

Sección Única

*Este artículo fue publicado en el número 27-2003, páginas 34 a 40.
Siguiendo la línea de la página Web del INSHT se incluirán los textos íntegros de los artículos
prescindiendo de imágenes y gráficos no significativos.*

Ampliación del Programa Interlaboratorios de Control de Calidad de Fibras de Amianto (PICC-FA). Protocolo estadístico para el recuento de fibras de amianto en bajas concentraciones

M^a Carmen Arroyo Buezo

J.M^a Rojo Aparicio

*Centro Nacional de Verificación de Maquinaria. Vizcaya. INSHT
evaluacalidad@mtas.es*

1. Introducción

La determinación de fibras de amianto en aire consiste en hacer pasar un volumen de aire a través de un filtro donde quedan retenidas las fibras y calcular su número por recuento, según se describe en el "Método de toma de muestras y análisis para la determinación de fibras de amianto en aire - Método del filtro de membrana/microscopia óptica" (MTA/MA-010/A87). Tal como se indica en este método, las dos principales causas de error en los resultados, que deben ser controladas, son la distribución de fibras en el filtro y la subjetividad de los recuentos.

La distribución de fibras en el filtro se ajusta a una distribución estadística de Poisson, lo que implica que el error del recuento de fibras aumenta cuando el número de fibras contadas disminuye. Para obtener un resultado fiable deben contarse cierto número de fibras y la toma de muestra debe condicionarse a esta exigencia analítica. Cuando el resultado del análisis indica que la densidad de fibras en la muestra es inferior a la mínima aceptable, se recomienda tomar nuevas muestras de mayor duración y mayor volumen de muestreo.

La calidad de los resultados analíticos de los laboratorios especializados para estas determinaciones, se evalúa y controla a través del Programa Interlaboratorios de Control de Calidad de Fibras de Amianto (PICC-FA) del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Este programa tiene como objetivo reducir la variabilidad asociada al factor subjetivo de los recuentos y utiliza como muestras de control, preparaciones permanentes de filtros de membrana con fibras de amianto a diferentes concentraciones ($\approx 70\text{-}500$ fibras/mm²), que corresponden a un intervalo óptimo de

densidad de fibras en filtro, donde la variación de Poisson es mínima. De esta forma, el programa pretende ajustarse a los requerimientos del método y que las muestras sean representativas de las muestras habituales de los laboratorios.

Sin embargo, cada vez con más frecuencia, los laboratorios se encuentran en sus análisis de rutina con muestras cuya densidad se encuentra por debajo de las densidades mínimas de las muestras del P ICC-FA, e incluso por debajo de las indicadas en el método, no siendo posible modificar las condiciones de la toma de muestra. Esto es debido a los cambios habidos en los tipos de exposición a amianto, ya que una parte importante de las evaluaciones actuales provienen de trabajos de corta duración, como puede ser el caso de las exposiciones a amianto en trabajos de mantenimiento, o de medidas ambientales donde las concentraciones de fibras son muy bajas. En estas circunstancias el incremento del tiempo de muestreo o no es posible o no resulta eficaz para incrementar la densidad de fibras hasta los valores requeridos. Los resultados de los recuentos de fibras en muestras de baja densidad son difíciles de interpretar y no puede asegurarse su validez si no se dispone de datos que cuantifiquen la variabilidad aplicable a los mismos.

Conscientes de esta situación, y teniendo en cuenta que uno de los propósitos del P ICC-FA es utilizar muestras de control que sean representativas de las muestras de rutina de los laboratorios, se ha venido trabajando desde hace algún tiempo para generar muestras de bajas densidades que pudieran emplearse con fines de control de calidad. El siguiente paso consistió en organizar una prueba interlaboratorios con el fin de obtener datos que permitieran establecer el tratamiento estadístico más adecuado para las mismas. Los datos obtenidos y el análisis y las conclusiones de esta prueba se presentan en este artículo.

2. Descripción de la prueba

La prueba interlaboratorios se planificó con el fin de estudiar la posibilidad de incluir muestras de bajas concentraciones en el P ICC-FA y diseñar el protocolo estadístico adecuado. Las muestras empleadas en la prueba son iguales a las empleadas en la rutina del programa, es decir, preparaciones permanentes para microscopía de filtros de membrana con fibras de amianto en diferentes concentraciones, con la diferencia de que las concentraciones estimadas en las mismas es inferior a 64 fibras/mm^2 . Esta concentración de fibras en filtro corresponde aproximadamente a un recuento de 50 fibras en 100 campos. Para más de 50 fibras contadas, se estima que la variación de Poisson se mantiene prácticamente constante por lo que se considera que este valor es el que delimita las muestras de baja concentración. Los filtros preparados provienen de muestras reales y de muestras producidas artificialmente mediante un generador de aerosoles utilizado desde hace tiempo en la rutina del P ICC-FA. Se preparó una serie de 16 muestras que se distribuyeron en lotes de 4 preparaciones cada uno para su circulación entre los participantes. La calidad de las preparaciones seleccionadas fue ensayada previamente en recuentos intra e interlaboratorios con los que también se determinó el valor de contraste asignado a las mismas.

Para participar en la prueba se seleccionó un grupo de 16 laboratorios con experiencia en el recuento de fibras y clasificados satisfactorios en el P ICC-FA. Un laboratorio declinó su participación y otro tuvo que darse de baja en el transcurso de la circulación por lo que no pudo completar el análisis de todas las muestras.

Las muestras se circularon entre los participantes utilizándose el sistema habitual del PICC-FA. Los laboratorios recibieron un lote de muestras con una periodicidad trimestral de acuerdo con un calendario previamente establecido. La circulación se inició en Noviembre de 2000 y concluyó en Diciembre de 2001.

3. Resultados y discusión

La representación gráfica de los resultados suministrados por los laboratorios se recoge en la Figura 1 y el resumen estadístico de cada muestra se presenta en la Tabla 1. Las cajas de la Figura 1 representan los resultados por muestra, correspondiendo los bordes de cada caja a los percentiles 25 y 75 y la línea interna a la mediana. Los puntos marcados con asterisco (*) indican los valores anómalos y los puntos marcados con un círculo (o) son resultados dudosos. En la Tabla 1 se muestran los valores de la media, desviación estándar y coeficiente de variación resultantes después de eliminados los valores anómalos. La muestra 1.05 se anula a efectos del posterior tratamiento estadístico, ya que el valor medio resultante de 78 fibras/mm² es superior al esperado (< 64 fibras/mm²) y por tanto no puede considerarse muestra de baja concentración. El coeficiente de variación para esta muestra es el más pequeño de la serie (23%), del mismo orden de magnitud que los obtenidos en las muestras habituales del PICC-FA mientras que para el resto de las muestras se observan coeficientes de variación marcadamente superiores como era de esperar.

Figura 1
Representación gráfica de los resultados de los laboratorios según valor diana. No se ha incluido la muestra con un valor diana superior a 64 fibras/mm²

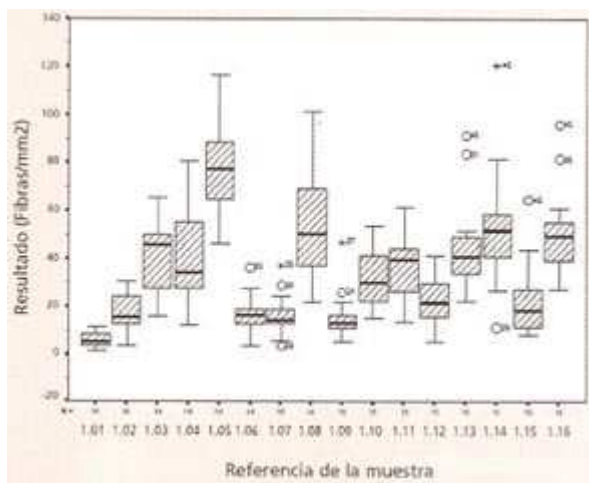


Tabla 1
Resumen estadístico de las preparaciones de amianto de baja concentración

MUESTRAS DE BAJA CONCENTRACIÓN (fibras/mm ²)					
Referencia	Casos	Valor de Contraste	Media	Desviación Típica	CV (%)
1.01	14	8	5,8	3,2	55
1.02	14	12	17,2	8,3	48

1.03	14	32,5	40,8	14,7	36
1.04	14	38,5	40,1	18,6	46
1.05	14	59	78	18	23
1.06	14	10	17	7,8	46
1.07	12	10,5	14,6	7,1	49
1.08	14	50,5	55,1	24,3	44
1.09	14	7	13,5	5,3	40
1.10	15	28	31	11,7	38
1.11	15	16,5	36,4	13,3	37
1.12	15	38	22,8	10,4	46
1.13	15	45	44,9	19,4	43
1.14	14	14	47,4	17,5	37
1.15	15	20	22,3	15,3	68
1.16	15	40	50,9	17,9	35

1. Análisis estadístico de los datos

En primer lugar se verificó la probabilidad del ajuste de los datos a una distribución estadística. A este respecto se conoce que en programas similares al PICC-FA de otros países europeos (UK, Bélgica), han encontrado que los resultados de los recuentos en las muestras de bajas concentraciones no se ajustan a distribuciones normales, y que es necesario transformar dichos resultados en su raíz cuadrada para obtener la variable transformada que permite dicho ajuste.

Para confirmar o rechazar este punto y determinar la distribución estadística más probable o la transformación más adecuada, se han realizado varias tentativas comenzando por analizar los resultados de los recuentos sin hacer ninguna transformación de los mismos. Para ello, como es habitual cuando las muestras no son de la misma concentración, se han dividido los resultados individuales proporcionados por los laboratorios por su correspondiente media por muestra (eliminados los anómalos). De esta forma se obtienen los valores normalizados (VN) que se pueden estudiar como un único conjunto. La distribución de los valores normalizados respecto de la media se representan en la Figura 2.

La prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a estos valores normalizados indica que la hipótesis de ajuste a una distribución normal debe ser rechazada para un nivel de confianza del 95% (Significación asintótica $< 0,05$) (ver Tabla 2, columna VNMED). En consecuencia, se procedió a transformar los resultados de los recuentos (x_i) mediante las operaciones matemáticas:

$$(x_i \text{ y } \text{Ln}x_i)^{1/2}$$

Figura 2
Representación gráfica de los conjuntos de valores normalizados respecto de la media de cada muestra

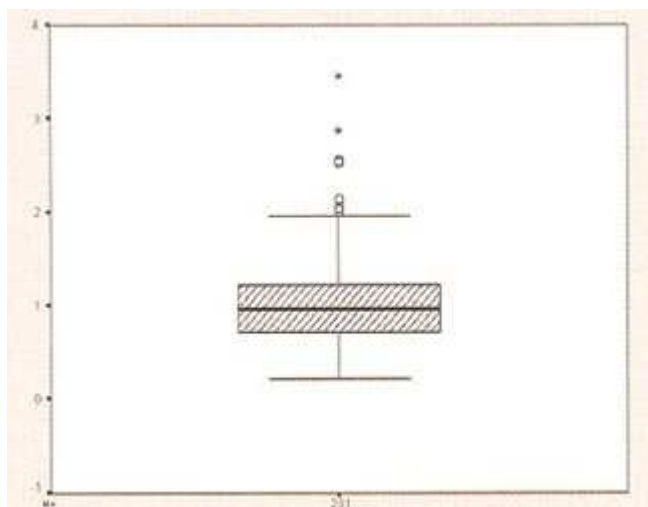


Tabla 2
Prueba de normalidad no paramétrica para distribuciones de resultados

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra				
		VNMED	VN_LN	VN_SQR
N		231	231	231
Parámetros normales a.b	Media	1,0240	,9959	1,0059
	Desviación típica	,4762	,1721	,2287
Diferencias más extremas	Absoluta	,094	,102	,055
	Positiva	,094	,071	,055
	Negativa	-,054	-,102	-,045
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,426	1,550	,834
Sig. asintót. (bilateral)		,034	,016	,491

De la misma forma, los resultados transformados de cada muestra se normalizaron respecto de su propia media, obteniéndose las distribuciones de valores normalizados (VN_SQR y VN_LN). La prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada a estas distribuciones (Tabla 2) indica que el conjunto de los datos VN_SQR es el único que se ajusta a una distribución normal (Significación asintótica > 0,05). Estos resultados coinciden con lo anteriormente mencionado referente a las conclusiones de los programas de otros países, por lo que en nuestro caso se confirma también que los resultados de los recuentos de fibras en las muestras de bajas concentraciones no se ajustan a una distribución normal, siendo necesario para lograr este ajuste trabajar con la raíz cuadrada de los resultados: $(x_i)^{1/2}$

Esto significa que no sería adecuado aplicar a las muestras de baja densidad el mismo protocolo estadístico utilizado hasta ahora en el PICC-FA para el cálculo de los valores diana y límites de control, que fue establecido para muestras en el intervalo normal de concentraciones ($\approx 70-500$ fibras/mm²). En este intervalo de valores, los resultados de los recuentos de fibras se ajustan a distribuciones normales, tal como se demostró en la prueba interlaboratorios realizada en 1987 para la implantación del programa y se ha confirmado después en posteriores estudios. Hay que considerar por tanto dos grupos de muestras diferentes, las de concentración normal ($\approx 70-500$ fibras/mm²) y las de baja concentración (< 64 fibras/mm²), cuyos resultados requieren diferente tratamiento estadístico. Para incluir muestras de baja concentración en el PICC-FA es necesario establecer un segundo protocolo. Ambos protocolos serán distintos si bien es necesario que se mantenga su coherencia interna en la medida de lo posible.

2. Descripción del protocolo para las muestras de amianto de baja densidad

En el protocolo aplicado a las muestras en el intervalo normal de concentraciones, el valor diana se calcula como la media aritmética de los recuentos después de eliminados los resultados anómalos y los límites de control se sitúan a $\pm 35\%$ (1,35 y 0,65 en valores normalizados) del valor diana. Estos criterios se han tenido en cuenta en el establecimiento del nuevo protocolo para las muestras de baja densidad.

o *Valor diana*

Siguiendo el criterio aplicado en el PICC-FA, se mantendrá la media aritmética como estimador del valor diana. Sin embargo, esta media se calculará sobre la variable transformada (raíz cuadrada de los recuentos), por lo que será necesario hacer posteriormente la transformación inversa, es decir la potencia cuadrada de las medias obtenidas para obtener el valor diana en las mismas unidades que los resultados.

El valor diana, en fibras/mm², corresponde a la siguiente expresión matemática:

$$VD = \left[\frac{\sum x_i^2}{n} \right]^2$$

siendo x_i los valores de los recuentos individuales y n el número de resultados una vez se han excluidos los anómalos. Los resultados anómalos se determinan sobre la variable transformada

o *Límites de control*

Las líneas que definen los límites de control en el PICC-FA para las muestras en el intervalo óptimo de densidades, se sitúan a $\pm 35\%$ del valor diana (valores normalizados entre 0,65 y 1,35), lo que supone un

coeficiente de variación único para a todas las muestras. Sin embargo, en el caso de las muestras de bajas concentraciones la variación no se puede considerar constante ya que el número de fibras contadas es pequeño. Teniendo en cuenta además, que el tratamiento estadístico requiere transformar la variable del resultado, los límites de control deben responder a expresiones del tipo:

$$\text{Límite superior } [(VD)^{1/2} + \alpha]^2 \quad (1)$$

$$\text{Límite inferior } [(VD)^{1/2} - \beta]^2 \quad (2)$$

Estas expresiones son las mismas que se utilizan en los programas de control de calidad de fibras de amianto de otros países europeos anteriormente citados, que han introducido en su rutina muestras de bajas concentraciones.

En nuestro caso, el valor de los parámetros α y β se calcularán de forma que los límites resultantes sean coherentes con los límites de control aplicados a las muestras normales. Si tomamos como línea divisoria entre las muestras normales y las muestras de bajas concentraciones un valor diana de 64 fibras/mm², este valor será común y pertenecerá a ambos grupos. En este caso, el intervalo de valores aceptables deberá coincidir en ambos protocolos, ya que para un valor sólo puede haber un intervalo.

Para una muestra con una concentración de 64 fibras/mm² del filtro, los correspondientes límites de control del PICC-FA son:

$$\text{Límite superior: } 1,35 \times 64 = 86,4 \text{ fibras/mm}^2$$

$$\text{Límite inferior: } 0,65 \times 64 = 41,6 \text{ fibras/mm}^2$$

Igualando estos valores con las expresiones (1) y (2) para bajas concentraciones, se obtiene los valores de los parámetros α y β :

$$\text{Límite superior} = [64 + \alpha]^2 = 86,4 \rightarrow \alpha = 1,30$$

$$\text{Límite inferior} = [64 - \beta]^2 = 41,6 \rightarrow \beta = 1,55$$

Por tanto, la expresión general que se deduce para establecer los **límites de control para muestras de bajas concentraciones**, en función de su valor diana (VD) correspondiente, es la siguiente:

$$\text{Límite superior de control (LSC)} = [(VD)^{1/2} + 1,30]^2$$

$$\text{Límite inferior de control (LIC)} = [(VD)^{1/2} - 1,55]^2$$

Con estos límites se consigue además que para las muestras de bajas concentraciones, la variación permitida, en términos de porcentaje, sea mayor a medida que disminuye el valor diana. Esto es coherente desde el

punto de vista del control de calidad, ya que como se ha indicado la variación de los resultados de los recuentos se incrementa progresivamente cuando el número de fibras contadas disminuye.

4. Aplicación del protocolo a los resultados de la prueba

Para contrastar la validez del protocolo establecido se analizaron los resultados de su aplicación a los datos de la prueba, de forma similar a como se realizan las evaluaciones en el PCCC-FA.

1. Evaluación de resultados por muestra

Los valores diana y los límites de control resultantes según el protocolo establecido para las muestras empleadas en esta prueba se indican en la Tabla 3. La Figura 3 representa, para cada muestra, los resultados suministrados por los laboratorios y la posición de los correspondientes límites de control para los diferentes valores diana. Tanto en la Tabla 3 como en la Figura 3 se han omitido los resultados de la muestra 1.05 por presentar un valor medio superior a 64 fibras/mm².

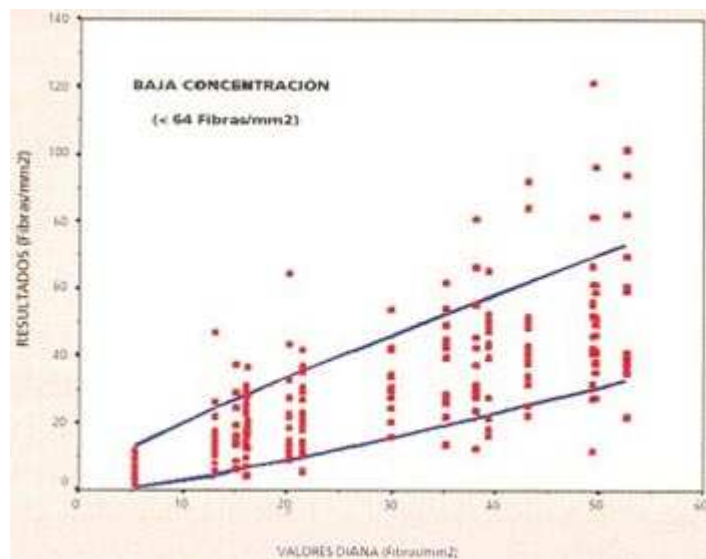
Tabla 3
Valores diaria y límites de control

MUESTRAS DE BAJA CONCENTRACIÓN (fibras/mm²)			
Referencia	Valor diana	Límite inferior de control	Límite superior de control
1.01	5,4	0,61	13,2
1.02	16,1	6,1	28,2
1.03	39,4	22,3	57,4
1.04	38,1	21,4	55,9
1.05 (*)	77,0	-	-
1.06	16,2	6,1	28,4
1.07	15,1	5,5	26,9
1.08	52,7	35,6	73,2
1.09	13,1	4,3	24,1
1.10	29,9	15,4	45,9
1.11	35,2	19,2	52,4
1.12	21,5	9,5	25,3
1.13	43,2	25,2	62,0
1.14	49,5	30,1	69,4
1.15	20,4	8,8	33,8

1.16	49,6	30,2	69,6
(*) No aplicable los nuevos límites de control por tener valor diana > 64 fibras/mm ²			

El porcentaje de resultados que se sitúa dentro de los límites de control es del 80%, algo inferior al obtenido en las circulaciones anuales del PICC-FA (≈ 90%), pero suficiente para aceptar que dichos límites son adecuados para su implantación en el programa. Los resultados fuera de control tienden a situarse por encima del valor diana (ver Figura 3), ya que de acuerdo con la experiencia, cuando no se ven fibras en los campos de recuento se incrementa la posibilidad de hacer pasar por fibras otras figuras o formas geométricas observadas que no serían tenidas en cuenta si hubiera presencia real de fibras. Evidentemente, una de las ventajas de incluir muestras de bajas concentraciones en el control de calidad será el corregir estas tendencias.

Figura 3
Representación gráfica de los resultados de los laboratorios según valor diana. No se ha incluido la muestra con un valor diana superior a 64 fibras/mm²



2. Evaluación de los resultados por laboratorio

La evaluación de resultados de los laboratorios se resume en la Tabla 4. En esta evaluación se incluyen únicamente 15 muestras de las 16 analizadas, ya que la muestra 1.05 como ya se ha indicado, no fue considerada por resultar con un valor diana superior al establecido en la definición de las muestras de baja densidad.

Tabla 4
Evaluación de los laboratorios

Laboratorio	Nº muestras analizadas	Resultados dentro de los límites de control		Clasificación
		Número	%	
A	15	14	93	SATISFACTORIO
B	15	14	93	SATISFACTORIO
C	15	12	80	SATISFACTORIO
D	15	10	66	NO SATISFACTORIO
E	15	15	100	SATISFACTORIO
F	15	13	87	SATISFACTORIO
G	8	6	(*)	(*)
H	15	8	53	NO SATISFACTORIO
I	14	9	64	NO SATISFACTORIO
J	15	14	93	SATISFACTORIO
K	15	11	73	SATISFACTORIO
L	15	14	93	SATISFACTORIO
M	15	12	80	SATISFACTORIO
N	15	10	66	NO SATISFACTORIO
O	15	11	73	SATISFACTORIO

(*) No evaluado, por no disponerse de resultados de la serie completa de muestras

El número de laboratorios que obtienen $\geq 75\%$ de valores dentro de control, criterio que se utiliza en el PICC-FA para la clasificación de laboratorios "satisfactorios", es algo inferior al obtenido en las circulaciones normales, que se sitúan en torno al 92% en los últimos años. Sin embargo, los cuatro laboratorios que no han alcanzado estos requisitos son laboratorios que en su práctica analítica no analizan habitualmente muestras de baja concentración. Estos resultados confirman la importancia del entrenamiento en los recuentos de fibras con independencia del tipo de muestra analizado. Por lo tanto, es esperable que la incorporación de muestras de bajas concentraciones en el PICC-FA influya favorablemente en la calidad de los laboratorios.

5. Conclusiones

Los resultados de esta prueba permiten establecer un protocolo estadístico para los resultados de los recuentos de fibras en bajas concentraciones (64 fibras/mm²) en el

PICC-FA, y por tanto se considera adecuado incluir este tipo de muestras en las circulaciones de rutina del programa. Este protocolo está basado en modelos matemáticos aplicados en otros programas de control de calidad de fibras de amianto de otros países europeos, tiene en cuenta la distribución de los resultados y el incremento de variabilidad que se produce por disminución del número de fibras contadas y es además coherente con los criterios aplicados hasta la fecha en el PICC-FA.

Con la inclusión de muestras de bajas concentraciones en el PICC-FA se pretende conseguir que la participación en el programa sea más representativa de la actividad analítica de los laboratorios y mejorar su eficacia como herramienta para evaluar y controlar la calidad de las determinaciones de fibras de amianto.

Se considera también que este trabajo puede ser de gran ayuda para promover que los laboratorios incluyan muestras de bajas concentraciones en su control de calidad interno, y les sirva como base para diseñar el tratamiento estadístico más apropiado en cada caso.

Agradecimientos

Los autores desean manifestar su agradecimiento a todos los laboratorios participantes en este estudio y de forma especial al laboratorio de microscopía óptica del Centro Nacional de Medios de Protección de Sevilla por su importante aportación en los recuentos de fibras previos para la selección de muestras.

Bibliografía

- ARROYO BUEZO, M^a CARMEN. Programa Interlaboratorios de Control de Calidad de Fibras de Amianto. Salud y Trabajo. 1990/4, n^o 80, 4-10.
- ARROYO BUEZO, M^a CARMEN. Homologación de laboratorios especializados en la determinación de fibras de amianto en España. Universidad de Oviedo Libro de Actas III Forum Europeo de Ciencia, Seguridad y Salud. 1998, 147-151.
- ARROYO M.C., Quality control of airborne asbestos fibres counts in Spain. En: Clean air at work. Luxemburgo, 9-13 de Septiembre de 1991. Publicación especial de la Royal Society of Chemistry 1991, n^o 108, 440-4.
- ARROYO, M.C. y Rojo, J.M., National versus international asbestos fibre counting schemes: comparison between the Spanish interlaboratory quality control program (PICC-FA) and the Asbestos Fibre Regular Informal Counting Arrangement (AFRICA). Ann. Occup. Hyg. 1998, 42, 97-104.
- ARROYO, M.C. y Rojo, J.M., A proposal for harmonising laboratory performance assessment criteria in national asbestos fibre counting schemes. Ann. Occup. Hyg. , 2001, 45, 447-455.
- Grawford, N.P, Brown, P.W, Jones, A.D., Maclaren, W.M. y MILLER, B.G., Towards development of RICE to included low density samples from asbestos clearance operations. En: Clean air at work. Luxemburgo, 9-13 de Septiembre de 1991. Publicación especial de la Royal Society of Chemistry , 1991, n^o 108, 463-5.
- INSHT Determinación de fibras de amianto en aire. Método del filtro de membrana/microscopía óptica. MTA/MA-010/A87.