ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA DETERMINACIÓN DE MAGNESIO SÉRICO EN DOS AUTOANALIZADORES

Alejandra Pacheco C., Martha Gutiérrez M.
MEDyCAL Consultores, Viaducto Tlalpan No. 187-1, Col. San Lorenzo Huipulco, CP. 14370,
Tel. 01 (55) 8502-5165, Fax 01 (55) 8502-5166, apacheco@medycal.com
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga No. 15, Col. Sección XVI, CP. 14000,
Tel. 01 (55) 5487-0900 ext. 2166, anabel@quetzal.innsz.mx

RESUMEN: Se realizó la estimación de la incertidumbre de la medición de la Concentración de magnesio sérico en dos analizadores automatizados Synchron LX-20 de la marca Beckman Coulter. Los valores de la incertidumbre expandida y de la incertidumbre relativa para el Instrumento I fueron de 2.303 mg/dL ± 0.1072 mg/dL y 2.303 mg/dL ± 4.65%, y para el Instrumento II de 2.293 mg/dL ± 0.09925 mg/dL y de 2.293 mg/dL ± 4.32%, respectivamente. Se pudo constatar la gran utilidad de este cálculo para mantener el control sobre la fase analítica, así como para servir de referencia en la evaluación del desempeño de los equipos automatizados.

1. INTRODUCCIÓN

Aproximadamente desde 1890 se realizan mediciones de componentes químicos en muestras biológicas utilizando métodos gravimétricos y titulométricos. Actualmente, se estima que existen en México alrededor de 10,000 Laboratorios de Análisis Clínicos, que emplean metodologías que pueden cuantificar concentraciones del orden de picogramos o picomoles por mililitro. A pesar de la evolución tecnológica que ha experimentado el Laboratorio Clínico y de que se ha convertido en una herramienta fundamental del quehacer médico, la estimación de la incertidumbre de estas mediciones no se calcula de manera rutinaria.

Sin embargo, con el auge de la implementación de sistemas de calidad para mejorar el desempeño del Laboratorio, se hace patente la necesidad de la estimación de la incertidumbre en las determinaciones cuantitativas que en él se realizan.

Es importante resaltar que todos los resultados emitidos por el Laboratorio Clínico deben ser universalmente comparables y metrológicamente trazables. Siendo la trazabilidad definida como la propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por la cual éste pueda ser relacionado a referencias determinadas, generalmente patrones nacionales e internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todos los eslabones incertidumbres determinadas[1].

La Guía BIPM/ISO para la expresión de la incertidumbre de las mediciones establece que un reporte detallado de la incertidumbre debe contener un lista completa de las variables que la componen, especificando para cada uno el método utilizado para la obtención del valor numérico, sin embargo, por la complejidad de la composición de un instrumento automatizado, que incluye: pipetas, espectrofotómetro, incubadoras, termómetros, cronómetros, entre otros elementos, la estimación de la incertidumbre para cada uno de los componentes resulta complicado y poco factible, debido a que no se cuenta con la trazabilidad de cada uno de estos elementos.

En el presente trabajo se realizó la estimación de la incertidumbre de la medición de la concentración de magnesio sérico en dos analizadores automatizados Synchron LX-20 de la marca Beckman Coulter.

El sistema Synchron LX utiliza un método cinético de punto final para medir la concentración de magnesio. En la reacción, el magnesio se combina con la calmagita para formar un cromógeno estable. El producto se forma rápidamente, lo que da resultados reproducibles con un mínimo de interferencias. El Sistema SYNCHRON LX automáticamente diluye las muestras biológicas y suministra los volúmenes necesarios de muestra y reactivo en una cubeta. La proporción utilizada es una parte de muestra a 103 partes de reactivo para suero o plasma, y una parte de muestra diluida a 103 partes de reactivo para orina. El sistema

controla el cambio de absorbancia a 520 nanómetros y mantiene la temperatura interna a 37±0,1ªC. Este cambio en absorbancia es directamente proporcional a la concentración de magnesio en la muestra y es usado por el Sistema SYNCHRON LX para calcular y expresar la concentración de magnesio.

Esquema de la reacción química

Calmagita + Mg^{++} ⟶ Mg^{++} - Complejo de calmagita

El Sistema Synchron LX está compuesto por los siguientes sistemas:

- Sistema de manipulación de muestras
- Sistema de manipulación de reactivos de químicas del módulo fotométrico
- Sistema de cubetas de reacción
- Sistema de químicas del módulo paralelo
- Sistema hidroneumático
- Sistema de jeringas
- Sistema de alimentación eléctrica
- Módulo de control del instrumento y módulos Smart
- Sistema de lectura de código de barras
- Software

2. MATERIAL Y MÉTODO.

- Calibrador Synchron Multi (Synchron Systems) (Lote M211281)
- Controles Synchron Systems Nivel 2 (Lote 307282)
- Reactivo para Magnesio Synchron Systems
- Instrumentos Synchron LX-20 (I y II)

Foto 1. *Instrumento LX-20 I*

Foto 2. *Instrumento LX-20 II*

Foto 3. *Instrumento LX-20 I y II*

I. Se procesaron en ambos equipos 38 y 36 veces respectivamente el calibrador Synchron Multi y 49 y 53 veces, respectivamente el control Synchron Systems en el equipo 1 y 2

II. Las condiciones ambientales se mantuvieron controladas y estables a 21ºC y 42%H

III. El inserto que incluye el calibrador Synchron Multi indica que es trazable al National Institute of Standards and Technology (NIST) Standard Reference Material (SRM) 929 (El valor certificado del Mg es de 5.403 ± 0.022 wt %).

IV. La evaluación de la incertidumbre se realizó de acuerdo a los siguientes pasos:

a. Identificación y especificación del mensurando

El mensurando identificado fue la concentración de magnesio en suero, determinándolo en un material de control comercial (Synchron Systems Nivel 2).

b. Identificación de las fuentes de incertidumbre o magnitudes de entrada.

Las fuentes de incertidumbre identificadas fueron:

i. Variabilidad de la calibración de la prueba
ii. Variabilidad del instrumento
iii. Variabilidad de la medición

iv. Calibrador utilizado

La diferencia entre la variabilidad del la calibración de la prueba y la variabilidad del la medición radica en el tipo de material utilizado para la determinación del magnesio y su función, ya que en el primer caso, se utilizó un material de calibración que tiene una concentración conocida, a partir de la cual el instrumento establece una curva de calibración con la que se determina la concentración de las muestras problema, mientras que para la variabilidad de la medición, el material de control Synchron Systems tiene una concentración desconocida, por lo que se asemeja a las muestras de pacientes y podemos considerarlo como tal, por esta razón, se calculó a partir de estos datos la variabilidad del instrumento, expresada como el %CV de las mediciones, que es 5.88 veces mayor al %CV de la variabilidad de calibración.

El valor y la incertidumbre del material de referencia del calibrador (NIST SRM 929) es un valor reportado en el certificado de análisis de este material (www.nist.gov) por lo que se considero incertidumbre tipo B y, por contar con esta información (porque para muchos analitos que se miden en el Laboratorio Clínico este dato no existe), se agregó a las magnitudes de entrada. No se verificó la concentración de esté material, dado que no se cuenta con él.

No se reporta ningún modelo matemático para la concentración de magnesio en suero dado que, los instrumentos utilizados son diseñados y construidos por el proveedor Beckman Coulter y, como se muestra en las fotografías 1. 2 y 3, cada uno de ellos son un conjunto de equipos que funcionan eléctrica, mecánica, neumática y automáticamente, a través de un sistema computarizado que, en la información proporcionada por el proveedor, no refiere como realiza específicamente el cálculo de está medición, lo que es un hecho es que está basada en la Ley de Lambert y Beer, ya que es una determinación que es realizada por espectrofotometría.

La Ley de Lambert y Beer puede expresarse de distintas formas:

$$A = \alpha l c$$

$$\frac{I_1}{I_0} = e^{-\alpha l c}$$

$$A = -\log \frac{I_1}{I_0}$$

$$\alpha = \frac{4\pi k}{\lambda}$$

Dónde:

- A es la absorbancia (o absorbencia)
- I_0 es la intensidad de la luz incidente
- I_1 es la intensidad de la luz una vez ha atravesado el medio
- l es la distancia que la luz atraviesa por el cuerpo
- c es la concentración de sustancia absorbente en el medio
- α es el coeficiente de absorción o la absorbencia molar de la sustancia
- λ es la longitud de onda del haz de luz
- k es el coeficiente de extinción

En resumen, la ley explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la sustancia, así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa. Si conocemos l y α, la concentración de la sustancia puede ser deducida a partir de la cantidad de luz transmitida.

En el caso del Instrumento utilizado, dada la naturaleza y complejidad del equipo, no es posible determinar las intensidades de la luz transmitida o incidente,

c. **Cuantificación de los componentes de la incertidumbre y conversión a incertidumbres estándares ($u_{(x)}$).**

Se calcularon las incertidumbres originales y las incertidumbres estándares a partir de los datos que se presentan en la Tabla 1 y 2.

d. **Cálculo de la incertidumbre estándar combinada**

Se calculó la incertidumbre estándar combinada utilizando la ley de la propagación de la incertidumbre:

$$\mathbf{u}_c\,(\mathbf{y}\,(x_1, x_2, \ldots)) = \sqrt{\sum_{i=l,\,n} c_i^2 u(x_i)^2 + \sum_{i=l,\,n} u(y,x_i)^2} \qquad (1)$$

Donde:

y (x_1, x_2, …) = Es una función de varios parámetros x_1, x_2, …,

c_i = Es el coeficiente de sensibilidad evaluado como $c_i = \partial y/\partial x$

Expresando la incertidumbre combinada en una forma más sencilla:

$$u_c = (y(p,q)) = \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2} \quad (2)$$

Donde:
(u(p/q))= Son incertidumbres de los parámetros expresadas como incertidumbres estándar relativas.

e. Cálculo de la incertidumbre expandida
Se calculó la incertidumbre expandida a partir de la siguiente fórmula:

$$U = u_c * k \quad (3)$$

Donde:
U = Incertidumbre expandida
u_c = Incertidumbre estándar combinada
k = Factor de cobertura basado en el nivel de confianza

A continuación se presentan los resultados de incertidumbre obtenidos:

3. RESULTADOS

INSTRUMENTO LX-20 I

Magnitud de entrada	**Incertidumbre original**	**Incertidumbre estándar relativa**	
		Unidades	
		mg/dL	**mmol/L**
Variabilidad de la calibración de la prueba	0.01584 mg/dL	0.00257	0.00106
Variabilidad del instrumento	3.91549 %	0.02261	0.00932
Variabilidad de la medición	0.09020 mg/dL	0.01289	0.00531
Calibrador utilizado	0.022%	$5.95 * 10^{-7}$	$2.45 * 10^{-7}$

Incertidumbre Expandida
U= 0.1072 mg/dL / 0.04422 mmol/L
2.303 mg/dL ± 0.1072 mg/dL
0.94999 mmol/L ± 0.04422 mmol/L

Incertidumbre relativa
u_r= 4.65%
2.303 mg/dL ± 4.65%
0.9499 mmol/L ± 4.65%

INSTRUMENTO LX-20 II

Magnitud de entrada	**Incertidumbre original**	**Incertidumbre estándar relativa**	
		Unidades	
		mg/dL	**mmol/L**
Variabilidad de la calibración de la prueba	0.02686 mg/dL	0.00448	0.00185
Variabilidad del instrumento	3.64106 %	0.02102	0.00867
Variabilidad de la medición	0.08350 mg/dL	0.01147	0.00473
Calibrador utilizado	0.022%	$5.95 * 10^{-7}$	$2.45 * 10^{-7}$

Incertidumbre Expandida
U= 0.09925 mg/dL / 0.04094 mmol/L
2.293 mg/dL ± 0.09925 mg/dL
0.94586 mmol/L ± 0.04094 mmol/L

Incertidumbre relativa
u_r= 4.32%
2.293 mg/dL ± 4.32%
0.94586 **mmol/L ± 4.32%**

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.
Dado que el autoanalizador LX-20 está compuesto por un conjunto de instrumentos (pipetas, sistemas de vacío y mezclado, lámparas, agitadores, etc.) y a que no se cuenta con la información de la cadena de trazabilidad para cada uno de ellos, se consideró la variación en la determinación de la concentración de magnesio sérico como la expresión de todas las variables que componen al instrumento.

Partiendo de este hecho se fijaron como otras variables de importancia las calibraciones y la

valoración de los controles de calidad interno.

Magnitud de entrada	Material	Datos para el cálculo de la incertidumbre estándar $u_{(x)}$	Tipo de incertidumbre	Incertidumbre
Variabilidad de la calibración de la prueba	Calibrador Synchron Multi Lote M211281	n= 38 x= 4.04 mg/dL sd= 0.01584 mg/dL	Tipo A	$sdm=\frac{sd}{\sqrt{n}}$
Variabilidad del instrumento	Material de Control Synchron Systems Nivel 2 (Lote 307282)	n= 49 x= 2.30367 mg/dL sd= 0.09020 mg/dL	Tipo A	$CV=\frac{sd}{\bar{x}}*100$
Variabilidad de la medición			Tipo A	$sdm=\frac{sd}{\sqrt{n}}$
Calibrador utilizado	Calibrador Synchron Multi Lote M211281	Valor certificado del Magnesio: 5.0403 +/- 0.022 wt. %	Tipo B	$u_{(x)}= U/K$

Tabla. 1 *Datos para la estimación de la incertidumbre del Instrumento LX-20 I*

Magnitud de entrada	Material	Datos para el cálculo de la incertidumbre estándar $u_{(x)}$	Tipo de incertidumbre	Incertidumbre estándar relativa
Variabilidad de la calibración de la prueba	Calibrador Synchron Multi Lote M211281	n= 36 x= 4.04 mg/dL sd= 0.02686 mg/dL	Tipo A	$sdm=\frac{sd}{\sqrt{n}}$
Variabilidad del instrumento	Material de Control Synchron Systems Nivel 2 (Lote 307282)	n= 53 x= 2.29339 mg/dL sd= 0.08350 mg/dL	Tipo A	$CV=\frac{sd}{\bar{x}}*100$
Variabilidad de la medición			Tipo A	$sdm=\frac{sd}{\sqrt{n}}$
Calibrador utilizado	Calibrador Synchron Multi Lote M211281	Valor certificado del Magnesio: 5.0403 +/- 0.022 wt. %	Tipo B	$u_{(x)}= U/k$

Tabla.2 *Datos para la estimación de la incertidumbre del Instrumento LX-20 II*

Donde:
n = Número de datos
x= Promedio
sd= Desviación estándar
sdm= Desviación estándar de la media
CV= Coeficiente de variación
u= Incertidumbre estándar relativa
U= Incertidumbre expandida
k= Factor de cobertura

5. CONCLUSIONES.

La incertidumbre de una medición nos proporciona una clara idea del intervalo en el que se encuentra el valor verdadero del mensurando, y se ve afectada por cada una de las variables que inciden en el proceso del que deseamos realizar su estimación.

Dado que es una magnitud que depende del comportamiento particular del proceso, o en el caso del Laboratorio Clínico, de cada analito, la incertidumbre de una medición no debe ser sumada o restada a los resultados obtenidos.

En el Laboratorio Clínico puede ser utilizada como una herramienta para conocer el desempeño de cada uno de los exámenes y, en conjunto con el control de calidad interno y evaluación externa de la calidad, puede ayudar a mantener el control sobre la fase analítica.

Otra aplicación importante de la estimación de la incertidumbre en el área clínica es en la evaluación del desempeño de los equipos automatizados para la comparación y selección de nuevos equipos.

6. REFERENCIAS

[1] International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrologym, ISO 1993.
[2] Bureau International des Poits et Mesures, París, Fracia, 1993, 3.9.
[3] ISO :Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement.
[4] EURACHEM/ CITAC Guide CG4
[5] Buzoianu M. Some aspects of the evaluation of measurement uncertanty using reference materials.
[6] Fresenius J Anal Chem. 2001 Jun;370(2-3):170-7
[7] Kallner A. International standars in laboratory medicine.
[8] Clin Chim Acta. 2001 May; 307(1-2):181-6.
[9] Thienpont LM, et. al. Reference measurement systems in clinical chemistry.
[10] Clin Chim Acta. 2002 Sep; 323(1-2): 73-87
[11] Guder WG, Büttner J. Clinical Chemistry in Laboratory Medicine in Europe - Past, Present and Future Challenges. Eur J Clin Chem Clin Bicchem 1997; 35(7); 487-494