Recomendaciones para la calibración de material volumétrico en el laboratorio clínico

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular Comité Científico Comisión de Metrología¹ Documento E, Fase 3, Versión 1 Preparado por R. Ruiz Morer

ÍNDICE

- 0. Introducción
- 1. Objeto y campo de aplicación
- 2. Normas para consulta
- 3. Definiciones
- 4. Requisitos metrológicos: criterios de aceptación
- 5. Procedimiento
 - 5.1. Patrones
 - 5.2. Condiciones ambientales
 - 5.3. Procedimiento de calibración
 - 5.4. Cálculo del error sistemático y de la incertidumbre de medida
 - 5.5. Frecuencia de calibración
- 6. Aplicaciones
- 7. Bibliografía

Anexo 1. Cálculo de la incertidumbre

Anexo 2. Ejemplo de resultados de calibración

0. INTRODUCCIÓN

Las pipetas que se utilizan para la dispensación de volúmenes que pudieran afectar, directa o indirectamente, la calidad de los resultados generados en el laboratorio, deberían estar apropiadamente calibradas.

Según las normas para la gestión de la calidad ISO 15189 e ISO 9001, los laboratorios clínicos deben establecer una programación que controle y demuestre periódicamente que sus instrumentos de medida se encuentran calibrados y mantener documentos que describan los procedimientos de calibración y los criterios de aceptación, así como informes que contengan datos de las calibraciones efectuadas.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

La presente recomendación describe un procedimiento gravimétrico para la calibración de pipetas y dispensadores mecánicos de volúmenes superiores a 0,05 mL².

2. NORMAS PARA CONSULTA

• Asociación Española de Normalización. Aparatos volumétricos accionados mediante pistón. Parte 1: Termino-

- logía, requisitos generales y recomendaciones de uso. UNE-EN-ISO 8655-1: 2002. Madrid: AENOR; 2002.
- Asociación Española de Normalización. Aparatos volumétricos accionados mediante pistón. Parte 2: Pipetas tipo pistón. UNE-EN-ISO 8655-2: 2002. Madrid: AENOR; 2002.
- Asociación Española de Normalización. Aparatos volumétricos accionados mediante pistón. Parte 5: Dispensadores. UNE-EN-ISO 8655-5: 2002. Madrid: AENOR; 2002.
- Asociación Española de Normalización. Aparatos volumétricos accionados mediante pistón. Parte 6: Métodos gravimétricos para la determinación del error de medición. UNE-EN-ISO 8655-6: 2002. Madrid: AENOR; 2002.
- Asociación Española de Normalización. Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia. UNE-EN-ISO 15189: 2003. Madrid: AENOR; 2003.
- Asociación Española de Normalización. Sistemas de gestión de la calidad. Requisitos. UNE-EN-ISO 9001: 2000.
 Madrid: AENOR; 2000.
- Centro Español de Metrología. Vocabulario internacional de términos fundamentales y generales de metrología (VIM). Madrid: Ministerio de Obras Públicas, Transportes y Medio Ambiente; 1994.
- Entidad Nacional de Acreditación. Expresión de la incertidumbre de medida en las calibraciones. CEA-ENAC-LC/02 (Rev.1). Madrid: ENAC; 1998
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Metrología. Recomendaciones para la calibración de balanzas y para la estimación de la incertidumbre de las medidas de masa en el laboratorio clínico. Barcelona: Quim. Clín. 2004; 23: 35-39.

3. DEFINICIONES

3.1. Calibración

Conjunto de operaciones que establecen, en condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, o los valores representados por una medida materializada o por un material de referencia, y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones (VIM).

NOTA: En el caso de material volumétrico, es el conjunto de operaciones que establecen la relación entre el volumen dispensado y el volumen nominal o seleccionado correspondiente del aparato (ISO).

3.2. Error máximo permitido (de un instrumento de medida)

Valor extremo de un error permitido por especificaciones, reglamentos, etc., para un instrumento de medida dado (VIM).

¹Composición de la Comisión: J. Batista Castellví, F. Canalias Reverter, F.J. Gella Tomás, B. González de la Presa, R. Ruiz Morer, M. Sánchez Manrique (Presidente)

²Para volúmenes inferiores a 0,05 mL, la evaporación durante el proceso de calibración debe ser compensada por cálculo o tomar medidas adicionales para evitarla.

NOTA: En el caso de material volumétrico, es el valor extremo superior o inferior permitido para la desviación del volumen dispensado a partir del volumen nominal o el volumen seleccionado de un aparato volumétrico accionado mediante pistón (ISO).

3.3. Error sistemático

Media que resultaría de un número infinito de medidas del mismo mensurando realizadas bajo condiciones de repetibilidad menos un valor verdadero del mensurando (VIM).

NOTA: En el caso de material volumétrico, es la diferencia entre el volumen dispensado y el volumen nominal o volumen seleccionado de un aparato volumétrico accionado mediante pistón (ISO).

3.4. Exactitud (de un instrumento de medida)

Aptitud de un instrumento de medida para dar respuestas próximas a un valor verdadero (VIM).

3.5. Imprecisión

Coeficiente de variación de un conjunto de resultados obtenidos al medir repetidamente un mensurando con un mismo procedimiento de medida.

3.6. Incertidumbre de medida

Parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando (VIM).

3.7. Intervalo de medida

Módulo de la diferencia entre dos límites de un intervalo nominal (VIM).

3.8. Patrón

Medida materializada, instrumento de medida, material de referencia o sistema de medida destinado a definir, conservar o reproducir una unidad o uno o varios valores de una magnitud para que sirvan de referencia (VIM).

3.9. Rango de indicación

Conjunto de valores limitado por las indicaciones extremas (VIM).

3.10. Resolución

La menor diferencia de indicación de un dispositivo visualizador que puede percibirse de forma significativa (VIM).

3.11. Trazabilidad

Propiedad del resultado de una medición o de un patrón tal que pueda relacionarse con referencias determinadas, generalmente a patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas (VIM).

3.12. Valor nominal

Valor redondeado o aproximado de una característica de un instrumento de medida que sirve de guía para su utilización (VIM).

4. REQUISITOS METROLÓGICOS: CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

El error máximo de medida de volumen permitido (EMP) en el laboratorio clínico depende sustancialmente del objeto de la medición. De forma general pueden establecerse las siguientes categorías:

- A. Mediciones de volumen que pueden afectar al valor de una magnitud de un patrón/calibrador o relacionadas con un proceso de calibración. Por ejemplo, en la reconstitución de un calibrador liofilizado.
- B. Mediciones de volumen que pueden afectar al valor de una magnitud de un material de control o relacionadas con procesos de control/verificación. Por ejemplo, en la reconstitución de un control liofilizado.
- C. Mediciones de volumen que pueden afectar el valor de una magnitud de una muestra. Por ejemplo, en procedimientos de medida manuales o dilución de una muestra para su reproceso.
- D. Otras mediciones de volumen. Por ejemplo, en la preparación de disoluciones de reactivos.

Teniendo en cuenta el estado actual de la tecnología de los instrumentos para la dispensación de volumen utilizables en los laboratorios clínicos, se recomiendan los requisitos para el error máximo permitido de las mediciones de volumen que se muestran en la siguiente tabla. Estos valores deben considerarse como una aproximación razonable y aplicable a muchas situaciones del laboratorio clínico. No obstante, determinadas circunstancias pueden exigir requisitos más o menos estrictos que los aquí recomendados.

Categoría	EMP (%)			
A	1			
В	2			
С	3			
D	5			

Para cada pipeta o dispensador del laboratorio deben establecerse las medidas que con dicho instrumento se efectúan y asignarle como error máximo permitido el más estricto de las categorías de medida que se realizan con el mismo. El error máximo permitido se utilizará como criterio de aceptación de las calibraciones.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Patrones

Para la calibración de las pipetas debe utilizarse como patrón una balanza previamente calibrada y de resolución adecuada para el volumen de la pipeta a calibrar.

La balanza puede ser calibrada por el propio laboratorio clínico³ o por una empresa externa, en cuyo caso la calibración debe acompañarse de un certificado de calibración expedido por un laboratorio acreditado o un instituto nacional de metrología, debiendo constar en dicho certificado la trazabilidad al patrón nacional, la incertidumbre expandida y el factor (o probabilidad) de cobertura que se ha utilizado en el cálculo de la incertidumbre expandida.

5.2. Condiciones ambientales

Deben evitarse situaciones ambientales extremas, procurando que la calibración se realice bajo condiciones similares a las

³Ver documento «Recomendaciones para la calibración de balanzas y para la estimación de la incertidumbre de masa en el laboratorio clínico».

de uso de la pipeta. Evitar las corrientes de aire y reducir en lo posible la duración de la ejecución de las medidas u otras condiciones que pudieran favorecer la evaporación.

5.3. Procedimiento de calibración

Cuando la pipeta es de volumen variable, seleccionar para la calibración el volumen mínimo, el volumen máximo y un volumen intermedio, y para cada uno de ellos proceder como sigue.

- A. Antes de realizar la calibración debe llevarse a cabo una inspección visual de la balanza, comprobar que esté adecuadamente calibrada y llevar a cabo su limpieza, si es oportuno.
- B. Colocar el recipiente de pesada en el plato de la balanza, pesarlo y anotar el valor de la tara (que se tendrá en cuenta para seleccionar la incertidumbre expandida correspondiente al punto de calibración de la balanza más cercano a la masa total que se mide). Realizar un ajuste a 0 de la tara.
- C. Dispensar el volumen de agua destilada correspondiente al volumen nominal de la pipeta en el recipiente y anotar el valor de la pesada.
- D. Repetir el apartado C 10 veces consecutivas.

5.4. Cálculo del error sistemático y de la incertidumbre de medida

- A. Los cálculos se realizan individualmente para cada uno de los puntos de calibración⁴.
- B. Calcular el valor medio (v_m) y la desviación típica (s_i) de cada serie de 10 medidas.
- C. Calcular el error sistemático relativo (ES_{rel}), expresado en %, restando el valor nominal (v_n) de la media obtenida para dicho volumen, y dividiendo posteriormente por el valor nominal.

$$ES_{rel} = \frac{V_{m} - V_{n}}{V_{n}} \times 100$$

D. Calcular la incertidumbre relativa combinada expandida para una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95% (*Urel*), expresada en %:

Urel = 200 ×
$$\frac{\sqrt{s_i^2 + 0.084 \times r^2 + 0.25 \times u_p^2}}{v_m}$$

- En el ANEXO-1 se detalla el origen de los términos de esta ecuación.
- E. Evaluar los resultados. La suma del valor absoluto de *ESrel* con la *Urel* debe ser inferior o igual al error máximo permitido. Estas condiciones son aplicables a todos los puntos de calibración.

5.5. Frecuencia de calibración

Se recomienda calibrar las pipetas y dispensadores cada 3 meses.

Ello debe considerarse como una aproximación, pudiendo variar en función de la frecuencia y naturaleza del uso de la pipeta o dispensador.

También deberían calibrarse siempre que exista alguna sospecha de funcionamiento incorrecto o de haber sido sometidas a algún trato inadecuado u otra situación que pueda comprometer su funcionamiento.

6. APLICACIONES

El proceso de calibración de las pipetas y dispensadores permite obtener evidencia objetiva de que, cuando se utiliza el instrumento para efectuar dispensaciones de volumen, no se cometen errores inadmisibles, esto es, superiores el error máximo permitido.

Es posible que, en el caso de las pipetas de volumen variable, se obtengan resultados insatisfactorios en alguno de los puntos de calibración (por ejemplo en el volumen de valor más bajo). Esto no cuestiona todas las mediciones que se efectuaron con anterioridad con la misma pipeta, sino tan sólo aquéllas cercanas al punto de calibración para el que se obtuvieron resultados anómalos. La pipeta puede utilizarse restringiendo su intervalo de medida o variando el error máximo permitido en función de la escala de medida.

7. BIBLIOGRAFÍA

Dybkaer R. Vocabulary for use in measurement procedures and description of reference materials inlaboratory medicine. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35:141-73.

Correspondencia: SEQC Comisión de Metrología c/ Padilla, 323 08025 Barcelona

⁴La Comisión de Metrología de la SEQC ha preparado una hoja de cálculo apropiada para estos fines y que puede ser obtenida en el sitio de la Comisión de Metrología de la web de la Sociedad.

Anexo 1 Cálculo de la incertidumbre

Las medidas realizadas con la pipeta, tienen las siguientes fuentes de incertidumbre (u):

A. Incertidumbre debida a la medida (u_i):

Los errores aleatorios de dispensación ocasionan imprecisión en las medidas. Este componente de la incertidumbre puede ser calculado a partir de la desviación típica de las medidas repetidas (s_i).

$$u_i = s_i$$

B. Incertidumbre debida a la resolución (u_r):

La resolución (r) de la pipeta ocasiona errores aleatorios de redondeo. La amplitud de la distribución de los posibles errores es igual a la resolución y, en ese intervalo, cualquier valor tiene las mismas probabilidades de producirse (distribución rectangular o uniforme). En este tipo de distribución, la desviación típica (s_r) es igual a la amplitud de la distribución dividida por la raíz cuadrada de 12.

$$u_r = s_r = \frac{r}{\sqrt{12}} = 0.29 \times r$$

(En las pipetas de volumen fijo, el valor de resolución es 0).

C. Incertidumbre debida al patrón (u_n):

Se calcula a partir de los datos que proporciona el certificado de calibración de la balanza: la incertidumbre expandida (u_p) del punto de calibración de la balanza más cercano a la masa total que se mide (incluyendo recipiente)⁵, generalmente para el 95% de confianza, y el valor del factor de cobertura empleado (habitualmente $k_p = 2$)

$$u_p = \frac{u_p}{u_p} = \frac{u_p}{2}$$

D. Otros componentes de la incertidumbre, como el ocasionado por la presión del aire y la densidad del agua, pueden ser ignorados por su escasa relevancia en las aplicaciones habituales del laboratorio clínico.

La incertidumbre combinada típica (uc) puede calcularse a partir de la suma de cuadrados de las incertidumbres de cada componente

$$u_c = \sqrt{u_i^2 + u_r^2 + u_p} = \sqrt{s_i^2 + 0.292 \times r^2 + \frac{u_p^2}{2^2}} = \sqrt{s_i^2 + 0.084 \times r^2 + 0.25 \times u_p^2}$$

y la incertidumbre combinada expandida (u_c) para el intervalo de confianza de aproximadamente el 95% resulta de multiplicar la anterior por el factor de cobertura 2.

$$u_c = 2 \times \sqrt{s_i^2 + 0.084 \times r^2 + 0.25 \times u_p^2}$$

Finalmente, la incertidumbre relativa combinada expandida (Urel) resulta de dividir la incertidumbre absoluta combinada expandida por el valor medio (v_m) medido de cada punto de calibración (volumen)⁶ y, multiplicándola por 100, se expresa en porcentaje.

Urel =
$$100 \times \frac{u_c}{v_m} = 200 \times \frac{\sqrt{s_i^2 + 0.084 \times r^2 + 0.25 \times u_p^2}}{v_m}$$

⁵En caso de disponer únicamente del valor de la incertidumbre relativa combinada expandida (*Urel*) respecto al punto de calibración de la balanza requerido, debe aplicarse la siguiente fórmula para obtener el valor de Up: $u_p = \frac{Urel}{L} \times \text{valor masa}$

⁶En esta fórmula se ha despreciado, teniendo en cuenta el tamaño habitual del EMP, la diferencia entre el volumen medido y el valor nominal.

Anexo 2 Ejemplos de resultados de calibración

SEQC	Calibración de pipe			tas	as LABORATORIO				
IDENTIFICACIÓN PIPET		Marca			dola	Rarelució		a modicián	
DATOS PATRON	Codb	ar pipotar do vo		Mara (q)	Up (4)	r	o cha calibra		
DATOS CALIBRACIÓN 1 2 3 4 5 6 7 8 9	Operario Tara modida		1 2 3 4 5 6 7 8 9	Fecha Tara modida			Tara modida	V.Naminal poranota 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000	
RESULTADOS CALIBRA	S	#¡DIV/0! #¡DIV/0! #¡DIV/0!		#¡DIV/0! #¡DIV/0!	Esrel #¡DI #¡DI	V/0!	S	EMP	



SEQC	Calibración de pipetas					LABORATORIO				
COMISIÓN DE METROLOGÍA										
IDENTIFICACIÓN PIPE	Cod	M	rca	M	odelo	Resolución	Intervale	medición		
	P-023		tasa		-345	0		mL		
				-				7.		
	Mota: Enl	as pipetas	de volume	n fijo, introd	ducir O en el s	ralor de rese	olución.			
	0.41	10000		1940.000	10.00	-		ie.		
DATOS PATRON	Cod b:			Masa (g)	Up (g) 0,0006		cha calibra 10/06/200			
	ПГ-	002		10	0,0006		iuru6r2uu	3	_	
	Mota: Foo	oger II co	rrespondi	ente a la mas	a total que s	e mide finel	mendo ne	so del recipi	(otes	
	11010. 271		T CO P O II GI	ince a ra mai	a total days	· mac jmc	yendo pe	ou del recipi		
DATOS CALIBRACIÓN	Operario [Pedro Ló	pez	Fecha	28/6/03	Pesore	cipiente	10	9	
	Tara	V.Nominal		Tara	V.Nominal		Tara	V.Nominal		
	0	1,000	9		100	g			g	
	medida	peso neto		medida	peso neto		medida	peso neto		
1	1,014	1,014			0,000			0,000		
2	2,023	1,009	· ·	2	0,000			0,000		
3	3,023	1,000		3	0,000	177		0,000	12.6%	
4	4,035	1,012		1	0,000			0,000		
5	5,050	1,015		-	0,000			0,000		
6	6,070	1,020		5	0,000	F 100 100 100 100 100 100 100 100 100 10		0,000	100	
Ţ	7,079	1,009			0,000			0,000	4000	
8	8,089	1,010	1	8	0,000	100		0,000		
9	9,090	1,001	100		0,000	100		0,000	100	
10	10,100	1,010	9 1	<u>'</u>	0,000	g 10		0,000	19	
1	v.	1,010		V_	0,000		٧.	0,000	Ì	
	s	0,00604		s	0		s	0		
		0,00004		5.00						



	Calibración de pipetas					LABORATORIO					
COMISIÓN DE HETROLOGÍA											
IDENTIFICACIÓN PIPE	Cod	Mar	co	Mo	delo	Resolución	Intervalo	medición			
	P-023	Pipet			345	0,001		,000 mL			
	× ×	117									
	Nota: Enla	s pipetas d	de volumen i	fijo, introd	ucir 0 en el v	alor de rese	olución.				
DATOS PATRON	Cod ba	lanza		Masa (g) Up (g)		Fe	cha calibrac	ión			
Control of the Contro	HP-0			10	0,0006		10/06/2003				
	Nota: Esco	qer U, corr	respondien	te a la masa	total que s	e mide fincle	uyendo pes	o del recipien			
				December 1		CONT.	A 1				
DATOS CALIBRACIÓN	Operario [Pedro Lóp	ez	Fecha	28/6/03	Pesore	cipiente	10			
	Ton 1	V Maniaul	1	Total	V Maniasi	1	Tim	V Manial			
	Tara 1	V.Nominal 0,100		Tara 0	V.Nominal 0,500		Tara	V.Nominal 1,000			
		0,100	9 [0,500	9	0	1,000			
	medida	peso neto	ſ	medida	peso neto		medida	peso neto			
1	0,100		g 1	0,499	0,499	a 1	1,002	1,002			
2	0,199		g 2	0,996	0,497	200	2,004	1,002			
3	0,298		g 3	1,492	0,496		3,006	1,002			
4	0,398	0,100	g 4	1,990	0,498	g 4	4,006	1,000			
5	0,500	0,102	g 5	2,487	0,497	g 5	5,012	1,006			
6	0,598	0,098	g 6	2,984	0,497	g 6	6,015	1,003			
7	0,698	0,100	g 7	3,486	0,502	g 7	7,015	1,000			
	0,797	0,099	g 8	3,983	0,497	g 8	8,013	0,998			
8	0.003	0,100	g 9	4,480	0,497	q 9	9,015	1,002			
9	0,897	0,100	The second second	-		100					
	0,899	0.400	g 10	4,978	0,498	200	10,016	1,001			
9						200	10,016	1,001			