

## Bioquimia

Volumen **27**  
Volume

Número **2**  
Number

Junio **2002**  
June

*Artículo:*

**Cálculo de la incertidumbre asociada al resultado de la medición de glucosa**

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

**Otras secciones de  
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in  
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



**Medigraphic.com**

# Cálculo de la incertidumbre asociada al resultado de la medición de glucosa

Alejandro Pérez-Castorena\*<sup>1</sup>, Alicia Guevara-Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Área de Metrología de Materiales, Centro Nacional de Metrología. <sup>2</sup> División Materiales Orgánicos, Centro Nacional de Metrología.

\*Sobretiros: km 4.5 carretera a los Cués Municipio El Marques, CP 76241, Querétaro México. e-mail: aperezx@cenam.mx  
Recibido: 03/09/2001 Aceptado: 15/05/2002

## RESUMEN

El propósito de este trabajo es presentar de la manera más clara posible la estimación de la incertidumbre asociada a la medición de una magnitud química, empleando la ley de propagación de incertidumbres, a través de un ejemplo sencillo de medición de glucosa que muestra la forma de identificar, analizar y estimar las contribuciones de los diferentes componentes de incertidumbre que están involucradas en una medición química. Además, se describe conceptualmente el modelo de medición, los conceptos de error, error relativo, error sistemático y su diferencia respecto de la incertidumbre.

**Palabras clave.** Medición, metrología, valor verdadero, incertidumbre de medición, error aleatorio, Método de evaluación tipo A de la incertidumbre, Método de evaluación Tipo B de la incertidumbre, error, error sistemático, trazabilidad.

## ABSTRACT

The aim of this paper is to show the methodology of the determination of uncertainty related to the measurement of a chemical quantity, using the law of propagation, through a simple example of glucose determination that shows the way of identification, analysis and evaluation of the contribution of different components of uncertainty which are involved in a chemical measurement. Besides, the model of measurement and error concepts (systematic and random) are described conceptually, in order to be able of distinguish them from the uncertainty concept.

**Key words.** Measurement, metrology, true value, uncertainty of measurement, random error, Type A method of uncertainty evaluation, Type B method of uncertainty evaluation, error, systematic error, traceability.

## Introducción

Una gran cantidad de decisiones están basadas en los resultados provenientes de mediciones químicas, estos resultados se emplean en la emisión de diagnósticos, determinación de rendimientos químicos, verificación de los valores de una propiedad de un material respecto de especificaciones o límites normativos, aceptación o liberación de productos, aplicación de regulación ambiental, entre otras. Independientemente de las decisiones que se tomen con base en los resultados, se requiere tener una indicación sobre la calidad de éstos y de su fiabilidad para el propósito al que están destinados. Actualmente hay una necesidad o requerimiento formal, por parte de los laboratorios que realizan mediciones químicas, de implantar medidas que permitan asegurar la capacidad de proporcionar datos con la calidad requerida por los usuarios. Estos requerimientos implican el uso de métodos validados de análisis, uso de procedimientos de control de calidad internos, participación en pruebas de aptitud técnica (conocidas en química clínica como esquemas de evaluación externa de la calidad), acreditación con base en la guía ISO 17025, establecimiento de trazabilidad de los resultados de las mediciones y en consecuencia el cálculo de la incertidumbre asociada al resultado de dichas mediciones (todos

éstos son elementos que forman parte de la metrología en química); por lo cual en este artículo se presenta la forma de tener una indicación de la calidad de las mediciones a través de la evaluación de la incertidumbre asociada al resultado de una magnitud química, la concentración de glucosa.

## 1. Medición

La medición, se define como el conjunto de operaciones que tienen la finalidad de asignar un valor a una magnitud específica <sup>1</sup>. La metrología es el campo del conocimiento relativo a las mediciones. Siendo sus principales temas de estudio las unidades de medida y sus patrones, la medición, los instrumentos de medición y aquellas cualidades referidas a la ejecución de las mediciones <sup>2</sup>. De acuerdo con esto se puede decir que la metrología en química es el campo del conocimiento relativo a las mediciones químicas.

Es útil distinguir la diferencia entre tipos de mediciones. Según J. Mandel <sup>3</sup> las mediciones pueden ser de tres tipos: (1). medición de constantes fundamentales; (2) mediciones físicas y químicas para caracterizar un sistema físico o un material específico;

y (3) métodos de control, los cuales pueden ser clasificados como mediciones, cuyo propósito es diferente al de los dos anteriores, es decir, el propósito no es establecer un valor de interés intrínseco sino asegurar que las fluctuaciones del valor de la propiedad que se mide permanezcan dentro de límites específicos. En este documento el principal interés es tratar la estimación de la incertidumbre asociada a las mediciones del tipo dos.

Cuando se realiza una medición de un mensurando<sup>1</sup>, magnitud particular sujeta a medición, con el fin de conocer su valor verdadero ( $\mu$ ), se emplea un sistema de medición (por ejemplo espectrómetro de masas, cromatógrafo de líquidos, cromatógrafo de gases, espectrofotómetro, etc.) obteniéndose como resultado un valor de la medición ( $y$ ), que difiere en una cantidad ( $\epsilon$ ) del mensurando. El valor de la cantidad  $\epsilon$  variará al repetir el experimento de medición, es decir, existe una imposibilidad de obtener el mismo valor como resultado de la medición del mensurando al repetir el experimento, lo cual se debe al azar.

Este fenómeno, caracteriza al proceso de medición como la variabilidad de un sistema de medición, generando una duda en el valor obtenido del mensurando, esta actitud de duda se denomina incertidumbre de medición.

La realización de un experimento aleatorio (que se define como aquel en el cual no se puede predecir el resultado aunque se realice siempre en las mismas condiciones) de medición de un mensurando, con algún sistema de medición, tendrá una gran cantidad de resultados posibles, los cuales en conjunto constituyen lo que se denomina espacio muestral. A cada uno de estos resultados posibles  $y$ , se le asocia un valor numérico que es el resultado de la medición. A esta función matemática que le asocia un valor numérico a un resultado experimental, se le conoce como variable aleatoria.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado, se puede decir que un sistema de medición esta caracterizado por un conjunto de valores posibles de la desviación  $\epsilon$ . Estos serán los diferentes valores que toma la variable aleatoria  $\epsilon$ .

La ecuación siguiente, muestra el modelo de medición <sup>4</sup> que expresa las ideas anteriores:

$$y_i = \mu + \epsilon_i \quad (1)$$

En este modelo  $\mu$  es el valor del mensurando que se quiere conocer,  $y_i$  es el resultado de la medición, y la variable aleatoria  $\epsilon$  es el error aleatorio de medición, que representa la combinación de diferentes fuentes de error.

El patrón de comportamiento de una variable aleatoria esta descrito por su distribución, si  $\epsilon$  es una variable aleatoria continua

su información se tiene en una función de densidad de probabilidades  $f(\epsilon)$ . De la ecuación (1) se puede observar que el comportamiento de esta variable  $\epsilon$ , se hereda a cada resultado de cada medición  $y_i$ , que como consecuencia es también una variable aleatoria con una cierta distribución,  $f(y)$ . Se puede decir entonces, que un sistema de medición tiene asociada una distribución de mediciones,  $f(y)$ .

Esta relación entre el sistema de medición, y una cierta distribución, establece una estrecha relación entre la estadística y la metrología.

## 2. Incertidumbre

El término incertidumbre <sup>1</sup> esta definido como: parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

En mediciones químicas, generalmente la incertidumbre asociada al valor de un mensurando tiene diferentes contribuciones que tienen diferentes orígenes, por ejemplo muestreo, efectos de matriz, interferencias, temperatura y humedad del medio ambiente del laboratorio, variabilidad de los instrumentos para medir masa y volumen, entre otros. Cada una de éstas, se conoce como componente de incertidumbre. Cuando se expresa cada una de éstas componentes como desviación estándar entonces, se conocen con el nombre de incertidumbres estándar.

### 2.1 Métodos para la evaluación de la incertidumbre

La contribución de los diferentes componentes de incertidumbre identificados en una medición, se puede evaluar empleando una de dos maneras <sup>5</sup>, las cuales consisten en determinar o asociar una distribución de probabilidad (distribución uniforme, triangular o normal, caracterizada por su media y varianza) a los valores de dichos componentes. A continuación se describen estas formas de evaluación:

**Evaluación Tipo A.** Es aquella que evalúa la incertidumbre por métodos estadísticos de una magnitud que varia de manera aleatoria,  $x_i$  (concentración), a partir de una serie de  $n$  observaciones experimentales. En este caso la mejor estimación de la incertidumbre estándar de dicha magnitud, se obtiene por medio de la desviación experimental de la media de  $n$  observaciones.

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{\sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

La desviación experimental de la media se interpreta como la incertidumbre involucrada en el proceso de estimar el valor verdadero de la magnitud,  $x_i$ , a partir del promedio de un conjunto  $n$  de mediciones experimentales.

**Evaluación Tipo B.** Es aquella que evalúa la incertidumbre por medios diferentes al análisis estadístico de una serie de observaciones. En este caso la evaluación de la incertidumbre estándar se basa en datos o información proporcionados por el proveedor o fabricante, como certificados de materiales de referencia, certificados de calibración de instrumentos, catálogos o manuales y especificaciones técnicas, entre otros.

Esta evaluación tipo B también puede realizarse empleando el juicio científico o experiencia del analista. La incertidumbre estimada de esta manera deberá combinarse con otras fuentes de incertidumbre identificadas y cuantificadas empleando los métodos de evaluación tipo A y tipo B.

Para el caso de incertidumbres asignadas a referencias, como por ejemplo la que corresponde al valor reportado de concentración de un material de referencia certificado, ésta se encuentra indicada en el certificado como incertidumbre expandida, es decir, como el producto de la incertidumbre estándar y un factor de cobertura  $k$  correspondiente a un nivel de confianza específico, que permiten suponer una distribución de probabilidad normal para la magnitud concentración, (ver sección 3).

En otros casos por ejemplo, se dispone de información proporcionada por el fabricante (como especificaciones de material de vidrio) que consiste en los valores de los límites superior e inferior entre los cuales puede variar el volumen nominal del material. En este caso el analista debe asociar a la variable aleatoria (volumen) con una distribución *a priori*, distribución triangular o rectangular de probabilidad generalmente.

De acuerdo al párrafo anterior, para la evaluación de la incertidumbre estándar deberá suponerse que la variable aleatoria esta descrita por una distribución específica, que para el caso de una distribución rectangular la expresión que evalúa la incertidumbre estándar es:

$$u(x_i) = \frac{a_i}{\sqrt{3}} \quad (3)$$

y para una distribución triangular es:

$$u(x_i) = \frac{a_i}{\sqrt{6}} \quad (4)$$

donde  $a_i$ , es el valor del semi-intervalo de variación de la desviación estándar.

## 2.2 Pasos en la estimación de la incertidumbre

La estimación de la incertidumbre asociada con el resultado de una medición, es sencilla en principio. Para su estimación es necesario seguir cuatro pasos<sup>6</sup> los cuales se describen a continuación:

### Paso 1

Especificación del mensurando. Describir o dar un enunciado de lo que se esta midiendo, incluyendo la relación entre el mensurando y los parámetros de los cuales depende, ver regla 1 y 2 en la sección tres.

### Paso 2

Identificación de las fuentes de incertidumbre. Listar las posibles fuentes de incertidumbre. Esta debe incluir fuentes que contribuyan a la incertidumbre de los parámetros especificados en la relación mencionada en el paso 1.

### Paso 3

Cuantificación de las fuentes de incertidumbres. Estimar o medir el tamaño de las componentes de la incertidumbre asociadas con cada fuente potencial de incertidumbre identificada. Es posible estimar o calcular una sola contribución asociada con un número de fuentes de incertidumbres separadas.

### Paso 4

Cálculo de la incertidumbre combinada. La información obtenida en el paso tres, consistirá de un número de contribuciones cuantificadas para la estimación de la incertidumbre total, ya sea que estén asociadas a fuentes individuales o a efectos combinados de varias fuentes. Las contribuciones deben expresarse como desviaciones estándar, y combinarse de acuerdo a las reglas descritas para obtener la incertidumbre combinada, ver la sección 3. Finalmente, aplicar el factor de cobertura apropiado para obtener la incertidumbre expandida.

## 3. Ley de propagación de incertidumbres

La incertidumbre total del resultado de una medición  $y$ , denotada por  $u_c(y)$ , se llama incertidumbre estándar combinada, y es igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida al combinar todas las componentes de incertidumbre empleando la ley de propagación de incertidumbre<sup>5</sup>, ecuación (2).

(5)

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = \sqrt{\sum_i [c_i \cdot u(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_i \left[ \frac{\partial Y}{\partial X_i} \cdot u(x_i) \right]^2}$$

$$c_i \cdot u(x_i) = \frac{\partial Y}{\partial X_i} \cdot u(x_i) \quad (6)$$

En donde el producto  $c_i u(x_i)$ , representa la contribución de cada uno de los componentes a la incertidumbre total y  $c_i$  denota la derivada parcial del mensurando respecto de cada componente, mejor conocido como coeficiente de sensibilidad.

En algunos casos, la expresión para combinar incertidumbres se reduce a dos reglas simples:

**Regla 1.** Para modelos que involucran solo sumas o restas,  $y=(x_1+x_2+x_3+\dots)$  o  $y=(x_1-x_2-x_3-\dots)$ , la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  esta dada por la expresión:

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = \sqrt{u^2(x_1) + u^2(x_2) + u^2(x_3) + \dots} \quad (7)$$

**Regla 2.** Para modelos que involucran un producto o cociente,  $y=(x_1 \times x_2 \times x_3 \times \dots)$  o  $y=x_1/(x_2 \times x_3 \times \dots)$ , la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  esta dada por:

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = y \cdot \sqrt{\left[\frac{u(x_1)}{x_1}\right]^2 + \left[\frac{u(x_2)}{x_2}\right]^2 + \left[\frac{u(x_3)}{x_3}\right]^2 + \dots} \quad (8)$$

Para la mayoría de los propósitos en mediciones químicas, se emplea la incertidumbre expandida, ( $U$ ), la cual proporciona un intervalo dentro del cual se espera se sitúe el valor verdadero de un mensurando con un nivel de confianza específico.  $U$  se obtiene multiplicando  $u_c(y)$  por un factor o multiplicador llamado factor de cobertura ( $k$ ). El valor de este factor se elige de acuerdo al nivel de confianza deseado. Normalmente se elige  $k=2$  para un nivel de confianza de aproximadamente el 95 % . La forma de expresar la incertidumbre expandida será entonces  $U = k u_c(y)$ .

#### 4. Error

Error, esta definido como el resultado de una medición menos el valor verdadero del mensurando<sup>1</sup>. En esta definición puede notarse que error es un concepto idealizado, que no puede ser conocido con exactitud. En principio el valor de un error puede ser aplicado como una corrección al resultado.

Por otra parte, la incertidumbre toma la forma de un intervalo, es decir, si ésta se estima para una medición analítica y para un tipo de muestra específica entonces puede aplicarse a todas las determinaciones de este tipo, por lo que no debe ser confundida con el error.

El error se considera estar formado por dos componentes, una componente aleatoria y una componente sistemática.

Error aleatorio, es el resultado de una medición menos la media que resultaría de un número infinito de mediciones del mismo mensurando realizadas bajo condiciones de repetibilidad. El error aleatorio surge de variaciones no predecibles de magnitudes de influencia. Estos efectos aleatorios generan variaciones en observaciones repetidas del mensurando. Lo anterior, es consistente con el modelo de medición dado en la ecuación (1).

Error sistemático, se define como el componente del error que durante el curso de un número de análisis del mismo mensurando permanece constante o varía en una forma predecible. Es por lo tanto independiente del número de mediciones realizadas.

Finalmente, la incertidumbre no debe confundirse con el error en virtud de que la primera proviene de un conjunto de componentes que contribuyen al valor de la incertidumbre total asociada al valor del mensurando, y se expresa en la forma de un intervalo de confianza, en tanto que error es únicamente la diferencia de una sola medición y el valor verdadero del mensurando.

A continuación, se presenta un ejemplo ilustrativo para estimar la incertidumbre asociada a la medición de la concentración de glucosa obtenida experimentalmente, durante la medición de una muestra de suero o plasma.

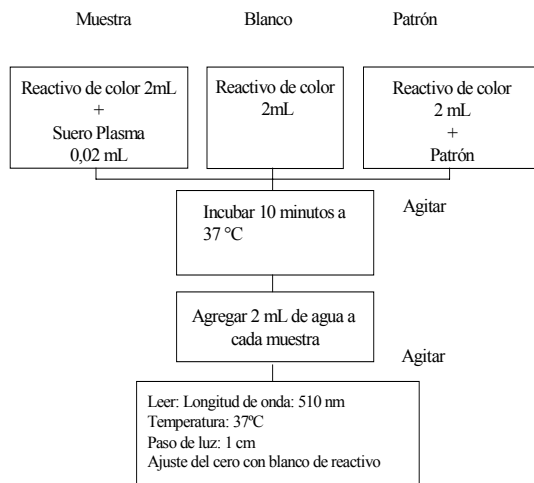
### 5. Evaluación de la incertidumbre asociada a la medición de glucosa

De acuerdo a la sección anterior, para realizar la cuantificación de la incertidumbre asociada a la medición de glucosa en suero o plasma por espectrofotometría, ésta se debe realizar en varios pasos, éstos se describen a continuación.

#### Paso 1: Especificación del mensurando.

El objetivo de este paso es describir de manera clara el proceso de medición y al mensurando. En esta etapa se describe la preparación de la muestra, la medición y la relación entre el mensurando y las magnitudes de las cuales depende. En este ejemplo se considera que la medición de glucosa se realiza sobre una muestra en sangre proveniente de una persona sujeta a ayuno previo.

La información específica acerca de cómo preparar la muestra y los patrones, generalmente se encuentra en el procedimiento correspondiente dentro del Manual de Operaciones del laboratorio. En la figura 1, se esquematiza y describe el proceso de preparación de la muestra.



**Figura 1.** Describe el proceso de preparación de la muestra.

En cada uno de tres tubos de ensaye, a los que previamente se les agregó un mililitro de solución tampón, se disuelve un mililitro de reactivo de color, ver tabla 2 (Que contiene Glucosa oxidasa, Peroxidasa y 4-aminobenzofenona). El tubo uno es para la muestra, el tubo dos es para el blanco y el tubo tres es para el patrón. Adicionar 0,02 mL de muestra (suero o plasma) al tubo uno y mezclar perfectamente, adicionar 2,02 mL de agua al tubo tres y 0,02 mL del patrón al tubo tres. Inmediatamente, incubar los tres tubos durante 10 minutos a una temperatura de 37 °C, al finalizar los 10 minutos agregar en cada tubo dos mililitros de agua y mezclar perfectamente.

Leer la respuesta en absorbancia de la muestra y el patrón, empleando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm de acuerdo a la secuencia dada en el paso 2.

#### Cálculos:

El mensurando en este problema es la concentración de glucosa, la cual depende de la absorbancia de la muestra, la absorbancia del patrón y de la concentración del patrón, la ecuación (9) relaciona éstos factores:

$$y = \frac{A_m}{A_p} \cdot [\text{Patrón}] \quad (9)$$

$y$  = cantidad de glucosa en la muestra en unidades de mg/dL

$A_m$ ,  $A_p$  = absorbancia de la muestra y del patrón respectivamente.

$[\text{Patrón}]$  = concentración del patrón, mg/dL

#### Paso 2: Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre.

El propósito de este paso es listar todas las fuentes de incertidumbre para cada una de las magnitudes que afectan el valor del mensurando.

Con el fin de facilitar la identificación de las fuentes de incertidumbre, el proceso para la determinación de la concentración de glucosa en plasma se puede desglosar en varias etapas:

- I. Preparación del paciente
- II. Muestreo
- III. Medio en que se encuentra la muestra después de la separación de los elementos formados en sangre del plasma.
- IV. Preparación de la muestra
- V. Medición

#### I. Preparación del paciente

Esta etapa involucra la condición de ayuno del paciente y algunos factores adicionales como ansiedad y tensión, los cuales afectan el valor de concentración de la glucosa que será medirá.

#### II. Muestreo

El muestreo se realizó en el paciente en estado de ayuno y de manera venosa lo cual tiene un efecto en la concentración de glucosa.

#### III. Medio en el que se encuentra la muestra después de la separación de los elementos formados en sangre del plasma.

La medición de la concentración de glucosa requiere una separación de los elementos formados en sangre del plasma, la cual puede ser realizada por medio de la centrifugación. Por otra parte se sabe que la glucosa en plasma sufre una degradación (la cual es dependiente de la temperatura del laboratorio, transporte y preparación de la muestra) debido a la glicólisis, la cual tiene un efecto en la incertidumbre final.

#### IV. Preparación de la muestra previa a la medición

##### Temperatura del baño, $T_{\text{baño}}$

La magnitud de influencia temperatura del baño afectará al valor del mensurando, concentración de glucosa, la cual no esta representada en la ecuación (9). Una variación de la temperatura por  $\pm\Delta T$  alrededor de la temperatura  $T_0 = 37$  °C causará variaciones en la concentración de glucosa.

##### Tiempo de incubación, $t_i$

Este parámetro afecta de la misma forma que la temperatura, de manera que una variación del tiempo por  $\pm\Delta t$  alrededor del tiempo  $t_0=10$  minutos causará variaciones en la concentración de glucosa.

##### Profundidad de inmersión del contenido de los tubos respecto del nivel del agua del baño, $N_{\text{tubo}}$

Existe la posibilidad de que esta profundidad afecte el valor de la concentración, al igual que la temperatura y el tiempo, por lo que debe ser investigada .

##### Agitación

Se deberá determinar el tiempo óptimo de agitación con el fin de obtener un efecto despreciable en el valor de concentración de glucosa.

**Volumen de agua, reactivo de color y patrón, V**

El efecto de la variabilidad de los volúmenes de agua, reactivo de color y patrón, en la concentración medida a través de la absorbancia, estará incluido y se reflejará en la variabilidad de los valores de absorbancia. Por lo que no se requiere determinar el efecto de éstos en un experimento separado.

**V. Medición**

**Absorbancias,  $A_m, A_p$**

Los valores de absorbancia se obtienen a partir de la siguiente secuencia de medición:

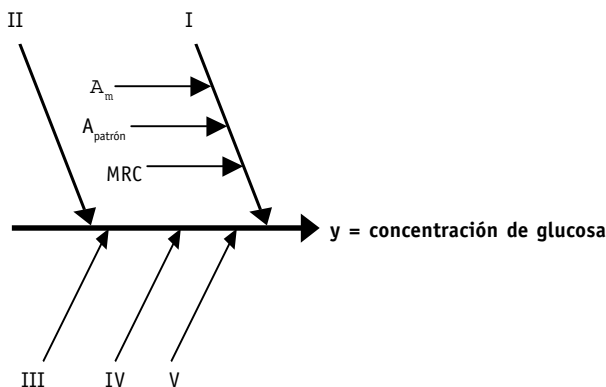
Blanco, **Patrón**, Blanco,  $M_1$ , Blanco,  $M_2$ , Blanco, **Patrón**, Blanco,  $M_3$ , Blanco,  $M_4$ , Blanco, **Patrón**, Blanco,....

La fuente de incertidumbre de los valores de las absorbancias, tanto de la muestra y del patrón, esta sujeta únicamente a la repetibilidad del instrumento y a la preparación previa a la medición tanto de la muestra, como del blanco y el patrón.

**Patrón, P**

La incertidumbre estándar correspondiente al valor del patrón se obtiene del certificado del mismo, es decir, a partir del valor de incertidumbre expandida reportada en él y expresada con un factor de cobertura  $k = 2$  para un nivel de confianza de aproximadamente el 95 %.

La figura 2, muestra a través de un diagrama de causa efecto, las fuentes potenciales de incertidumbre que podrían contribuir al valor de la incertidumbre asociada al valor medido de la concentración de glucosa (mensurando).



**Figura 2**

**Paso 3:** Cuantificación de los componentes de incertidumbre.

En este paso cada fuente potencial de incertidumbre identificada se mide directamente o estima usando resultados experimentales previos o resultados derivados de análisis teóricos. Para las etapas del proceso de medición I, II y III se empleó información determinada en experimentos previos y publicada en la referencia 7, por lo que la

incertidumbre estándar de cada una de estas etapas se debe calcular empleando al método de evaluación tipo B de acuerdo a la ecuación (3), cuyos resultados se encuentran a continuación.

**I. Preparación del paciente  $u_{rel}(PP)$**

Los factores involucrados en la preparación del paciente se consideran una fuente de incertidumbre para la concentración de glucosa y de acuerdo a la referencia [7] es del 5 % relativo. Empleando la ecuación (3), la incertidumbre estándar relativa es:

$$u_{rel}(PP) = 5 / \sqrt{3} = 2,9\%$$

**II. Muestreo  $u_{rel}(M)$**

En el muestreo venoso se estima que la contribución a la incertidumbre total es el 1,7% relativa (referencia 7), ya que algunas veces puede variar de un individuo a otro y aún en muestreos consecutivos a través de la misma aguja.

$$u_{rel}(M) = 1,7 / \sqrt{3} = 0,98\%$$

**III. Medio en el que se encuentra la muestra  $u_{rel}(MM)$**

La contribución de este componente de incertidumbre se ha estimado ser del orden del 1,39 % relativo (referencia 7).

$$u_{rel}(MM) = 1,39 / \sqrt{3} = 0,802\%$$

**IV. Preparación de la muestra posterior a obtener la muestra de plasma y previa a la medición**

Los efectos de la agitación, temperatura del baño,  $T_{baño}$ , profundidad de inmersión del contenido de los tubos respecto del nivel del agua del baño,  $N_{tubo}$  y del tiempo de incubación,  $t_i$ , se redujeron al mínimo en virtud de que las condiciones experimentales correspondientes al baño termostático de agua y ubicación de los tubos dentro de éste, fueron tales que el nivel de inmersión del contenido de los tubos se encontraba 5 cm por debajo del nivel de agua del baño, el control de la temperatura del baño era de  $\pm 0,5$  °C, realizándose el monitoreo de la temperatura del agua con un termómetro de  $\pm 0,1$  °C de resolución y una agitación homogénea. También se ubicaron los tubos lo más cerca posible al centro del baño.

En experimentos previos fue determinado un tiempo de incubación óptimo, cuyo efecto en la concentración de glucosa fue despreciable.

**V. Medición**

**Absorbancia:  $A_m, A_p$**

La absorbancia, cuadro 1, fue medida de acuerdo a la secuencia descrita en el Paso 2.

En la preparación de la muestra, del reactivo de color y del patrón se siguió el esquema de adición de volúmenes mostrado en la cuadro 2.

La variabilidad debida al instrumento y a la inexactitud en la adición del volumen se encuentra reflejado en el valor estimado de incertidumbre estándar de la absorbancia del patrón y de la muestra (desviación estándar de la media tanto del patrón y como de la muestra) cuadro 1.

Cuadro 1

No. Lectura	$A_p$	$A_m$
1	0,284	0,235
2	0,285	0,243
3	0,283	0,233
Media	0,284	0,237
Desviación estándar	0,001	0,005
Desviación estándar de la media	0,0006	0,0031

Cuadro 2

	Tubo de muestra, $V_1$ (mL)	Tubo de blanco, $V_2$ (mL)	Tubo de patrón, $V_3$ (mL)
Muestra	0,02		
Reactivo de color	1	1	1
Agua	2	2,02	2
Patrón			0,02

#### Patrón, P

Se empleó un material de referencia certificado de concentración  $102,33 \pm 0,84$  mg/dL, cuya incertidumbre expandida se determinó con un factor de cobertura de  $k=2$  para un nivel de confianza de aproximadamente del 95 % según lo muestra el certificado, por lo que su incertidumbre estándar es:

$$u_c = \frac{U}{k} = \frac{0,84}{2} = 0,42 \text{ mg/dL} \quad (10)$$

#### Paso 4: Cálculo de la incertidumbre combinada

Sustituyendo en la ecuación 9, los valores correspondientes a la absorbancia de la muestra, del patrón y el valor de la concentración del patrón, ver tabla 3, se obtiene el valor de la concentración de glucosa siguiente,

$$y = \frac{A_m}{A_p} [\text{Patrón}]$$

$$y = \frac{0,237}{0,284} (102,40) = 85,40 \text{ mg/L} \quad (11)$$

$$y = 4,744 \text{ mmol/L}$$

La incertidumbre combinada asociada al valor de concentración calculado proveniente únicamente de la repetibilidad del instrumento, etapa V, se obtiene sustituyendo dentro del símbolo de radical de la ecuación (8) los valores correspondientes a las absorbancias del patrón y de la muestra, así como el valor de la concentración de patrón y los valores de las incertidumbres correspondientes a cada uno de los parámetros involucrados en la expresión (9). Y dividiendo el resultado de la raíz cuadrada de la suma de los cocientes de las incertidumbres y absorbancias correspondientes elevados al cuadrado, por el valor 0,0139, se obtiene la incertidumbre combinada,  $u_c(\text{glucosa})$ .

(12)

$$\frac{u_c(\text{medición})}{y} = \sqrt{\frac{u^2(A_m)}{A_m^2} + \frac{u^2(A_p)}{A_p^2} + \frac{u^2(P)}{P^2}} =$$

$$\sqrt{\frac{0,0031^2}{0,237^2} + \frac{0,0006^2}{0,284^2} + \frac{0,42^2}{102,33^2}} = 0,0139$$

$$u_c(\text{glu cos a}) = 1,19 \text{ mg/dL}$$

La incertidumbre estándar combinada en términos relativos correspondiente a las etapas I, II, III y V se calcula empleando la ecuación (8), debido a que sus valores están disponibles en términos relativos.

(13)

$$\frac{u_c(\text{glucosa})}{y} = \sqrt{\left[\frac{u_c(\text{medición})}{y}\right]^2 + u_{rel}^2(PP) + u_{rel}^2(M) + u_{rel}^2(MM)}$$

$$\frac{u_c(\text{glu cos a})}{y} = \sqrt{0,0139^2 + 0,029^2 + 0,0098^2 + 0,00802^2}$$

$$\frac{u_c(\text{glu cos a})}{y} = 0,03414$$

$$u_c(\text{glu cos a}) = y \cdot 0,0341 = 2,915 \text{ g/dL}$$

$$u_c(\text{glu cos a}) = 0,1619 \text{ mmol/L}$$

Finalmente, en los cuadros 3 y 4, se muestra el resumen de los resultados del cálculo de incertidumbre relacionado a la repetibilidad del instrumento y a la concentración de glucosa, respectivamente. La figura 3, presenta de manera gráfica la contribución de cada componente y la incertidumbre estándar combinada, expresadas en forma relativa.



Cuadro 3. Incertidumbre asociada a la repetibilidad del instrumento

Fuente de la incertidumbre	Magnitud	Valor del parámetro ( $V_i$ )	Fuente de información	Valor de la incertidumbre obtenida de la fuente de la información	Distribución/tipo de evaluación	Incertidumbre estándar ( $u_i$ )	Incertidumbre estándar relativa ( $V_i/u_i$ )
Repetibilidad del instrumento	Absorbancia de la muestra	0,237	Medición experimental	0,0031	Normal/Tipo A	0,0031	0,0131
	Absorbancia del patrón	0,283	Medición experimental	0,0006	Normal/Tipo A	0,0006	0,0021
	Concentración	102,33	Certificado del material de referencia	0,84	Normal/Tipo B	0,42	0,0041
						Incertidumbre estándar combinada	1,19 mg/dL
						Incertidumbre estándar combinada relativa	0,0139

Cuadro 4. Incertidumbre estándar combinada relativa

Fuente de la incertidumbre	Magnitud	Valor del parámetro	Fuente de información	Valor de la incertidumbre obtenida de la fuente de la información	Distribución/tipo de evaluación	Incertidumbre estándar	Incertidumbre estándar relativa	
I. Preparación del paciente	Concentración		Referencia [7]	5%	Rectangular/Tipo B		0,029	
II. Muestreo	Concentración		Referencia [7]	1,7 %	Rectangular/Tipo B		0,0098	
III. Medio en el que se encuentra la muestra	Concentración		Referencia [7]	1,39 %	Rectangular/Tipo B		0,00802	
V. Repetibilidad del instrumento	Concentración		Medición experimental	0,0139	Normal/Tipo A		0,0139	
Incertidumbre estándar combinada relativa (IECR)								0,0346

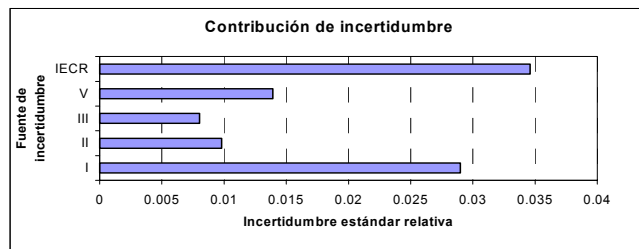


Figura 3

El resultado final se expresa de la manera siguiente:

Concentración de glucosa:  $(4,74 \pm 0,324)$  mmol/L

en donde la incertidumbre reportada es una incertidumbre expandida calculada empleando un factor de cobertura  $k = 2$  ( $2 \cdot 0,1619$  mmol/L), el cual genera un intervalo de confianza de aproximadamente el 95 %.

## 6. Comentario final

Las mediciones realizadas en el área de la química clínica, se encuentran entre las más importantes que se llevan a cabo dentro de la química, en virtud de su trascendencia en la salud humana y por los efectos que pudiera tener un diagnóstico basado en un resultado poco fiable de una medición. Lo anterior implica que un laboratorio u organismo que preste el servicio de análisis clínicos deba estar conciente de su responsabilidad al ser una fuente de información inmediata hacia la población, por lo que debe analizar seriamente el grado de rigor que desea dar a la estimación de incertidumbre sin olvidar algunos factores importantes como: los requisitos del método de ensayo, las necesidades del cliente y la existencia de límites estrechos sobre los cuales se basen las decisiones de conformidad con una especificación. Por otra parte existe una necesidad de los laboratorios que realizan la medición de este tipo

de magnitudes de integrar en su laboratorio sistemas de calidad que les ayuden a ser competitivos y les permitan cumplir con los requisitos de acreditación ante cualquier grupo o entidad dedicada a este fin; por lo que es recomendable que el laboratorio haga todo lo posible para realizar una estimación de la incertidumbre del resultado de una medición química siguiendo los métodos descritos en la referencia [5], sobre todo cuando se realicen análisis de alta exactitud que repercutan en riesgos para la salud o el ambiente.

Finalmente, este artículo más que tratar de presentar de una forma detallada la evaluación de la incertidumbre, intenta ilustrar de manera sencilla la metodología para su evaluación, siendo la incertidumbre el eslabón que da la fuerza y enlaza las cadenas de la trazabilidad.

## Agradecimientos

A la Q.B. Ma. Del Refugio Amado Flores, profesor de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, por sus comentarios acerca de la medición experimental de magnitudes del área clínica.

## Referencias

1. BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, OIML, ISO. International vocabulary of basic and general terms in metrology, ISO, Geneva, 1993.
2. OIML. Vocabulario De Metrología Legal Términos fundamentales, traducción española del texto oficial francés, 1978.
3. Mandel J. The statistical Analysis of Experimental Data. 1ª. Edición. Nueva York; 1964. p.4-6.
4. Villa Diharce E. Estadística y metrología. Notas de curso CIMAT, Guanajuato; 1999 .
5. ISO. Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO, Geneva, 1993.
6. EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement. Laboratory of the Government Chemist (LGC), London, 1995.
7. Kallner A Waldenström J. Does the Uncertainty of Commonly Performed Glucose Measurement allow Identification of Individuals at high Risk for Diabetes?. Clin Chem Lab Med 1999;37(9):907-912.