



**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS
COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS
37.ª reunión**

Budapest (Hungria), 22-26 de febrero de 2016

**PROCEDIMIENTOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE
EN LOS RESULTADOS DE MEDICIÓN**

(Preparado por un Grupo de trabajo electrónico dirigido por Alemania y Nueva Zelanda)

1. Introducción

1. En su 35.ª reunión, el Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) acordó que elaboraría procedimientos para determinar la incertidumbre de los resultados de la medición que comprendan submuestras, procesamiento y análisis de muestras (REP14/MAS, párr. 86).

2. De acuerdo con la norma ISO/IEC 17025 (1), los laboratorios de ensayo deberán tener y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. Los procedimientos aquí expuestos para calcular la incertidumbre de la medición no tienen carácter prescriptivo. Deberían considerarse como ejemplos prácticos que pueden aplicarse en muchas situaciones cotidianas. La elaboración de los ejemplos no pretende ser exhaustiva y, en circunstancias especiales, tal vez sea necesario aplicar otro tipo de procedimientos. Además, los métodos tratados no son aplicables a situaciones en las que existe una normativa legal que define reglas especiales para la estimación de la incertidumbre de la medición (p. ej., la ecuación de Horwitz como parámetro empírico). Con el fin de tomar en consideración el mayor número posible de situaciones analíticas, los procedimientos se han elaborado para distintas clases de métodos de análisis. En el presente documento no se incluyen diseños experimentales de factores múltiples, mediante análisis de la varianza, ni la Propagación de distribuciones utilizando un método de Monte Carlo, aunque se facilitan referencias a bibliografía especializada (2) y (3).

3. Además de las cuestiones relativas al cálculo, en el presente documento se presentan soluciones para algunos problemas prácticos que se plantean en función de la incertidumbre en la medición:

- La verificación de la estabilidad/validez de los datos de precisión calculados.
- La verificación de la equivalencia de métodos nuevos y antiguos o estándares de analito nuevos y antiguos para la calibración teniendo en cuenta la incertidumbre de la medición.

2. Conceptos básicos

4. En la norma ISO/IEC 17025 se especifican diversos métodos para calcular la incertidumbre de la medición en los ensayos:

- Los laboratorios deberán tener y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición.
- En los casos en que la naturaleza del método de ensayo no permite realizar un cálculo riguroso, metrológico y estadísticamente válido, de la incertidumbre de la medición, el laboratorio deberá al menos tratar de determinar todos los componentes de la incertidumbre y realizar una estimación razonable.
- Las estimaciones razonables de la incertidumbre de la medición deberán basarse en el conocimiento que se tenga sobre el comportamiento del método y en el alcance de la medición y deberán tener en cuenta, por ejemplo, la experiencia y los datos de validación previos.
- Cuando se estime la incertidumbre de la medición, se deberán tener en cuenta todos los componentes de la incertidumbre que sean de importancia en la situación dada, utilizando métodos apropiados de análisis (las fuentes que contribuyen a la incertidumbre incluyen, por ejemplo, pero sin limitarse necesariamente solo a estos elementos, los patrones de referencia y los materiales de referencia utilizados, los métodos y equipos empleados, las condiciones ambientales, las propiedades y estado del elemento sometido a ensayo o calibración, y el operador).

- Para más información al respecto, véase la norma ISO 5725 y el documento *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)*.

5. En el presente documento se toman en consideración los métodos expuestos en la norma ISO/IEC 17025. Los conceptos de estimación de la incertidumbre de la medición se basan en guías recomendadas internacionalmente —JCGM 100:2008: *Evaluation of measurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, (4) EURACHEM / CITAC Guide CG 4: *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (5) y JCGM 200:2008: *International vocabulary of metrology. Basic and general concepts and associated terms (VIM)* (6)— que guardan relación entre sí.

3. Evaluación de la incertidumbre de la medición

6. La incertidumbre de la medición, que constituye un parámetro del resultado del ensayo, se basa en datos de precisión del método, tomando en consideración las etapas del análisis que pueden comprender la recogida de submuestras y el procesamiento y análisis instrumental de muestras. Los componentes de la incertidumbre se combinan con arreglo a las reglas de propagación de errores. En lo fundamental, la fuente de los datos de precisión determina las fases del análisis que deben contabilizarse en la evaluación de la incertidumbre en la medición, y N desviaciones típicas de la incertidumbre $s_{1...N}$ (o desviaciones típicas relativas; es decir, coeficientes de variación $cv_{1...N}$) de la llamada Evaluación de tipo A (un análisis estadístico de series de observaciones experimentales sobre uno o más componentes del proceso analítico) y la Evaluación de tipo B (generalmente basada en un conjunto de información comparativamente fiable) puede combinarse con la incertidumbre típica total u (o la incertidumbre típica total relativa u_{rel}) (GUM 5.1.2, 5.1.5, 5.1.6):

$$u = \sqrt{(s_1^2 + s_2^2 + \dots + s_N^2)} \quad \text{o} \quad u_{rel} = \sqrt{(cv_1^2 + cv_2^2 + \dots + cv_N^2)}^*$$

*) Las fórmulas se refieren a los mensurandos resultantes de la suma y/o la diferencia de parámetros (izquierda) o derivados del producto y/o el cociente de los parámetros (derecha). Dado que en la práctica la mayoría de los mensurandos analíticos se obtienen mediante fórmulas con productos y/o cocientes de parámetros, en el presente documento se utilizará la segunda fórmula. En aras de la simplificación, se considera que los parámetros no están correlacionados.

7. De esta manera se consigue una ventaja práctica, dado que los datos de precisión concretos obtenidos de la validación del método interno o de la validación del método entre laboratorios (después de demostrarse su idoneidad para el respectivo laboratorio de ensayos mediante la verificación de estos datos de precisión) pueden utilizarse de forma combinada. Los siguientes procedimientos están ordenados de acuerdo con la clase específica del método analítico.

3.1 Métodos normalizados

8. Para los métodos normalizados, la ventaja consiste en la validación adecuada, incluidos los datos de precisión. En general, estos datos se basan en una validación exhaustiva del método entre laboratorios, realizada en la mayoría de los casos con arreglo a la norma ISO 5725 1-6 (7). Uno de los supuestos básicos que subyacen a la norma ISO 5725-1 (8) es que, para un método de medición estándar, la repetibilidad será, al menos aproximadamente, la misma para todos los laboratorios que apliquen el procedimiento normalizado, de manera que resulte admisible establecer una desviación típica de la repetibilidad media común s_r que será aplicable a cualquier laboratorio. No obstante, los laboratorios, mediante la realización de una serie de mediciones en condiciones de repetibilidad, deberían verificar que la desviación típica de la repetibilidad media sea aplicable en determinadas condiciones (ISO 5725-6). La desviación típica de la reproducibilidad s_R del método estándar se obtiene combinando s_r con la desviación estándar entre laboratorios s_L (ISO 5725-2) (9).

3.1.1 Métodos normalizados empíricos

9. Los métodos empíricos logran la comparabilidad entre laboratorios que miden el mismo material sin intención de obtener una medida absoluta de la verdadera cantidad de analito presente. Por convención, no se tienen en cuenta las correcciones para el sesgo del método o el efecto matriz. En los casos en que para un método empírico se disponga de datos de ensayos en colaboración, se debería evaluar al menos la repetibilidad interna y demostrar que es comparable a la s_r pronosticada mediante el ensayo en colaboración y documentada en el método; es decir, la desviación típica de la repetibilidad del laboratorio concreto debería ser inferior o igual a s_r (EURACHEM Example A6). A priori, no debe tomarse en consideración ninguna contribución del sesgo y, por consiguiente, es adecuado utilizar los valores de la desviación típica de la reproducibilidad relativa (es decir, el coeficiente de variación) cv_R —obtenidos del ensayo en colaboración o la publicación del método— como incertidumbre típica relativa u_{rel} en un intervalo adecuado de niveles de analito (EURACHEM 7.6.3).

10. En la mayoría de los casos, los ensayos en colaboración que proporcionan material homogéneo no abarcan las etapas de preparación (p. ej., trituración y desecación) y, por consiguiente, la contribución de la incertidumbre de esa parte analítica deberá tomarse en consideración de forma adicional (EURACHEM 7.6.1), siempre y cuando la contribución sea significativa (es decir, $>1/3 cv_R$ (EURACHEM 7.2.2)).

11. Contribución de la preparación en términos de incertidumbre: Una submuestra del lote debería dividirse en tantas partes como resulte práctico (por lo menos 10 partes, para conseguir suficiente poder estadístico). Cada parte debería prepararse por separado (p. ej., la trituración y la desecación), y la preparación debería analizarse en condiciones analíticas idénticas (es decir, durante un período breve y utilizando la misma calibración) para obtener la desviación típica relativa de la preparación cv_P . La incertidumbre típica relativa de la medición u_{rel} se determina mediante la ecuación:

$$u_{rel} = \sqrt{(cv_R^2 + cv_P^2)}$$

12. Los ensayos en colaboración proporcionan material homogeneizado y, en caso de que la muestra de laboratorio presente una heterogeneidad significativa, deberá tomarse en consideración la contribución de la incertidumbre de las submuestras. La significación podría evaluarse mediante la utilización de una verificación de la homogeneidad tal como se expone en el Anexo B de la norma ISO 13528 (10), a través de la comparación de la desviación típica relativa entre submuestras cv_{Ss} con la desviación típica relativa para la evaluación de la aptitud cv_G (σ se emplea para el cálculo de las puntuaciones z) del método normalizado. La muestra puede considerarse adecuadamente homogénea si $cv_s \leq 0,3 cv_G$.

13. La desviación típica s_s entre las submuestras puede calcularse mediante el procedimiento especificado en el Anexo B1 de la norma ISO 13528, y utilizando la fórmula que figura en el Anexo B3 de la misma norma:

14. Seleccionar de forma aleatoria un número g de las submuestras procedentes de la muestra del laboratorio, siendo $g \geq 10$.

- Preparar dos porciones de ensayo a partir de cada submuestra utilizando técnicas adecuadas para el material del ensayo a fin de minimizar las diferencias entre las porciones de muestra.
- Tomando las porciones de muestra de 2 g en un orden aleatorio, obtener un resultado de medición en cada una y completar la serie completa de mediciones en condiciones de repetibilidad.
- Calcular la media general \bar{x} , la desviación típica dentro de las submuestras s_w , y entre las submuestras s_s , para obtener la desviación típica relativa de heterogeneidad de la muestra $cv_{Ss} = s_s / \bar{x}$

15. La incertidumbre típica relativa de la medición u_{rel} se determina mediante la ecuación:

$$u_{rel} = \sqrt{(cv_R^2 + cv_{Ss}^2)}$$

16. En las fórmulas para calcular el resultado analítico, la influencia de las diferencias en el submuestreo debido a la heterogeneidad y a la variabilidad de la preparación puede aplicarse como factores dispersos en torno al 1 (EURACHEM A4.3).

3.1.2 Métodos normalizados no empíricos

17. En los métodos normalizados no empíricos (racionales), la veracidad es una cuestión que debe tomarse en consideración al calcular la incertidumbre de la medición. El procedimiento actual se aplica a situaciones en las que no se toma en consideración ningún sesgo. Pero esta hipótesis deberá demostrarse mediante experimentos de recuperación adecuados. Contrariamente a lo que ocurre con los métodos empíricos, muchos métodos normalizados racionales se sirven de materiales de referencia certificados. Como alternativa, se puede añadir a las muestras un nivel determinado del analito, tomando en consideración el distinto comportamiento de la sustancia añadida y la contraparte nativa.

18. En una primera fase, la incertidumbre típica u (multiplicando u_{rel} con la concentración del analito) debería calcularse de acuerdo con el procedimiento expuesto en el apartado 3.1.1. El sesgo b de los experimentos de recuperación se compara con esa incertidumbre y puede ignorarse en el caso de que $b \ll u$. De lo contrario, el sesgo es significativo (EURACHEM 7.15).

19. En caso de que el ensayo en colaboración no cubra los efectos de distintas matrices y la matriz pueda tener repercusiones en el resultado analítico, también deberá tomarse en consideración la correspondiente contribución de la incertidumbre. En principio, la contribución de la incertidumbre de la matriz podría calcularse mediante el mismo método empleado para evaluar la contribución de la incertidumbre de la heterogeneidad de la muestra de laboratorio, con arreglo a la norma ISO 13528, Anexo B3.

20. En este caso, deberían aplicarse experimentos de recuperación (p. ej., la adición de muestras) en muestras obtenidas de distintas matrices (preferiblemente matrices que no contengan el analito).

21. Seleccionar un número g de matrices (el mayor número posible desde una perspectiva práctica), siendo $g \geq 10$.

- Preparar dos porciones de ensayo de cada una de las matrices g utilizando técnicas adecuadas para el material del ensayo a fin de reducir al mínimo las diferencias entre las porciones de ensayo.
- Obtener un resultado de medición en cada una, completando todas las series de mediciones en condiciones de repetibilidad.
- Calcular la media general \bar{x} , la desviación típica intramatricial s_{w_i} , y la desviación típica intermatricial s_M , para obtener la desviación típica relativa de la heterogeneidad de la muestra $cv_M = s_M / \bar{x}$

22. La incertidumbre típica relativa de la medición u_{rel} se determina mediante la ecuación:

$$u_{rel} = \sqrt{(cv_R^2 + cv_M^2)}$$

23. En caso de que todas las contribuciones de cv_P , cv_S y cv_M sean significativas (es decir, mayores que un tercio del cv máximo), la incertidumbre típica relativa de la medición u_{rel} constituirá la combinación de las cuatro contribuciones, si procede:

$$u_{rel} = \sqrt{(cv_R^2 + cv_P^2 + cv_S^2 + cv_M^2)}$$

24. Cuando el sesgo sea significativo en comparación con la incertidumbre combinada, el resultado analítico podría corregirse para el sesgo, teniendo debidamente en cuenta la incertidumbre de la corrección o el sesgo observado, y juntamente con el resultado podría notificarse su incertidumbre. En caso de corrección, la incertidumbre relativa del sesgo cv_B debe calcularse por experimentos de recuperación y combinarse con las demás contribuciones de la incertidumbre si procede (ejemplo A4 de EURACHEM):

$$u_{rel} = \sqrt{(cv_R^2 + cv_P^2 + cv_S^2 + cv_M^2 + cv_B^2)}$$

25. Nota: Debería evitarse el efecto de sesgo (no es la incertidumbre del sesgo) mediante la ampliación de la "incertidumbre" asignada al resultado en lugar de corregir el sesgo. La evaluación de la incertidumbre del resultado de una medición no debe confundirse con asignar un límite de inocuidad a una determinada cantidad (*Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, 6.3.1).

3.2 Métodos internos

26. Contrariamente a lo que ocurre con los métodos normalizados, en el caso de los métodos internos no se dispone de datos de precisión normalizados publicados. Por consiguiente, estos métodos están sujetos a procedimientos de validación ampliados. A pesar del carácter especial de las situaciones, la validación proporciona datos de precisión. No obstante, en el caso de que el método interno consista en una modificación de un método normalizado correspondiente, la estimación de la precisión debería centrarse en las contribuciones de la incertidumbre de esa modificación. Las contribuciones de la incertidumbre deberían compararse con los valores de la desviación típica de la reproducibilidad relativa (es decir, el coeficiente de variación) cv_R obtenidos del ensayo en colaboración o la publicación del método normalizado. En caso de que la contribución de las modificaciones de la incertidumbre sea insignificante, es adecuado utilizar cv_R como incertidumbre típica relativa u_{rel} y aplicar lo dispuesto en los procedimientos del apartado 3.1.

27. Hay dos métodos generales (tipo A y tipo B) para calcular la precisión de reproducibilidad cv_R :

- Tipo A: La combinación de la precisión de repetibilidad de todas las etapas del análisis (p. ej., el pesaje, el secado, la extracción, la dilución y la medición analítica) con las calibraciones asociadas y otras fuentes de incertidumbre (p. ej., la pureza de los patrones de referencia o la experiencia del personal que interviene en el ensayo).
- Tipo B: En la medida de lo posible, la precisión de la reproducibilidad se calcula durante un amplio período de tiempo para permitir la variación natural de todos los factores de impacto.

28. En la práctica, suele ser necesario y conveniente combinar ambos tipos.

3.2.1 Métodos internos establecidos

3.2.1.1 Estimación de tipo A:

29. Los componentes de incertidumbre asociados con las posibles fuentes de incertidumbre se determinan, se cuantifican como desviaciones típicas y se combinan de acuerdo con las normas apropiadas, con el fin de obtener una incertidumbre típica combinada. Las fuentes son, por ejemplo:

- Las sustancias normalizadas (incertidumbre o pureza certificada).

- La variabilidad física o química (extracción, derivación y estequiometría).
- La aplicación de dispositivos de medición para la preparación de las muestras de ensayo (balanzas, pipetas, termómetros, etc.).
- La aplicación de instrumentos de análisis (estabilidad, calibración, contaminación, etc.).
- Las diferencias en la experiencia del personal que interviene en el ensayo.

30. El procedimiento empieza con la reflexión crítica sobre la fórmula del mensurando; es decir, la relación entre el resultado y los valores introducidos. Debe verificarse la relevancia de la incertidumbre en todos los parámetros. Así, por ejemplo, la incertidumbre de la preparación de la muestra se separa en los distintos pasos (el pesaje, la homogeneización, el secado, la extracción, la dilución, etc.), que deben combinarse, p. ej.:

$$CV_P = \sqrt{CV_{\text{pesaje}}^2 + CV_{\text{hom}}^2 + CV_{\text{sec}}^2 + CV_{\text{extr}}^2 + CV_{\text{dil}}^2}$$

31. La incertidumbre del propio pesaje, por ejemplo, se calcula a partir de las contribuciones por separado de la calibración y la rastreabilidad (incluida la incertidumbre certificada de los pesos) y la incertidumbre de la lectura (analógica/pantalla digital):

$$S_{\text{peso}} = \sqrt{S_{\text{cal}}^2 + S_{\text{lectura}}^2}$$

32. Obviamente, la estimación de tipo A es un tema demasiado complejo para que se pueda describir detalladamente en el presente documento. Para más información al respecto, conviene remitirse a JCGM 100:2008: *Evaluation of measurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*; y EURACHEM / CITAC *Guide CG 4: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*.

3.2.1.2 Estimación de tipo B

33. Este tipo de estimación debería realizarse en la mayor medida posible en condiciones de reproducibilidad que permitan la variación natural de todos los factores de impacto. En lo fundamental, estas condiciones deberían reunir todos los componentes de la hipótesis (submuestras, matrices, preparación y análisis) aunque para un poder estadístico suficiente, lo que exigiría realizar un número muy elevado de experimentos. Por consiguiente, se recomienda empezar en una situación que sea similar a la de la participación en ensayos de colaboración (material homogeneizado y seco de una matriz concreta) y aplicar los componentes adicionales.

34. Con este fin, en la estimación interna de precisión de la reproducibilidad CV_R se deberían tomar en consideración todas las partes del análisis que intervendrían en el caso de que se efectuara una correspondiente validación entre laboratorios de un método normalizado. Estas partes incluyen como mínimo los procedimientos de extracción, derivación y digestión (variación de la recuperación) y el proceso completo de medición, incluida la calibración y la rastreabilidad.

35. Una muestra de ensayo que contenga una cantidad adecuada de analito (p. ej., homogeneizado y secado para la estabilidad) podría analizarse varias veces a lo largo de un período de tiempo, utilizando en la medida de lo posible distintos analistas y equipos (p. ej. los resultados de mediciones sobre muestras de control de la calidad) verificando de esta manera las condiciones de reproducibilidad (EURACHEM 7.7.2).

36. La desviación típica de la reproducibilidad relativa estimada mediante la utilización de los siguientes procedimientos es comparable a la correspondiente a un ensayo en colaboración, que no abarque los efectos de la preparación de la muestra, el uso de matrices distintas y las submuestras. A fin de tomar en consideración los componentes de incertidumbre, estos deberían combinarse con CV_R tal como se especifica en los procedimientos expuestos en el apartado 3.1.

37. Para la determinación y la estimación de la incertidumbre del sesgo, deben aplicarse los métodos descritos en el procedimiento del apartado 3.1.2.

38. En el caso de que la incertidumbre pueda depender de los niveles de analito, los experimentos de precisión se tendrán que llevar a cabo en distintos niveles, con arreglo a la norma ISO/IEC 17025, incluido el nivel que sea pertinente para la evaluación de la conformidad. La significación de la influencia podría verificarse mediante la prueba F o el test de Cochran para determinar la homogeneidad de las varianzas en distintos niveles.

39. Finalmente, debería tomarse en consideración la incertidumbre de los patrones de calibración o de los materiales de referencia (rastreadabilidad), aunque en una mayoría de los casos esta contribución de la incertidumbre sea insignificante.

3.2.1.2.1 El método de la norma ISO 5725-3

40. Un enfoque adecuado compatible con la norma podría consistir en aplicar en la máxima medida posible el procedimiento indicado en la norma ISO 5725-2, en el que la desviación típica de reproducibilidad s_R de validación de un método entre laboratorios se obtiene mediante la combinación de la desviación típica de la repetibilidad media s_r de todos los laboratorios con la desviación típica entre laboratorios s_L . Este enfoque de estudio entre laboratorios también se aplica en la norma ISO 16140 (11) para la validación de métodos microbiológicos.

41. De acuerdo con la norma ISO 5725-3 (12), la precisión estimada en un laboratorio es la denominada medición de la precisión intermedia, que es menor que la desviación típica de reproducibilidad basada en la validación del método entre laboratorios y por consiguiente es más práctica para el laboratorio individual.

42. Una muestra de ensayo estándar (homogeneizada y seca) se analiza durante un período de n días distintos por diferentes analistas (con una nueva extracción/digestión y recalibración). Los distintos días con diferentes condiciones analíticas simulan las situaciones en los distintos laboratorios. Cada día, un número de réplicas k del extracto o residuo de digestión microbiana se mide con los resultados $x_{j=1\dots k}$ en condiciones de repetibilidad (medición dentro de un plazo breve de tiempo, con instrumentos y calibración idénticos utilizados por el mismo operador) y se calculan los siguientes parámetros:

- Cada día i : A partir de los resultados replicados $x_{j=1\dots k}$ se calcula el valor medio \bar{x}_i y la desviación típica de la repetibilidad (desvtip) $s_{r,i}$.

$$\bar{x}_i = 1/k \sum x_{j=1\dots k}$$

$$s_{r,i} = \text{desvtip} (x_{j=1\dots k})$$

- A partir de las desviaciones típicas de la repetibilidad durante los distintos días $s_{r,i=1\dots n}$, se calcula la desviación típica de la repetibilidad media $s_{r,media}$.

$$s_{r,media} = \sqrt{1/n \sum s_{r,i=1\dots n}^2}$$

- Se calcula la desviación típica entre laboratorios s_L de los valores medios $\bar{x}_{i=1\dots n}$ correspondientes a los distintos días.

$$s_L = \text{desvtip} (\bar{x}_{i=1\dots n})$$

Finalmente, de acuerdo con la norma ISO 5725-2, la desviación típica de la reproducibilidad se determina mediante:

$$s_R = \sqrt{(s_{r,media}^2 + s_L^2)}$$

La desviación típica de la reproducibilidad relativa (el coeficiente de variación) viene determinada por:

$$cv_R = s_R/X,$$

donde X es el valor medio total de los valores medios de todos los días $\bar{x}_{i=1\dots n}$

$$X = 1/n \sum \bar{x}_{i=1\dots n}$$

3.2.1.2.2. El método de duplicación de ensayos

43. Como alternativa al método anteriormente mencionado de la norma ISO 5725-3, la variación interserial general (la desviación típica de reproducibilidad) puede calcularse con un número n de ensayos duplicados (muestras homogeneizadas, cada una dividida en dos muestras de ensayo, que se someten a un procedimiento completo de extracción, digestión y determinación incluida la recalibración) (EURACHEM 7.7.2 y A4.4).

- Para cada ensayo duplicado i , las diferencias relativas $\square_{rel\ i}$ de los dos resultados concretos $x_{1\ i}$ y $x_{2\ i}$ (la diferencia \square_i dividida por la media \bar{x}_i) y la desviación típica (desvtip) de las diferencias relativas $s_{\delta\ i}$ se calculan así:

$$\delta_i = x_{1\ i} - x_{2\ i}$$

$$\delta_{\square\square\ i} = \delta_i / \bar{x}_i \quad \text{siendo} \quad \bar{x}_i = (x_{1\ i} + x_{2\ i})/2$$

$$s_{\delta\ rel} = desvtip(\delta_{rel\ i=1\dots n})$$

- Esta desviación típica se divide entre $\sqrt{2}$ para corregir una desviación típica para diferencias entre pares con respecto a la incertidumbre típica para los valores únicos, lo que permite obtener la incertidumbre típica relativa:

$$cv_R = s_{\delta\ rel} \frac{100\%}{\sqrt{2}}$$

3.2.2 Métodos especiales

44. En la mayoría de los casos, los métodos especiales se basan en procedimientos internos normalizados o consolidados. Estos métodos se amplían de forma significativa (p. ej., a otros análisis o matrices) y generalmente no exigen una revalidación completa, pero resulta muy recomendable aplicar el procedimiento descrito en el primer párrafo del apartado 3.2. Con el fin de obtener un poder estadístico aceptable, debe replicarse el ensayo (incluidas todas las partes pertinentes del método) el mayor número de ocasiones que resulte posible desde un punto de vista práctico. La comparación de la desviación típica relativa resultante con la incertidumbre típica relativa del método básico proporciona información acerca de la equivalencia en la precisión del método especial. En caso necesario, debería notificarse la incertidumbre del método básico.

45. Los métodos especiales totalmente nuevos quedan fuera del ámbito de aplicación de las directrices básicas utilizadas en el presente documento.

4. Estimación de la incertidumbre ampliada de la medición

46. La incertidumbre típica relativa combinada de la medición u_{rel} , que se ha obtenido mediante la aplicación de los procedimientos descritos anteriormente, constituye la base de la incertidumbre ampliada de la medición U . Se obtiene multiplicando la incertidumbre típica de la medición por un factor de cobertura k . El intervalo expresado por el resultado $X \pm U$ abarca una fracción amplia de la distribución de valores, lo que podría atribuirse razonablemente al mensurando.

47. Para el nivel de confianza exigido (normalmente, el 95 %) se recomienda establecer $k=2$ en la mayoría de las ocasiones. No obstante, en el caso de que la incertidumbre combinada se base únicamente en unas pocas observaciones (por debajo de siete aproximadamente; es decir, menos de seis grados de libertad ν), k debería ser equivalente al valor bilateral del factor t de Student (cabe señalar que el límite de confianza unilateral del 95 % es equivalente al límite de confianza bilateral del 90 %) para el denominado número efectivo de grados de libertad asociados, incluida una contribución de bajo poder estadístico. Los detalles se especifican en el Anexo G.4.1. del documento *Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*.

5. Métodos para la verificación diaria de la aceptabilidad de los resultados de ensayos con respecto a la incertidumbre de la medición

48. Los métodos de verificación descritos en este apartado se basan en un nivel de probabilidad del 95 % y deberían aplicarse únicamente en caso de que s_R y s_r sean conocidos. Por el contrario, estos métodos constituyen un medio adecuado para comprobar la estabilidad y validez de los datos de precisión estimados. En la medida de lo posible, deberían combinarse los métodos (ISO 5725-6).

- Realización de ensayos por duplicado en condiciones de repetibilidad: La diferencia absoluta entre los dos resultados de los ensayos debería ser equivalente o inferior al límite de repetibilidad $r = 2,8 s_r$.
- Realización de ensayos por duplicado en condiciones de reproducibilidad: La diferencia absoluta entre los dos resultados del ensayo debería ser igual o inferior al límite de reproducibilidad $R = 2,8 s_R$.
- Utilización de muestras de control de calidad (muestras de ensayo típicas que contienen una cantidad adecuada de analito, homogeneizado y secado para la estabilidad, o material de referencia certificado [MRC]): El resultado debería estar en consonancia con el valor medio $\pm 2s_R$. A fin de determinar posibles tendencias, resulta muy recomendable la utilización de gráficos de control.

49. Teniendo en cuenta el nivel de probabilidad del 95 % (posiblemente en uno de cada veinte experimentos no se cumplirán las expectativas), los resultados de ensayo no conformes deben considerarse sospechosos y, por consiguiente, debería investigarse la causa de esta anomalía.

6. Método para comprobar la equivalencia de métodos nuevos/antiguos o estándares nuevos/antiguos de analitos para la calibración teniendo en cuenta la incertidumbre de la medición (13)

50. Un ensayo estadístico denominado contraste estadístico de dos ensayos *t* unilaterales (TOST) parte de la hipótesis nula contraria; es decir, que los dos valores medios de los métodos en cuestión no son equivalentes. Por tanto, un contraste de significación positivo demuestra que, a un determinado nivel de confianza, los dos conjuntos de datos son equivalentes (las concentraciones nominales de las soluciones estándar nuevas/antiguas o los resultados de los métodos nuevos/antiguos en la misma solución estándar no son significativamente distintos). El ensayo TOST exige la especificación de un parámetro denominado criterio de aceptación, θ (por ejemplo, el 10 %), que representa la diferencia más pequeña en los valores medios de ambos métodos considerada importante desde el punto de vista práctico.

51. El intervalo de confianza (*CI*) respecto a la diferencia en los promedios a un determinado nivel de confianza (normalmente del 95 %) se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$CI = X_{nuevo} - X_{antiguo} \pm t_{90,(n_1+n_2-2)} \sqrt{(s_p^2(1/n_1 + 1/n_2))}$$

52. Donde X_{nuevo} y $X_{antiguo}$ son los valores medios de las concentraciones nominales de las soluciones estándar nuevas/antiguas o los resultados de los métodos nuevos/antiguos en el mismo material de ensayo respectivamente, $t_{90,(n_1+n_2-2)}$ es el valor *t* con un nivel de confianza del 90 % (cabe señalar que el límite de confianza unilateral del 95 % es equivalente al límite de confianza bilateral del 90 %) con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad, s_p es la estimación para la desviación típica en condiciones de repetibilidad (comparación de soluciones utilizando la misma calibración) o reproducibilidad (comparación de métodos aplicando todas las fases del análisis) y n_1 y n_2 son los números de los experimentos nuevos/antiguos.

53. Si *CI* queda completamente comprendido en el rango definido por $\pm\theta$, las concentraciones nominales de las soluciones estándar o los métodos nuevos y antiguos se consideran equivalentes.

7. Bibliografía de referencia

- (1) ISO/IEC 17025:2005: General Requirements for the Competence of Testing and Calibration laboratories.
- (2) Ramsey, M. H. y Ellison, S. L. R. (editores): Eurachem/EUROLAB/ CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches Eurachem (2007).
- (3) Evaluation of measurement data. Suplemento 1 al documento "Guide to the expression of uncertainty in measurement". Propagation of distributions using a Monte Carlo method, JCGM 101:2008.
- (4) Evaluation of measurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM), JCGM 100:2008.
- (5) Ellison, S. L. R. y Williams, A. (editores). Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Tercera edición (2012).
- (6) International vocabulary of metrology. Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2008.
- (7) ISO 5725-6:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 6: Use in practice of accuracy values.
- (8) ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1: General principles and definitions.
- (9) ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.
- (10) ISO STANDARD 13528:2005 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
- (11) ISO 16140:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Protocol for the validation of alternative methods.
- (12) ISO 5725-3:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 3: Intermediate measures of the precision of a standard measurement method.
- (13) Documento de trabajo del comité húngaro del CCMAS.