asociada (μx) y un factor de cobertura (k) para expresar la variabilidad estadística del resultado, la combinación $k\mu x$ se denomina incertidumbre expandida (Ecuaciones 1 y 2).

Expresión del valor e incertidumbre asociada= $x \pm k\mu x$
(Ecuación 1)

Concentración de proteína (Ejemplo)= $6,0 \text{ g/L} \pm 0,11$ $k=2$
(Ecuación 2)

El valor k puede ser 2 ó 3 de acuerdo con un nivel de confianza de 95 y 99%.

El intervalo formado por el resultado obtenido y la incertidumbre asociada aporta mayor información que el valor absoluto, porque representa el resultado de la muestra en las condiciones reales de trabajo, que incluyen los efectos de fuentes de variación, como el ambiente del laboratorio, el operador, el equipo, el día y otras que se consideren en el laboratorio (3, 7).

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

Se emplean dos procedimientos esenciales para estimar la incertidumbre, el primero modela el método analítico paso a paso (5), lo que permite una caracterización de las fuentes de incertidumbre que influyen en el procedimiento analítico, esto permite concentrar las actividades de mejora en las etapas de mayor variabilidad del ensayo. El segundo procedimiento realiza un estudio global de las fuentes aleatoria y sistemática del ensayo (3), en este caso se utilizan los datos del control interno de la calidad o de la validación del ensayo, también se puede llevar a cabo a través de estudios interlaboratorios, cuando se dispone de un grupo de laboratorios que realicen las mismas determinaciones.

El procedimiento descrito en la norma EURACHEM/CITAC (5) evalúa las fuentes de incertidumbre paso a paso en cada etapa del método analítico, este procedimiento resulta laborioso pues requiere identificar todas las fuentes de incertidumbre, trabajo que requiere de experiencia para identificar correctamente las fuentes sin hacer omisiones o duplicar las mismas. Varios autores plantean estimar solamente las de mayor influencia sobre el resultado del ensayo (5, 8). Este método resulta conveniente para ensayos no complejos basados en los principios de gravimetría, volumetría y valoración química, entre otros, donde se puede obtener con facilidad la información de la incertidumbre que ofrecen los fabricantes de los equipos de medición, la cristalería de medición exacta, las pipetas y las buretas de pistón.

La observación de los resultados de las fuentes individuales utilizando gráficos de barra, permite un análisis sencillo de las fuentes que provocan mayor varia-

bilidad, lo que permite disponer acciones correctivas para su disminución como mejora de la calidad de los resultados del ensayo.

El procedimiento paso a paso tiene la siguiente guía de trabajo que se aplica en cada ensayo:

1. Selección de la magnitud a medir. El análisis parte de la expresión matemática para cuantificar el mensurando, los diferentes componentes son las principales fuentes de variación.
2. Identificación de las fuentes de incertidumbre y para ello se recomienda emplear un diagrama de causa-efecto.
3. Estimar las incertidumbres de las fuentes identificadas. Se tienen en cuenta los tipos de incertidumbre A y B, vinculadas a datos experimentales e información disponible en la literatura, respectivamente.
4. Calcular la incertidumbre combinada y expandida, que se realiza de acuerdo con la ley de propagación de la incertidumbre.

La incertidumbre tipo A se determina de forma experimental por el laboratorio, como es la determinación de la precisión del ensayo en condiciones intermedias o reproducibilidad interna. Por otra parte, la incertidumbre tipo B se obtiene como información de la literatura en manuales de equipos y catálogos de reactivos de los fabricantes, certificados de calibración de los instrumentos de medición, certificados de materiales de referencia y otras fuentes disponibles. Se debe resaltar la necesidad de unificar las unidades de medida, cuando se combinan los resultados de las diferentes fuentes de incertidumbre, una forma práctica es el empleo de la desviación estándar relativa (%).

Las reglas para combinar las incertidumbres individuales según la ley de propagación, se basan en operaciones matemáticas que utilizan la desviación estándar de la magnitud medida (Tabla).

El procedimiento de estimación global de la incertidumbre no posibilita identificar por separado las fuentes de incertidumbre y por tanto el grado de influencia sobre el resultado del ensayo; sin embargo, resulta un

TABLA. Operaciones matemáticas para estimar la incertidumbre combinada./ *Mathematical operations to estimate the combined uncertainty*

Ecuación	Operaciones	Incertidumbre combinada
1	adición y sustracción ($z=x+y$)	$\mu_c(z) = \sqrt{\mu^2(x) + \mu^2(y)}$
2	multiplicación y división ($z=x*y$)	$\mu_c(z) = z \sqrt{(\mu(x)/x)^2 + (\mu(y)/y)^2}$
3	combinación lineal ($z=a*x+b*y$)	$\mu_c(z) = \sqrt{a^2*\mu(x)^2 + b^2*\mu(y)^2}$
4	logaritmo ($z=a*\log x$)	$\mu_c(z) = \sqrt{(\mu(x)/x)^2} / \log x$

procedimiento simple para su ejecución, en este caso se evalúa el conjunto de fuentes de incertidumbres influyentes sobre el resultado analítico. Se estima la incertidumbre total, combinando la varianza calculada en el estudio de la precisión del ensayo, con la incertidumbre de la determinación del sesgo o desvío del material de referencia empleado. El uso de un material de referencia puede ser un inconveniente, cuando no se disponga de un material de referencia comercial o resulte de alto costo su adquisición; sin embargo, una posible solución es el empleo de materiales internos fabricados por el laboratorio, que son válidos siempre que se demuestre su trazabilidad con materiales de referencias certificados.

La determinación global de la incertidumbre es un procedimiento flexible, debido a que puede utilizar datos disponibles en el laboratorio, como pueden ser los datos de los gráficos de control interno de la calidad y los resultados de la validación de los ensayos. En estos casos, como principio se debe comprobar que los ensayos están bajo control estadístico y entonces se utilizan los datos disponibles de la desviación estándar o desviación estándar relativa obtenidos en el estudio de la precisión del ensayo en condiciones intermedias [S(TO)], lo que incorpora la mayor variabilidad posible en el ensayo para que represente las condiciones reales de trabajo diario del laboratorio (9, 10). El estudio se realiza con un material de referencia evaluado en un número mayor de 15 réplicas, que puede llegar hasta 30 réplicas (11), también se recomienda emplear hasta tres niveles diferentes de concentración. Se determina entonces el sesgo del resultado y su significación con respecto al valor de referencia, posterior se estima la incertidumbre del sesgo (Ecuaciones 3 y 4) y por último la incertidumbre de la medición (Ecuación 5).

$$\mu \text{ sesgo} = \sqrt{\mu^2 \text{ referencia} + S_x^2} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$S_x = S(\text{TO}) / \sqrt{n} \quad \text{Ecuación 4}$$

$$\mu \text{ medición} = \sqrt{\mu \text{ sesgo}^2 + S(\text{TO})^2} \quad \text{Ecuación 5}$$

Los laboratorios que tienen la posibilidad de participar en comparaciones interlaboratorios, pueden emplear la desviación estándar de reproducibilidad para determinar la incertidumbre, por un análisis ANOVA (11).

Hay una variante actual que permite a los laboratorios que no pueden acceder a estudios interlaboratorios, utilizar los resultados de los indicadores de la precisión. En este caso es necesario que el laboratorio demuestre que no tiene sesgo significativo y que la precisión del ensayo del laboratorio no es mayor que la reportada en condiciones de reproducibilidad por el estudio interlaboratorio, entonces si se cumplen las dos condiciones mencionadas, el laboratorio puede emplear la incertidumbre de la comparación interlaboratorio (4).

Una estrategia que permite optimizar la estimación de la incertidumbre, es realizar los estudios mencionados en diferentes niveles de concentración del mensurando, de manera que se pueda realizar análisis de regresión, para disponer de una ecuación que permite calcular diferentes valores de incertidumbre, sin necesidad de realizar un estudio para cada concentración esperada.

APLICACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LAS MEDICIONES

Para fines diagnóstico cuando el resultado con su incertidumbre se encuentran en la zona central del intervalo de referencia no necesita de interpretaciones adicionales, pero cuando los valores se encuentran en los extremos del intervalo, entonces llevaría una evaluación del riesgo de aceptar un resultado no comprendido en el intervalo de referencia, que pueda significar un peligro para la sanidad agropecuaria.

Un ejemplo de aplicación de la incertidumbre (Figura), se muestra cuando el resultado expresado como valor 4 es objeto de sanción, porque los valores del in-

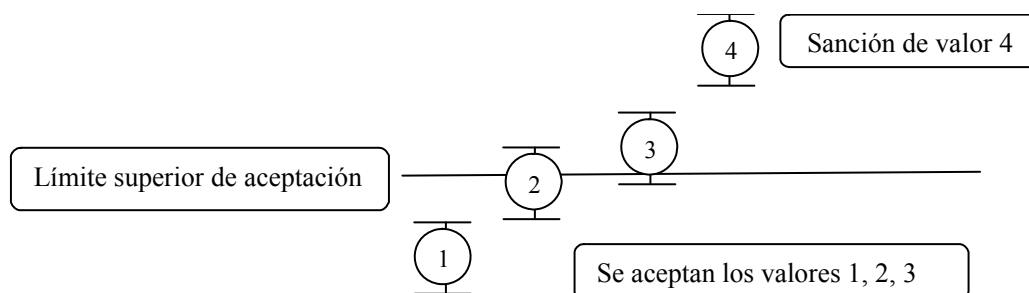


FIGURA. Intervalos de los valores y la incertidumbre expandida en relación con el límite de aceptación./ *Value intervals and the expanded uncertainty in relation to the acceptance limit.*

tervalo (valor \pm incertidumbre) superan el límite establecido. Sin embargo, si el análisis se realiza con los valores absolutos serían sancionables los valores 3 y 4.

La incorporación de la incertidumbre asociada al resultado en el control de la calidad de los productos, puede evitar pérdidas económicas cuando se libera un producto con un resultado cercano al límite de aceptación, en esta situación si el intervalo (valor \pm incertidumbre) tiene valores probables por encima del límite de aceptación del componente mayoritario o principio activo, puede significar para la producción un riesgo de liberar al mercado un producto con un exceso del componente mayoritario, en este caso si el volumen de producción es grande, puede ocasionar pérdidas económicas a la empresa.

En la evaluación de productos terminados se espera que el intervalo del valor y la incertidumbre asociada tengan valores comprendidos en la especificación del producto, por ello cuando se determina el intervalo del valor y su incertidumbre con una amplitud cercana o superior a la especificación, entonces esto significa una alerta para estudiar la causa y la posible modificación de la especificación establecida. Otra situación a estudiar que puede provocar una modificación de la especificación, se manifiesta cuando el intervalo mencionado de la incertidumbre está desplazado hacia uno de los límites de la especificación (12).

La estimación de la incertidumbre en un ensayo para el control de la calidad del producto STABILAK, diseñado para la conservación de leche sin refrigeración, mostró resultados similares cuando se aplicaron las dos metodologías mencionadas para estimar la incertidumbre, además se comprobó que la variabilidad de los resultados se corresponden con la especificación del producto (13).

El valor de la incertidumbre es útil para identificar los puntos críticos de la prueba siempre que se utilice la estimación de la incertidumbre por el procedimiento paso a paso, en este caso se identifican los puntos que contribuyen en mayor cuantía a la incertidumbre del ensayo, lo que permite tomar acciones preventivas y correctivas para obtener resultados analíticos más confiables (14).

Para los laboratorios que se encuentran en proceso de acreditación de ensayos, la norma de referencia NC ISO/IEC 17025: 2006 (15) regula la estimación de la incertidumbre de los ensayos cuantitativos, de manera que resulta un requisito obligatorio para lograr la certificación como laboratorio acreditado.

CONCLUSIONES

La aplicación inmediata de la incertidumbre expandida es disponer del valor del mensurando expresado como un intervalo de valores probables. Esto aporta mayor información para el usuario en la toma de una decisión razonable, sobre la aceptación o rechazo de un resultado al comparar con valores de referencia o la especificación en caso de un producto.

Como se ha expresado en las situaciones expuestas, es una necesidad conocer y aplicar en los laboratorios de ensayos la estimación de la incertidumbre, su empleo cotidiano dependerá de las necesidades del propio laboratorio para cumplir requisitos regulatorios, exigencias de los clientes, así como la intención del laboratorio de ofrecer mayor información sobre el resultado analítico.

REFERENCIAS

1. JCGM 200. Vocabulario Internacional de Metrología. Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM), 2008.
2. ISO/IEC Guide 98-1. Uncertainty of measurement Part 1: Introduction to the expression of uncertainty in measurement, 2009.
3. Eurolab, Guide to the Evaluation of Measurement Uncertainty for Quantitative Test Results, Technical Report No. 1/2006 August 2006.
4. ISO/TS 21748:2004(E), Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation.
5. EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Second Edition, QUAM:2000.P1, 2000.
6. Maroto A, Riu J, Boque R, Rius FX. Estimating uncertainties of analytical results using information from the validation process. *Anal Chim Acta* 1999;391(2):173-185.
7. NMKL: Estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico. Procedimiento No. 5: 2003;1-49 (edición en español).
8. Espinosa M, León Y, Correa O, Álvarez Y, Rodríguez X, Gutiérrez J, et al. Resultados en la estimación de la incertidumbre de la medición en ensayo de aguas residuales. *Revista Cubana de Química*, 2009;vol. XXI:1:58-67.

9. González R, Jaime A, Díaz H, Aéreas J, Dierksmeier G, González M, et al. Validación de una técnica analítica para la determinación de halotano en orina como instrumento de evaluación de la exposición ocupacional. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*. 2010;11(2):32-38.
10. NC TS-367: Guía para la estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico. 2008; Edición 2:1-41.
11. ISO 5725-3: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results-Part 3: Intermediate measures of the precision of a standard measurement method. 1994.
12. Eurolab, Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation. Technical Report No.1 2007.
13. Betancourt A, Navarro V. Incertidumbre de la medición de percarbonato de sodio en el producto STABILAK. *Rev Salud Anim*. 2012;34(3):173-177.
14. Alzate EJ. Estimación de la incertidumbre de medición en el ensayo de alcalinidad de acuerdo a la Guía GTC 51. *Scientia et Technica* Año 2008; XIV, No 38.
15. NC ISO/IEC 17025: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. 2006.

Recibido: 15-2-2012.

Aceptado: 10-11-2012.