

Calibración de espirómetros por vía húmeda en el LATU y su adaptación a la ley de «alcohol cero»

Calibration of breath analyzers using wet bath simulators by LATU and its adaptation to «zero tolerance» DUI legislation

Silva, Ana I. (1); Ferrando, M^a Eugenia (2); Ferreira, Elizabeth (1)

(1) Departamento de Metrología Química, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, LATU, Montevideo, Uruguay.

(2) Departamento de Metrología Química, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, LATU (2016-2017), Montevideo, Uruguay.

Contacto: asilva@latu.org.uy

RECIBIDO: 11/9/2017 APROBADO: 15/11/2017

Resumen

En este artículo se presenta el trabajo del Departamento de Metrología Química para el desarrollo del servicio de calibración de espirómetros basado en la recomendación internacional de la Organización Internacional de Metrología Legal OIML R126:2012(E) (OIML, 2012), antes inexistente a nivel nacional. Se describe el origen de la necesidad de contar con el servicio, el desarrollo de Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua como patrones químicos y los ensayos de validación del método. Asimismo, se mencionan los retos presentados por la ley de «alcohol cero» de entrada en vigencia en 2016 y los estudios complementarios necesarios para probar la aplicabilidad de los requisitos previstos en la recomendación.

Palabras clave: Espirómetro, calibración, validación, materiales de referencia.

Abstract

The following paper describes the work carried out by the Chemical Metrology Department to develop the first national breath analyser calibration service according to the recommendation from the International Organization of Legal Metrology, OIML R126:2012(E) (OIML, 2012). A detailed account of the different stages of this process is given, from method validation to the production of Certified Reference Materials of ethanol in water to be used as standards. In addition, a detailed description of the modifications introduced as a consequence of the «zero alcohol» law established in 2016 is presented, in order to demonstrate the applicability of the proposal to the requirements established in the recommendation.

Keywords: Breathalyzer, calibration, validation, reference materials.

Introducción

El consumo de alcohol (etanol) y su efecto adverso sobre la habilidad de conducir vehículos ha sido ampliamente estudiado y reportado (Dry, et al., 2012; Ogden, 2004; Watson, 2013; Elvik, 2009). Las secuelas de su consumo alteran el normal funcionamiento neurológico del individuo, aun con consumos muy bajos de alcohol, y aumentan exponencialmente con la dosis (OMS, 2015). La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece como buena práctica la aplicación de legislación y fiscalización de la conducción bajo efectos del alcohol dado que representa un medio efectivo para la reducción de accidentes de tránsito asociados al consumo de alcohol (OMS, 2015). Los límites máximos de consumo de alcohol para conductores, expresado como concentración de alcohol en sangre, aplican desde hace 80 años; el primer antecedente es el de Noruega, en el año 1936 (Voas, 1990). Sin una tolerancia máxima explícita, la evidencia para el procesamiento de conductores bajo efecto del alcohol no puede ser más que conductual; esto puede ser subjetivo y ambiguo

y no constituye una base sólida para tomar acciones legales (Mann, 2001).

A partir del primer descubrimiento que relacionó la presencia de sustancias volátiles en sangre y su exhalación a través de los pulmones, se han realizado esfuerzos para aplicar este concepto al control del alcohol en sangre en el marco de la seguridad vial y laboral (Harger, 1950a; Zuba, 2008). Las ventajas de realizar análisis de aliento en lugar de análisis de sangre son varias: se obtienen resultados rápidamente, no es invasivo y los costos asociados son módicos (Vaz, et al., 2001). Por otro lado, las mediciones de alcohol en aliento requieren la cooperación activa del individuo evaluado, lo cual no siempre es posible, por lo que las mediciones en sangre son aún ampliamente utilizadas, tanto de forma comparativa, a solicitud del evaluado, como cuando no se consigue la cooperación activa (Pavlic, et al., 2006).

La exactitud de las mediciones de alcohol en aliento es crítica para poder asegurar sanciones justas y la seguridad de otros individuos, y depende estrechamente de la fuente de calibración utilizada para verificar el correcto funcio-

namiento de los instrumentos de medición (Vaz, et al., 2001). Según el vocabulario internacional de metrología (BIPM, 2012), la calibración de un instrumento refiere al establecimiento de «una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas». En términos simples, durante la calibración se compara la lectura de un instrumento contra un valor de referencia proveniente de un patrón trazable, y se determina la diferencia entre ellos, o el *error*. Esto no debe confundirse con el ajuste del instrumento, el cual busca minimizar dicho *error*.

La información obtenida en la calibración no es de utilidad sin la evaluación objetiva por parte del usuario del instrumento. A partir de esta información se debe definir si el desempeño del instrumento es adecuado al propósito, por ejemplo, comparando el error de medición con tolerancias obtenidas a partir de recomendaciones internacionales. A su vez, esta calibración muestra la situación puntual de un espirómetro, que puede variar en función del tiempo por deriva, desgaste, malfuncionamiento, entre otros factores, lo cual implica que el proceso de calibración y subsecuente evaluación de resultados debería realizarse periódicamente. La calibración de espirómetros puede realizarse de dos maneras: por vía «húmeda» o por vía «seca».

La calibración por vía «húmeda» se realiza mediante el uso de simuladores de soplo. Se basa en la ley de Henry: si una solución acuosa diluida de alcohol se pone en equilibrio con aire, la presión parcial del alcohol en la fase vapor es una función de la concentración de alcohol en la fase líquida y la temperatura del sistema (Dubowski, 1979). En este caso, los patrones de medida son soluciones de etanol en agua. En la calibración por «vía seca» se utilizan mezclas gaseosas de etanol en balance de nitrógeno. La única forma de asegurar que un patrón de medida es confiable es mediante su trazabilidad a las unidades del Sistema Internacional (SI) o referencias internacionales reconocidas. Esta confiabilidad se origina al vincular un resultado puntual con una referencia internacional a través de una serie de pasos ininterrumpidos. Esto, junto con comparaciones internacionales, lo hace comparable con otros resultados obtenidos análogamente, en otro momento, en otro lugar o por otro analista.

Además de brindar garantías tanto al evaluado como al fiscalizador, esta característica del resultado permite la armonización de criterios (por ejemplo, en los límites máximos de alcohol en sangre), a partir de estudios científicos de diversas procedencias, o recopilación de datos reales. La información generada a través del procesamiento estadístico de estos datos permite reafirmar políticas nacionales en seguridad vial o proporcionar evidencias en la adopción de nuevas.

Adicionalmente, existen recomendaciones internacionales desarrolladas por la Organización Internacional de Metrología Legal (OIML), las cuales establecen requisitos técnicos básicos para los analizadores y métodos de evaluación inicial y periódica de los mismos.

En Uruguay, en setiembre de 1994 el parlamento sancionó la ley 16.585 (Uruguay, 1994), que estableció un máximo de alcoholemia permitida para conductores de cualquier tipo de vehículos, 0,8 g/L, a excepción de los conductores de vehículos de pasajeros (CIPA, 2006). En 2007, la nueva legislación estableció una disminución gradual de la tolerancia máxima hasta 0,3 g/L, valor alineado a las buenas prácticas de seguridad vial de la OMS (OMS, 2015), que fue nuevamente modificada a

fin de 2015, cuando entró en vigencia la «tolerancia cero» de alcohol en tránsito (Uruguay, 2007).

Las últimas estadísticas nacionales reflejan una «tendencia al descenso en la cantidad de fallecidos anuales» (Unidad Nacional de Seguridad Vial, 2016a), acompañado de «un descenso del 23,1 % en espirometrías con presencia de alcohol en sangre en conductores que participaron en siniestros de tránsito» (Unidad Nacional de Seguridad Vial, 2016b).

En la publicación de la Comisión Coordinadora Intersectorial de Políticas de Alcohol (CIPA, 2006), la Junta Nacional de Drogas de Presidencia de la República definió al espirómetro como el instrumento que permite definir «responsabilidades civiles y/o penales para quien es medido (...) así como para quien solicita esa exploración». Con base en esto declaró necesario que el proceso de medición presente garantías a ambas partes, para lo cual la confirmación metroológica y la calidad de estos instrumentos es crucial.

En este marco, la Dirección de Metrología Científica e Industrial del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), en su rol de diseminar la trazabilidad a las unidades del SI a través de la calibración, se planteó como objetivo el desarrollo del servicio de calibración de espirómetros, antes inexistente a nivel nacional. Para esto, desde 2013 el Área Orgánica dentro del Departamento de Metrología Química ha llevado a cabo las siguientes actividades: desarrollo del servicio de calibración de espirómetros por vía húmeda basado en la recomendación internacional OIML R126 (OIML, 2012) y según la Norma ISO/IEC 17025 (International Organization for Standardization, 2005) y producción de Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua para la calibración de los espirómetros dentro de un Sistema de Gestión según la Guía ISO 34 (International Organization for Standardization, 2009) y la Norma ISO/IEC 17025 (International Organization for Standardization, 2005). Adicionalmente, con el advenimiento de la «tolerancia cero» se han realizado ensayos adicionales para dar sustento a la reglamentación de control de espirómetros en proceso de redacción.

Esta publicación se focalizará en el análisis de esas actividades y sus resultados.

Materiales y métodos

Preparación de Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua

La fuente de trazabilidad para la calibración de espirómetros proviene de los patrones químicos que se utilicen. Para poder implementar este servicio fue preciso contar con grandes cantidades de Materiales de Referencia Certificados (MRC) de etanol en agua. En este sentido, el Departamento de Metrología Química implementó un Sistema de Gestión de Calidad según la Guía ISO 34 (International Organization for Standardization, 2009). Dentro de este marco, se prepararon cuatro lotes piloto de 9 a 19 unidades, sobre los cuales se realizaron estudios de homogeneidad, estabilidad acelerada (a 4 °C y 50 °C, emulando condiciones de transporte) y estabilidad a largo tiempo (vida útil), hasta 30 meses. Con base en esta información se prepararon lotes de 19 a 39 unidades que fueron caracterizados a partir de los datos de preparación gravimétrica y el análisis confirmatorio por cromatografía gaseosa (GC-FID con inyector Cool On-Column). La com-

petencia técnica para la determinación de etanol en agua y la preparación de MRCs fue evaluada durante una revisión de pares ejecutada en 2016, en la que expertos técnicos y de gestión de otros Institutos Nacionales de Metrología (INM) realizaron una auditoría en base a la Norma ISO/IEC 17025 (International Organization for Standardization, 2005) y la Guía ISO 34 (International Organization for Standardization, 2009). La documentación del Sistema de Gestión, junto con los hallazgos de esta auditoría, fueron presentados al Quality System Task Force (QSTF), del Sistema Interamericano de Metrología (SIM), en noviembre de 2016. En esta instancia se determinó que el Sistema de Gestión de la Calidad del Departamento de Metrología Química cumplía con los requisitos del Acuerdo de Reconocimiento Mutuo del Comité Internacional de Pesas y Medidas (CIPM). Adicionalmente, se participó con desempeño satisfactorio en una comparación clave (*key comparison* en inglés) para la determinación de etanol en agua (SIM.QM-K27), en la cual participaron otros INM de Latinoamérica, Europa, Asia y África. Esta evidencia recabada se presentará a fines de 2017 frente al Comité Consultativo de Cantidad de Materia (CCQM) del Bureau International de Pesas y Medidas (BIPM) para la declaración de las Capacidades de Medición y Calibración (CMC) en el apéndice C de la base datos de comparaciones clave del BIPM. En la Tabla 1 y Figura 1 se observan ejemplos de lotes de MRC de etanol en agua.

Código MRC	Fracción de masa de etanol (g/100g)	Incertidumbre certificación (g/100 g)
MRC.ORG.001 lote 002	0,05078	0,00030
MRC.ORG.002 lote 002	0,08132	0,00043
MRC.ORG.003 lote 003	0,10687	0,00042
MRC.ORG.004 lote 003	0,3729	0,0024

Tabla 1 Ejemplos de lote de Materiales de Referencia Certificados de fracción de masa de etanol en agua producidos en el LATU según Guía ISO 34:2009 (International Organization for Standardization, 2009).

Optimización y validación del método de calibración por vía húmeda

Método de calibración de espirómetros

Para la optimización y validación de la calibración de espirómetros por vía húmeda se utilizaron dos simuladores de soplo 10-4D (Guth Laboratories, Inc) conectados en serie, como se muestra en la Figura 2. Para los estudios de límites de detección y cuantificación se utilizó un sistema simple, donde solo se utiliza un simulador. Los sensores de temperatura son calibrados anualmente para verificar que su error no supere 0,1 °C, dada la alta dependencia de la partición del etanol entre la solución y la fase gaseosa con la temperatura. El suministro



Figura 1. Materiales de Referencia Certificados de fracción de masa de etanol en agua producidos en el LATU según Guía ISO 34:2009 (International Organization for Standardization, 2009).



Figura 2. Sistema de simuladores de soplo en serie para calibración de espirómetros en el LATU.

de aire para la simulación del aliento provino de cilindros de aire sintético comercial, y se controló por un flujímetro de división 0,1 L/min. Para las pruebas de optimización del método de calibración de espirómetros se utilizó un equipo con detección de celda de combustible (Alco-Sensor FST, Intoximeters, Inc.).

Cálculo de valor de referencia con simulador de soplo

A partir de la ecuación experimental propuesta por Harger (OIML, 2012), la relación entre la concentración de etanol en la solución acuosa (MRC) y el vapor generado por el simulador de soplo se rige por la Ecuación 1, mediante una constante de partición K_{HARGER} dependiente de la temperatura. A 34 °C, la temperatura estimada del aliento humano (Harger, et al., 1950b), la K_{HARGER} toma el valor indicado en la Ecuación 3.

$$C_{\text{vapor}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = C_{\text{MRC}} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) * K_{\text{HARGER}} \quad [\text{Ec. 1}]$$

$$K_{\text{HARGER}} = (0,0302T^2 + 0,1903T - 2,0576) \times 10^{-5}$$

[Ec. 2]

$$\text{A } 34^\circ\text{C: } K = 0,393 \times 10^{-3}$$

[Ec. 3]

La concentración de etanol en vapor (simulando el aire exhalado) se vincula con la concentración de etanol en sangre mediante la ley de Henry, donde K es el coeficiente de partición e indica cómo el alcohol se distribuye entre la fase líquida (sangre) y la fase gaseosa (aire alveolar). Este valor es tomado como referencia en la calibración.

$$C_{\text{sangre}} = C_{\text{vapor}} * K \quad [\text{Ec. 4}]$$

[Ec. 4]

Un valor de K de 2100 es considerado promedio para el sistema alcohol-sangre-aire alveolar *in vivo* (Harger, et al., 1950a). Esto significa que el contenido de etanol de 2100 mL de aire en un alvéolo será igual al contenido de alcohol de 1 mL de sangre que está en equilibrio con el aire a través de la membrana semipermeable del alvéolo.

Agotamiento de las soluciones de etanol en agua

Uno de los puntos más críticos de la calibración con simulador de sople es el agotamiento de la solución, el fenómeno por el cual la concentración de etanol en el vapor que emana desde el simulador de sople disminuye a medida que transcurren las mediciones. Para estudiar la influencia de este fenómeno se realizaron 40 mediciones en un sistema de dos simuladores de sople en serie, utilizando soluciones de etanol en agua preparadas gravimétricamente a cuatro fracciones de masa equivalentes a 0,4, 0,7, 0,9 y 3,9 gramos de etanol por litro de sangre: [C1], [C2], [C3] y [C4], respectivamente. A partir de estos datos se realizó un estudio de significancia de pendiente basado en el análisis estadístico para estudio de estabilidad según la Guía ISO 35:2006 (International Organization for Standardization, 2006), en la sección 8.3.1.

Para los n pares de datos (X, Y), donde X es el número consecutivo de indicación del espirómetro e Y el valor que toma dicha indicación, se estimó un modelo de regresión lineal que los vincula, donde la estimación de la pendiente y del intercepto se realizaron según las Ecuaciones 5 y 6, respectivamente. La desviación estándar de la pendiente se calculó según las Ecuaciones 7 y 8.

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

[Ec. 5]

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

[Ec. 6]

$$s_b = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$$

[Ec. 7]

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - a - bX_i)^2}{n - 2}}$$

[Ec. 8]

Se considera que la pendiente (tendencia) no es significativa si $|b| < t_{0,95;n-2} * s_b$, donde t es el estadístico t de Student, con probabilidad de 0,95 y n - 2 grados de libertad.

Exactitud

Para evaluar la exactitud del método, se utilizaron soluciones de etanol en agua preparadas gravimétricamente (MRCs de producción interna) y se determinó el error para cada nivel. Además, se analizaron dos Materiales de Referencia Certificados del Instituto Metrológico Nacional de Brasil (INMETRO). La diferencia obtenida entre el promedio de las indicaciones del espirómetro (n=5) y el valor de referencia, calculado según la Ecuación 4, fue utilizado como estimador de sesgo del método (Ecuación 9) y la desviación estándar relativa de las indicaciones, como estimador de repetibilidad (Ecuación 10).

$$\text{Sesgo} = \overline{\text{Indicaciones}} - \text{Valor de referencia}$$

[Ec. 9]

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

[Ec. 10]

Límite de detección y cuantificación

Para determinar el límite de detección y cuantificación de la medición con espirómetro se prepararon gravimétricamente soluciones de etanol en agua en el rango de fracción de masa de 0,005 a 0,05 g/100 g, lo que equivale a un rango de concentración de etanol en sangre de 0,04 a 0,41 g/L (se asume que la densidad para estas soluciones es igual a la correspondiente a 0,05 g/100g). Estas soluciones fueron cargadas al simulador de sople en configuración «simplex», y luego del tiempo de estabilización se tomaron lecturas (n=15) a cada nivel.

Interferencias fisiológicas

Se analizó la respuesta del espirómetro frente a acetona, metanol e isopropanol de acuerdo a lo establecido en la OIML R126 (pruebas de influencia fisiológica). Para el análisis de respuesta frente a acetona, se preparó volumétricamente una solución acuosa de concentración 0,15 g/L equivalente a 0,5 mg/L en vapor, considerando una constante de K_{HENRY} para el sistema solución acuosa/vapor liberado por simulador de sople de 365:1 según bibliografía (NHTSA, 1985). En cuanto al análisis de metanol e isopropanol, se preparó gravimétricamente una curva de calibración a tres niveles para cada alcohol: etanol, metanol e isopropanol. Se analizaron las soluciones mediante espirómetro con detector de celda de combustible y se graficaron los resultados. Se compararon las pendientes entre dichas curvas.

Resultados y discusión

Optimización y validación del método de calibración por vía húmeda

Agotamiento

El agotamiento de las soluciones de etanol en agua utilizadas en los simuladores de sopro puede explicarse por el arrastre preferencial del etanol en la fase gaseosa mediante la corriente de aire sintético que atraviesa la solución. En condiciones no controladas esta disminución afecta la concentración de etanol en vapor a la salida. Los resultados se pueden apreciar en el Gráfico 1. Como se muestra en la Tabla 2 se observó que la tendencia a la disminución de los valores es significativa para las concentraciones [C2] y [C3], si bien la diferencia máxima fue considerablemente mayor para [C4]. Esto sugiere que cuanto mayor fue la concentración de ensayo, el agotamiento ocurrió más rápidamente. Si bien el agotamiento de las soluciones se pudo evidenciar por esta tendencia, la diferencia máxima fue menor al Error Máximo Permissible (EMP) para los niveles de ensayo. Como herramienta de control de calidad, se implementó una evaluación del agotamiento tomando una medida con el espirómetro de control entre espirómetros a calibrar.

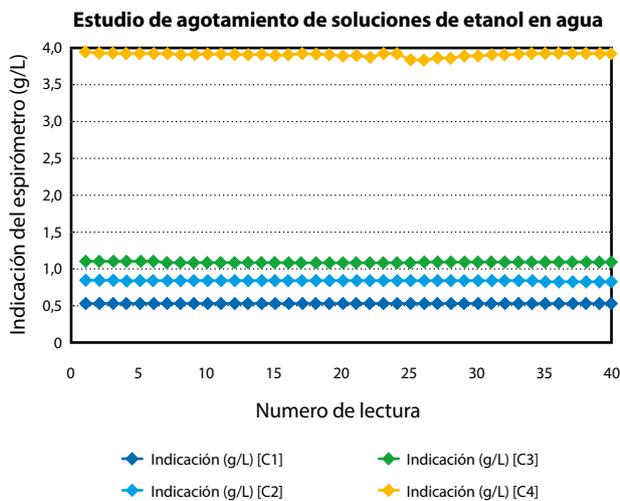


Gráfico 1. Estudio de agotamiento de las soluciones de etanol en agua a [C1], [C2], [C3] y [C4] en sistema en serie.

Nivel	b	s _b	s _b [*] t _{0,95;n-2}	Rango (g/L)	¿Tendencia significativa?	EMP (g/L)
[C1]	-0,00006	0,00005	0,00009	0,01	NO	0,042
[C2]	-0,00048	0,00007	0,00013	0,03	SÍ	0,042
[C3]	-0,00026	0,00007	0,00013	0,02	SÍ	0,044
[C4]	-0,00041	0,00034	0,00068	0,11	NO	0,154

Tabla 2. Análisis de significancia de la pendiente para el estudio de agotamiento de las soluciones de etanol en sistema en serie.

Exactitud

En las Tablas 3 y 4 se muestran los resultados obtenidos en los estudios de exactitud utilizando MRCs tanto de producción interna (LATU) como externa (INMETRO).

C _{sangre} (g/L)	0,4183	0,6698	0,8803	3,0701
Nº Lectura	Lectura (g/L)	Lectura (g/L)	Lectura (g/L)	Lectura (g/L)
1	0,42	0,66	0,88	3,06
2	0,41	0,67	0,87	3,05
3	0,41	0,66	0,88	3,06
4	0,42	0,68	0,88	3,06
5	0,42	0,67	0,88	3,08
\bar{x}	0,416	0,668	0,878	3,062
s	0,006	0,008	0,005	0,011
sesgo	-0,002	-0,002	-0,002	-0,008
U _{sesgo} ^o (k=2)	0,008	0,011	0,009	0,027
EMP	0,042	0,042	0,044	0,154
S _{máx.}	0,014	0,014	0,015	0,051

Tabla 3. Resultados del estudio de exactitud con Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua de producción interna (LATU). Datos de Error Máximo Permissible (EMP) y S máx. (igual a EMP/3) obtenidos de OIML R126 :2012 (E) (OIML, 2012) 5.2.1 (verificación inicial).

C _{sangre} (g/L)	0,4197	0,8801
Nº Lectura	Lectura (g/L)	Lectura (g/L)
1	0,41	0,89
2	0,41	0,88
3	0,40	0,88
4	0,40	0,88
5	0,40	0,89
\bar{x}	0,404	0,884
s	0,006	0,006
sesgo	-0,016	0,004
EMP	0,042	0,044
S _{máx.}	0,014	0,015

Tabla 4. Resultados del estudio de exactitud con Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua de otro Instituto Nacional de Metrología (INMETRO). Datos de Error Máximo Permissible (EMP) y S máx. (EMP/3) obtenidos de OIML R126 :2012 (E) (OIML, 2012) 5.2.1 (verificación inicial).

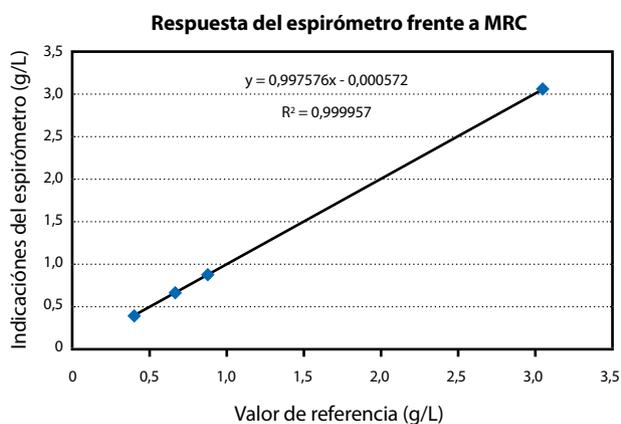


Gráfico 2. Relación entre la respuesta del espirómetro y el valor de referencia a partir de MRCs de producción interna (LATU).

Para que este método de calibración sea adecuado al propósito es necesario detectar el cumplimiento de los EMP y $S_{máx.}$, de acuerdo a la OIML R126 (OIML, 2012). A partir de los datos obtenidos en el estudio de exactitud se puede apreciar que para todas las concentraciones, el sesgo y la desviación estándar fue menor a la mitad de los EMP y $S_{máx.}$ a sus correspondientes concentraciones. Esto aplica de igual forma si se utilizan los MRC del LATU o INMETRO (Tablas 1 y 2). En el Gráfico 2 se observa la correlación entre los valores de referencia y las lecturas, con pendiente igual a 1 y una linealidad de respuesta buena ($R^2 > 0,9999$).

Límite de detección y cuantificación

Con el advenimiento de la tolerancia cero para el consumo de alcohol en el tránsito es importante verificar el desempeño de los equipos de fiscalización a niveles aún más bajos. Las mediciones de ausencia absoluta representan un desafío metrologógico, ya que a este nivel se debe considerar la incertidumbre de medición. Una posible estrategia es el enmascaramiento de las indicaciones por debajo de la mínima lectura confiable. Otra estrategia es considerar como una lectura diferente de cero aquella que supere el error instrumental. En este caso, para el cumplimiento de los requisitos de la recomendación OIML R 126 (OIML, 2012), los espirómetros en uso tienen un error máximo permisible de 0,063 g/L. Según esta estrategia, se podría considerar una lectura positiva de espirometría aquella que supere este EMP. En el estudio de límite de detección y cuantificación se buscó evaluar el desempeño de cuantificación cerca del EMP para equipos en uso.

En la Tabla 5 y el Gráfico 3 se presentan los resultados obtenidos para el estudio de límite de detección y cuantificación.

Los resultados permiten evidenciar que la mínima concentración de prueba a la cual el espirómetro responde fue 0,073 g/L (en sangre), mientras que en la concentración de prueba por debajo de este valor la respuesta fue nula. Adicionalmente, por encima de este nivel la desviación estándar y el error cumplieron los requisitos de exactitud necesarios ($EMP/2$ y $S_{máx.}/2$), lo cual evidenció un buen desempeño de cuantificación. Este resultado implica que durante medidas en tránsito este espirómetro no indicaría una lectura mayor a cero en el rango en el cual se pondría en duda si la lectura «es o no» cero gramos de alcohol por litro de sangre.

w_{Et} (g/100g)	C_{sangre} (g/L)	\bar{x} (g/L)	s (g/L)	Error
0,0051	0,042	0,00	0,00000	-0,042
0,0069	0,057	0,00	0,00000	-0,057
0,0089	0,073	0,07	0,00000	-0,003
0,0109	0,090	0,08	0,00352	-0,008
0,0128	0,105	0,10	0,00000	-0,005
0,0162	0,133	0,13	0,00458	-0,006
0,0276	0,228	0,22	0,00000	-0,008
0,0393	0,324	0,31	0,00488	-0,011
0,0508	0,419	0,41	0,00000	-0,009

Tabla 5. Resultados del ensayo de límite de detección y cuantificación. \bar{x} es el promedio de las lecturas, s la desviación estándar de las 15 lecturas.

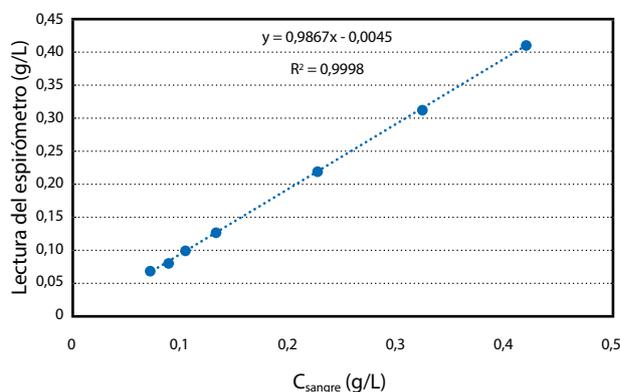


Gráfico 3. Relación entre la respuesta del espirómetro y el valor de referencia para estudio de límite de detección y cuantificación.

Interferencias fisiológicas

La ausencia de interferencias es un requisito importante para la correcta implementación del límite reglamentario de cero gramo de alcohol por litro de sangre. Para comprobar esto se estudió la respuesta del espirómetro frente a los potenciales interferentes más comunes: acetona, metanol e isopropanol.

Acetona

Según la publicación de NHTSA (NHTSA, 1985), las personas propensas a generar cuerpos cetónicos, por ejemplo aquellas en ayunos prolongados o con diferentes grados de diabetes, pueden presentar un valor promedio de cantidad de acetona expirada de 0,3 mg/L, la cual podría ser una interferencia en el análisis de etanol en aliento según se ha reportado anteriormente (Crawford, et al., 2011). En este sentido, la recomendación OIML R 126 (OIML, 2012) introduce pruebas de influencia fisiológica en las que los espirómetros son evaluados utilizando una concentración de 0,5 mg/L de acetona en vapor, el cual se puede analizar por «vía seca» utilizando mezcla de gases, o por «vía húmeda» con simuladores de soplo. Para esto es necesario contar con la constante de partición

de acetona entre la solución acuosa y el vapor generado por simulador de sople; este valor se reporta como 365:1 en la publicación de la NHTSA (NHTSA, 1985).

La solución de prueba de acetona fue cargada en el simulador de sople y se tomaron 10 lecturas con el espirómetro, indicando para todas las réplicas 0,00 g/L de sangre. La falta de respuesta de este tipo de detector (celda de combustible) implica que a una concentración de acetona en vapor exhalado superior a la que pudiese encontrarse en personas propensas a producción endógena de acetona (0,4 mg/L de acetona en vapor), no provocaría una interferencia o falso positivo durante las espirometrías.

Metanol e isopropanol

En vista de que la Ley 18.191 (Uruguay, 2007) dictamina en su artículo 45 la inhabilitación de conductores que posean «concentración de alcohol en sangre» superior a 0,0 g/L, la presencia de metanol e isopropanol no puede definirse como un falso positivo, ya que estarían incluidos dentro de la definición de «alcohol» y presentan un efecto embriagante. No obstante, es necesario evaluar si la sensibilidad del espirómetro frente a metanol e isopropanol no supera la del etanol, de lo contrario, frente a la presencia de concentración en sangre de metanol y/o isopropanol, la señal del espirómetro podría ser diferente a cero, incluso cuando la concentración de etanol se encontrara por debajo del límite de detección estudiado.

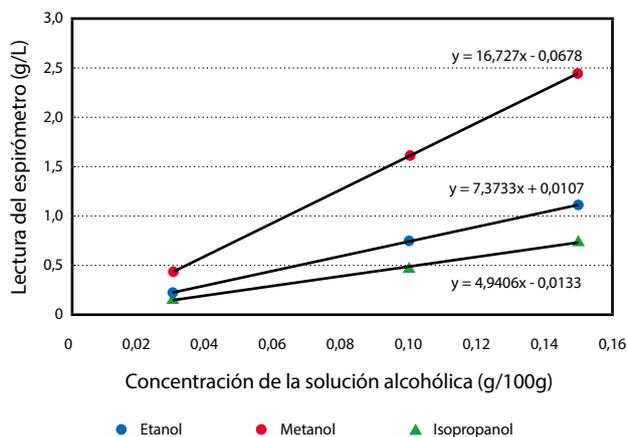


Gráfico 4. Respuesta del espirómetro para curvas de calibración de soluciones de etanol, metanol e isopropanol.

Etanol		Metanol		Isopropanol	
W _{Et} , g/100 g	\bar{x} (g/L)	W _{Met} , g/100 g	\bar{x} (g/L)	W _{Isop.} , g/100 g	\bar{x} (g/L)
0,030	0,23	0,030	0,44	0,030	0,13
0,100	0,76	0,100	1,59	0,100	0,49
0,150	1,11	0,150	2,45	0,150	0,73

Tabla 6. Respuesta del espirómetro frente a soluciones acuosas de etanol, metanol e isopropanol de diferentes concentraciones. \bar{x} : promedio de las indicaciones del espirómetro.

A partir de los resultados de las mediciones (Tabla 6, Gráfico 4) es posible concluir que el espirómetro con

detector de celda de combustible presentó sensibilidad a metanol e isopropanol además de etanol. Dados los dos pasos de partición que gobiernan el análisis de alcohol en aliento, se definen dos coeficientes que los describen: F_1 para la partición del alcohol entre solución acuosa y vapor, y F_2 para la partición del alcohol entre sangre y el aire alveolar, los cuales no han sido reportados para metanol e isopropanol. Es posible observar que la respuesta del espirómetro fue mayor para metanol que para etanol y este fue a su vez mayor que para isopropanol, de acuerdo a las pendientes de las respectivas curvas de calibración. Suponiendo que $F_{1,2 \text{ metanol}}$ y $F_{1,2 \text{ isopropanol}}$ son independientes de la concentración, como sucede para etanol en este rango, es posible inferir directamente que el detector mostró mayor sensibilidad para metanol (2,2 veces) y menor que para isopropanol (0,67 veces). Esto podría significar que para cantidades equivalentes de etanol y metanol en aliento la señal del espirómetro podrá verse exacerbada e inducir un sesgo positivo cuando se lo compare contra el resultado de un análisis en sangre. No obstante, la bibliografía indica la presencia natural de metanol en el aire exhalado a concentraciones bajas —0,21 a 0,70 $\mu\text{g/L}$ según Jones (1985)—, lo cual equivaldría a una máxima lectura de 0,003 g/L en sangre si se suponen los factores de conversión de etanol y el factor adicional de 2 determinado experimentalmente. Por lo tanto, en situaciones de salud normal la señal producida por la presencia de metanol no superaría la tolerancia de 0,063 g/L. En el caso particular del isopropanol, se han reportado casos de personas bajo dietas de muy bajas calorías que generarían cantidades significativas de acetona que se metaboliza a isopropanol por reducción (Jones, et al., 2007), el cual en este caso daría una señal dependiendo de su concentración. En casos en los que exista esta posibilidad, el análisis cromatográfico confirmatorio diferenciaría ambos alcoholes y eliminaría la fuente de error.

Conclusión

Este artículo describe la validación de un servicio de calibración de espirómetros y la producción de Materiales de Referencia Certificados de etanol en agua para este propósito. El equipo ensayado muestra un límite de detección y cuantificación que permite la medición confiable de pruebas de espirometría positivas, es decir, una lectura por encima del error máximo permisible para espirómetros en uso según la OIML R126 (OIML, 2012). Las pruebas de interferencias fisiológicas demuestran que la presencia en cantidades típicas de acetona, metanol e isopropanol en aliento no generarían una señal por encima del EMP del espirómetro. Cabe destacar que los estudios fueron realizados sobre un espirómetro particular con detección de celda de combustible. Estos resultados no son necesariamente extrapolables a otras tecnologías.

Reconocimientos

Al Departamento de Metrología Legal del LATU, por la colaboración. A los compañeros del Departamento de Metrología Química, en especial Ramiro Pérez y Simone Fajardo, por la revisión y el apoyo. A colaboradores del área orgánica actuales y pasados, por la realización de los ensayos.

Referencias

- BIPM, 2012. *JCGM 200:2012 Vocabulario internacional de metrología conceptos fundamentales y generales, y términos asociados*. 3a ed. Sèvres Cedex: BIPM.
- CIPA, 2006. *Implicancias y riesgo del consumo de alcohol en los individuos asociado a su comportamiento en el tránsito*. Montevideo: Presidencia de la República- Junta Nacional de Drogas.
- Crawford, T.V., McGrowder, D.A. y Rawlins, J.M., 2011. An assessment of falsely convicted type 1 diabetics in jamaica by using the breathalyzer test. En: *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 5(3), pp.448-451.
- Dubowski, K., 1979. Breath-alcohol simulators: scientific basis and actual performance. En: *Journal of Analytical Toxicology*, 3(5), pp.177-182.
- Elvik, R., 2009. *The handbook of road safety measures*. 2a ed. Bingley: Emerald Group Publishing Limited.
- Harger, R., Forney, R.B. y Barker, H.B., 1950a. Estimation of the level of blood alcohol from analysis of breath. En: *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 36(318), pp.107-121.
- Harger, R., Raney, B.B., Bridwell, E.G. y Kitchel, M.F., 1950b. The partition ratio of alcohol between air and water, urine and blood; estimation and identification of alcohol in these liquids from analysis of air equilibrated with them. En: *Journal of Biological Chemistry*, 183, pp.197-213.
- International Organization for Standardization, 2005. *ISO/IEC 17025: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración*. Ginebra: ISO.
- International Organization for Standardization, 2006. *ISO Guide 35: Reference materials - General and statistical principles for certification*. Ginebra: ISO.
- International Organization for Standardization, 2009. *Guía ISO 34: Requisitos generales para la competencia de productores de materiales de referencia*. Ginebra: ISO.
- Jones, A., 1985. Excretion of low-molecular weight volatile substances in human breath: focus on endogenous ethanol. En: *Journal of Analytical Toxicology*, 9(6), pp.246-250.
- Jones, A. R. y Rössner, S., 2007. False-positive breath-alcohol test after a ketogenic diet. En: *International Journal of Obesity*, 31(3), pp.559-561.
- Dry, M.J., Burns, N., Nettelbeck, T., Farquharson, A.L. y White, J.M., 2012. Dose-related effects of alcohol on cognitive functioning. En: *PLoS ONE*, 7(11).
- Mann, R., 2001. The effects of introducing or lowering legal per se blood alcohol limits for driving: an international review. En: *Accident Analysis and Prevention*, 33, pp.569-583.
- NHTSA, 1985. *DOT HS 806 The likelihood of acetone interference in breath alcohol measurement*. Virginia: NHTSA.
- Ogden, E., 2004. Effects of alcohol and other drugs on driver performance. En: *Traffic Injury Prevention*, 5, pp.185-198.
- OIML, 2012. *OIML recommendation R126. Evidential breath analyzers*. Paris: OIML.
- OMS, 2015. *Global status report of road safety*. Ginebra: OMS.
- Pavlic, M., Grubwieser, P., Brandstätter, A., Libiseller, K. y Rabl, W., 2006. A study concerning the blood/breath alcohol conversion factor Q: Concentration dependency and its applicability in daily routine. En: *Forensic Science International*, 158(2-3), pp.149-156.
- Unidad Nacional de Seguridad Vial, 2016a. *Informe anual siniestralidad vial 2016*. Montevideo: UNASEV.
- Unidad Nacional de Seguridad Vial, 2016b. *Informe espirometrías positivas desde que rige el alcohol cero para conducir*. Montevideo: UNASEV.
- Uruguay. Ley N° 16.585, de 22 de setiembre de 1994. *Diario Oficial*, 3 de octubre de 1994, p. 9A.
- Uruguay. Ley N° 18.191, de 18 de noviembre de 2007. *Diario Oficial*, 28 de noviembre de 2007, No.27.373, p. 398A.
- Vaz, D., Castanheira, I., Fino, H y Van der Veen, A., 2001. Breath analyzers: implementation of traceability in Portugal. En: *OIML Bulletin*, XLII(2), pp.9-13.
- Voas, R., 1990. Drunk driving enforcement, adjudication, and sanctions in the United States. En: Wilson, R., 1990. *Drinking and driving: advances in research and prevention*. New York: Guildford Press. pp.116-158
- Watson, B., 2013. The impact of drink driving laws. En: Miller, P. M. *Interventions for addiction. Comprehensive addictive behaviors and disorders*. Vol. 3. New York: Elsevier. pp.697-707
- Zuba, D., 2008. Accuracy and reliability of breath alcohol testing by handheld electrochemical analysers. En: *Forensic Science International*, 178,(2-3), e29-e33