1. OBJETIVO

Establecer los lineamientos para asegurar el desempeño de las metodologías analíticas y la confiabilidad de los resultados en las actividades de muestreo y ensayo desarrolladas en el laboratorio.

2. ALCANCE

Este procedimiento define las directrices a seguir para el aseguramiento de la trazabilidad, calidad y competencia de los resultados generados desde la planificación del muestreo hasta la entrega del reporte de análisis. Aplica para los ensayos desarrollados bajo métodos normalizados y no normalizados, de igual forma para todo el personal técnico.

3. DEFINICIONES

- **Análisis:** Estudio de muestras liquidas, sólidas, sedimentables, e hidrobiológicas, que determinan la naturaleza y componentes de cada sistema físico; con el propósito de caracterizarlo
- **Analistas:** Personal idóneo en el área química o afines, biología, microbiología o afines, que ejecuta análisis en el laboratorio y ha demostrado su competencia para el desarrollo de metodologías analíticas.
- **Analito:** Elemento, compuesto o componente químico o microbiológico que se analiza.
- **Aseguramiento de la calidad:** Operaciones de laboratorio que especifica las medidas utilizadas para producir datos con precisión y sesgo conocidos. Sirven como un mecanismo para minimizar los errores analíticos y permitir la generación de datos de calidad con la mejor precisión y exactitud posibles.
- **Carta de control:** Instrumento que mediante varias mediciones de los controles de calidad realizados permite, construir un gráfico usado como herramienta estadística indispensable para observar, detectar, prevenir y controlar el comportamiento de los resultados de los controles de calidad de cada una de las técnicas analíticas en el tiempo, ya que permite ver la variabilidad, consistencia, control y mejora de una metodología analítica. Las

gráficas de control utilizadas en el laboratorio serán las de exactitud (estándares), precisión (duplicados) y recuperación (Fortificados).

- **Ensayo de aptitud:** Herramienta de aseguramiento de calidad que permite al laboratorio comparar su desempeño con otros laboratorios, detectar tendencias y, permitir tomar cualquier acción preventiva o correctiva que sea necesaria para asegurar su competencia técnica y mejora continua.
- **Error aleatorio o indeterminado:** Este tipo de error puede ser positivo o negativo y no puede eliminarse debido a las limitaciones de las mediciones físicas.
- **Error sistemático o determinado:** Este tipo de error es debido a factores del procedimiento o instrumentales que hacen que el valor de una medición sea sistemáticamente alto o bajo. En principio, este tipo de error puede identificarse y corregirse.
- **Material de Referencia Certificado (MRC)**: Es un material rigurosamente caracterizado y certificado por un organismo reconocido. Sus valores trazables a estándares internacionales lo convierten en un estándar de referencia confiable, esencial para calibrar instrumentos y verificar/validar métodos analíticos, garantizando la precisión y consistencia de las mediciones.

4. DIRECTRICES

Las medidas de aseguramiento de la validez de los resultados permiten garantizar que una metodología de ensayo se realice dentro de los parámetros de control establecidos, de esta manera se evalúan las causas de posibles trabajos no conformes y se toman acciones correspondientes para evitarlas. El laboratorio asegura la validez de los resultados mediante la implementación de controles de calidad y mediante evaluaciones de la calidad.

4.1. CONTROLES DE CALIDAD

El laboratorio establece un conjunto de medidas y criterios de aceptación para los controles de calidad de la metodología de ensayo empleada, estas medidas son establecidas según la revisión bibliográfica de la metodología y los datos obtenidos en la verificación/validación del método. Remítase a los procedimientos analíticos y verificaciones de cada ensayo, para identificar los controles de calidad requeridos que se realizan de manera rutinaria.

A continuación, se describen los controles de calidad rutinarios durante la ejecución de ensayos analíticos

4.1.1. INTERVALO DE MEDICIÓN: Se refiere al rango o la distancia entre los valores que se pueden medir con un instrumento de medición. En otras palabras, es la diferencia entre el valor más bajo y el valor más alto que se puede medir un analito con una precisión y exactitud aceptable siguiendo una metodología dada.

4.1.2. LIMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (LDM): Es el nivel más bajo de concentración de una sustancia que puede ser detectado, pero no necesariamente cuantificado, por un método de análisis particular de manera confiable. En otras palabras, se define como la concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco.

4.1.3. LIMITE MINIMO DE REPORTE (LMR): Es la concentración de analito que produce una señal suficientemente más fuerte que el blanco, de modo que se puede detectar con un nivel específico de confiabilidad durante las operaciones de rutina. Los resultados de concentración durante la evaluación del LMR, se espera que estén comprendidos entre el 50% y 150% de diferencia porcentual.

4.1.4. BLANCO REACTIVO (BK): Se refiere a una muestra utilizada en un análisis químico o bioquímico que contiene todos los componentes del sistema excepto el analito de interés. Este blanco se utiliza como una referencia para corregir los resultados de las muestras reales y para asegurar que cualquier señal medida sea atribuible al analito específico en lugar de interferencias o impurezas en los reactivos o el equipo utilizado.

En microbiología, el blanco reactivo no debe presentar crecimiento microbiano; se emplea como control negativo para evaluar la presencia de contaminación introducida durante el procesamiento analítico en el laboratorio, permitiendo identificar posibles sesgos asociados a la manipulación, reactivos o ambiente de trabajo.

4.1.5. BLANCO FORTIFICADO DE LABORATORIO (BFL): Es una muestra de agua reactivo a la cual se le ha agregado una concentración conocida del analito de interés. Un BFL se utiliza para evaluar el rendimiento del laboratorio y la recuperación de analitos en una matriz en blanco.

La diferencia porcentual entre el valor esperado (teórico) y el valor experimental se calcula como:

$$\%BFL = \left|\frac{V_{teorico} - V_{experimental}}{V_{teorico}}\right| \times 100$$

En microbiología se puede utilizar el % de sesgo para calcular la proximidad de los recuentos de los inóculos obtenidos ($V_{Experimental}$) en la verificación de los datos teóricos de UFC/mL ($V_{Teórico}$) a partir del patrón 0,5 de la escala de McFarland.

$$\%\ sesgo = Abs\left|\frac{V_{Experimental} - V_{Teorico}}{V_{Experimental}}\right| \times 100$$

Se aceptan % de sesgo ≤15% para recuentos en placa, sin embargo, para métodos de fermentación de tubos múltiples y Colilert (ej. 9221B, E y 9223B), se requiere que el valor experimental del NMP debe encontrarse dentro del intervalo de confianza al 95 % del valor obtenido en el valor teórico.

4.1.6. MATRIZ FORTIFICADA DE LABORATORIO (MFL): Es una muestra de laboratorio que simula una matriz específica, y a la cual se le ha añadido una concentración conocida de analitos de interés. Esta muestra se utiliza para evaluar el rendimiento del laboratorio y la capacidad del método de análisis para medir con precisión y recuperar los analitos en condiciones que imitan de cerca las características de la muestra real.

El porcentaje de recuperación se calcula como:

$$\%Recup = \left|\frac{[MFL] \times \left(V_{spike} + V_{muestra}\right) - [M] \times V_{muestra}}{[Spike] \times V_{spike}}\right| \times 100$$

Donde:
[MFL]: Concentración de MFL
V_{spike}: Volumen adicionado
$V_{muestra}$: Volumen de muestra
[M]: Concentración de muestra
[spike]: Concentración del adicionado

Se aceptan recuperaciones que estén comprendidos entre el 70 % y 130 %, sin embargo, estos deben ser establecidos en la verificación de los métodos.

En microbiología la matriz fortificada de laboratorio (LFM), pueden utilizarse ante sospechas de interferencia de la matriz, se procesa y analiza exactamente como una muestra, y su propósito es determinar si la metodología está controlada y si el laboratorio es capaz de realizar mediciones precisas.

$$\%R = \frac{X\ muestra\ inoculada}{X\ cepa + X\ muestra} x\ 100$$

4.1.7. DUPLICADO DE MUESTRA / DUPLICADO DE MATRIZ FORTIFICADA DE LABORATORIO (DMFL): Las muestras duplicadas se analizan aleatoriamente para evaluar la precisión de forma continua. Un duplicado es una segunda porción que se analiza simultáneamente con la muestra o con el fortificado. Se sugiere realizar el duplicado del fortificado de la muestra que tenga más volumen y no se debería realizar duplicado de esta misma muestra.

La precisión de medida se determina a través de la desviación porcentual relativa

$$\%RPD = \frac{|resultado\ muestra - resultado\ duplicado|}{\left(\frac{resultado\ muestra - resultado\ duplicado}{2}\right)} \times 100$$

Se aceptan RPD de hasta el 20 %, sin embargo, esto debe ser establecidos en la verificación de los métodos.

Para la evaluación de la precisión de los análisis microbiológicos, se aplicará el procedimiento adaptado del Standard Methods 9020, sección 8.b, es importante distinguir entre las distintas matrices de análisis (agua potable, aguas residuales, aguas superficiales o subterráneas), ya que los datos provenientes de diferentes matrices no deben combinarse en los cálculos de precisión.

Se utilizarán los resultados de las 15 muestras positivas anteriores de una matriz específica para calcular un promedio móvil. Este enfoque permite una evaluación continua del desempeño analítico del laboratorio y facilita la identificación de desviaciones sistemáticas o variabilidad excesiva asociada al método, analista o condiciones operativas.

Paso 1: Registre los resultados de los análisis de duplicados (estos resultados se designan aquí como D1 y D2).

Paso 2: Calcule el logaritmo (aquí designado como L1 y L2) de cada resultado duplicado.

$$L1 = LogD1$$

$$L2 = LogD2$$

Nota: Si alguno de los valores D1 o D2 es menor que 1, sume 1 a ambos valores antes de calcular los logaritmos.

Paso 3: Calcule el rango de logaritmos (R_{log}) para cada par de duplicados (es decir, L1 y L2).R_{log} es igual al valor absoluto de la diferencia entre los dos números.

$$Rlog = |L1 - L2|$$

Paso 4: Calcule la media de R_{log} ($\underline{R}$) de los duplicados analizados.

$$\underline{R} = \sum \frac{Rlog}{n}$$

La media del rango de logaritmos es igual a la suma de los rangos de logaritmos dividida entre el número de pares de duplicados.

$\sum R_{log}$ = suma de los rangos de logaritmos calculados para cada par de duplicados.

n = número de pares de duplicados (en este caso, n = 15).

Paso 5: Evaluar la precisión de los análisis de duplicados. Para que el laboratorio demuestre un nivel de precisión aceptable, el rango de logaritmos de un duplicado en particular debe ser menor que la media del rango de logaritmos multiplicada por 3,27.

$$Rlog =\leq 3.27\underline{R}$$

El rango de logaritmos del conjunto actual de duplicados debe ser menor o igual a 3,27 multiplicado por la media de los rangos de logaritmos anteriores. Si no se cumplen los criterios de precisión determinados, existe una probabilidad del 99 % de que la variabilidad del laboratorio sea excesiva, esto significaría que el laboratorio debe determinar el problema analítico, resolverlo y repetir el estudio de precisión.

Realizar mediciones de precisión para análisis replicados de MPN de manera similar, aplica para métodos de fermentación de tubos múltiples y Colilert (ej. 9221B E y 9223B). Se deben realizar los duplicados al menos por lote o corrida analítica.

4.1.8. ESTÁNDAR INTERNO: Los estándares internos son esenciales en varios análisis orgánicos y metódicos, como GC/MS, HPLC, LC/MS, GC, IC y análisis de metales mediante ICP-MS. Estos estándares únicos se añaden a cada muestra para monitorear y cuantificar analitos de interés. Deben imitar a los analitos, no interferir y tener propiedades cromatográficas específicas. Se utilizan para controlar el tiempo de retención, calcular la respuesta relativa y cuantificar analitos. En caso de resultados incontrolados, se deben tomar medidas correctivas, incluyendo el reanálisis si es necesario, según el método y sus estándares internos específicos.

4.1.9. ESTANDARIZACIÓN DE AGENTES TITULANTES: Cuando se trabaje métodos volumétricos, el analista debe valorar o estandarizar la solución titulante el mismo día y en forma previa a la lectura de muestras. Si el mismo día se va a procesar posteriormente otro lote de muestras, ya no es necesario volver a valorar el titulante siempre y cuando esta solución sea manejada siguiendo las condiciones descritas en el instructivo de ensayo.

4.1.10. CURVAS DE CALIBRACIÓN: Para pruebas que utilizan curvas de calibración, se proporciona la siguiente orientación.

a. Calibración del Instrumento: Realizar mantenimiento y calibración del instrumento según las instrucciones del método o del manual del instrumento. La calibración inicial debe abarcar concentraciones específicas y asegurarse de que el rango de calibración incluya los valores esperados en las muestras.

b. Calibración Inicial: Realizar la calibración inicial utilizando al menos 3 concentraciones de estándares para curvas lineales, al menos 5 concentraciones de estándares para curvas no lineales, o según lo especificado por el método utilizado.

c. Verificación de la Calibración: Confirmar periódicamente que el rendimiento del instrumento no ha cambiado significativamente desde la calibración inicial. Evaluar la verificación de calibración basándose en desviaciones permitidas de los valores iniciales o de puntos específicos en la curva de calibración.

4.1.11. GRÁFICOS DE CONTROL: Los gráficos de control, también conocidos como cartas de control o diagramas de control, son herramientas estadísticas utilizadas en el control de calidad para monitorear y visualizar el rendimiento de un proceso a lo largo del tiempo. Estos gráficos se utilizan para detectar patrones, tendencias o puntos atípicos que puedan indicar variabilidad no deseada en el proceso. Véase el procedimiento "P-7.7-02: ELABORACIÓN DE GRÁFICOS O CARTAS DE CONTROL".

4.2. DEMOSTRACIÓN INICIAL DE LA COMPETENCIA

Cada analista en el laboratorio debe realizar una demostración inicial de capacidad al menos una vez antes de analizar cualquier muestra para demostrar competencia en la realización del método y obteniendo resultados aceptables para cada analito.

En la demostración inicial de la competencia el analista debe obtener resultados satisfactorios para, como mínimo un blanco de reactivo y al menos 4 BFL que se encuentren dentro del intervalo de medición del método. Seguir los lineamientos establecidos en el procedimiento "P-6.2-01: GESTIÓN DEL PERSONAL DE LABORATORIO", y dejar evidencia en "R-6.2-05: CERTIFICACIÓN DE COMPETENCIA ANALÍTICA".

4.3. DEMOSTRACIÓN CONTINUA DE LA COMPETENCIA

El personal analista del laboratorio debe realizar los ensayos analíticos aplicando los controles de calidad de manera rutinaria de acuerdo con los que sean exigidos por el método que se realice.
Estos controles de calidad rutinarios se deben ejecutar por cada lote de muestras analizados. *"Un lote se define como un conjunto o grupo de muestras que se analizan en conjunto y no puede ser superior a 20"*.

NOTA: Los BFL que se analizan durante el ensayo de muestras, deben ser preparados a partir de MRC diferentes a los utilizados en la calibración y/o verificación inicial (segunda fuente).

4.4. ENSAYOS DE APTITUD

Adicionalmente, el aseguramiento de la validez de los resultados se debe realizar mediante comparaciones con otros laboratorios a través de la participación en ensayos de aptitud, así mismo, son considerados como una prueba al seguimiento de la competencia de los analistas. Cuando se obtienen resultados de análisis insatisfactorios o cuestionables en los ensayos de aptitud, se debe gestionar el respectivo trabajo no conforme según lo establecido en “P-MJ-05: CONTROL DEL TRABAJO Y/O SERVICIO NO CONFORME”.

Se considera que, si el laboratorio garantiza el aseguramiento de la validez de los resultados en los ensayos de aptitud, inherentemente, el personal analista que tuvo resultados satisfactorios a dichos ensayos de aptitud demuestra su competencia.

4.5. OTROS CRITERIOS DE CALIDAD

4.5.1. MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS: Estos deben tener trazabilidad metrológica al Sistema Internacional (SI), los fabricantes de MRC deben cumplir con los requisitos de la norma ISO 17034. Ver documento “D-6.6-02: PRODUCTOS Y SERVICIOS SUMINISTRADOS EXTERNAMENTE”.

4.5.2. AGUA GRADO RACTIVO: Uno de los aspectos más importantes del análisis es la preparación del agua grado reactivo utilizada para los blancos y las soluciones. El agua grado reactivo es agua sin una concentración detectable del analito a analizar (es decir, está por debajo del nivel de detección del método analítico). El agua grado reactivo también debe estar libre de sustancias que interfieran con los métodos analíticos. El laboratorio debe preparar agua grado reactivo a partir de uno de los siguientes métodos: (1) destilación, (2) osmosis inversa o (3) intercambio iónico.

4.5.3. CALIBRACION DE LOS EQUIPOS DE MEDICIÓN: Se refiere a la verificación de la precisión y exactitud documentada de un equipo de medición al compararse contra un dispositivo de referencia trazable al SI. Ver procedimiento “P-6.4-01: CONTROL DE EQUIPAMIENTO”.

4.5.4. COMPROBACIONES FUNCIONALES DEL EQUIPAMIENTO DE ENSAYO: El correcto desempeño de los equipos de medición se comprueba mediante pruebas

de calificación realizadas por personal externo al laboratorio. Estas calificaciones se realizan a intervalos de tiempo planificados por la coordinación del laboratorio.

4.5.5. COMPROBACIONES INTERMEDIAS EN LOS EQUIPOS DE MEDICIÓN: Se refiere a la evaluación periódica de un equipo de medición para asegurar su precisión y confiabilidad durante el uso continuo. Ver procedimiento "P-6.4-02: VERIFICACIONES INTERMEDIAS".

4.5.6. REENSAYOS DE MUESTRAS CONSERVADAS: Se refiere al análisis repetido de muestras que ya fueron procesadas anteriormente. Solo aplica para las muestras conservadas y que cumplan con el tiempo máximo para su análisis.

4.5.7. ENSAYOS DE MUESTRAS CIEGAS: Se refiere a BFL preparados internamente en el laboratorio por el director(a) Técnico o Calidad y/o Jefe de Área, cuya concentración es desconocida para el analista.

En los ensayos microbiológicos la muestra a ciegas consiste en un inóculo preparado o una contramuestra previamente analizada, la cual se analiza sin que el analista conozca su contenido. Esta práctica se realiza cada 3 meses y permite evaluar la competencia del personal y el desempeño de los equipos en actividades como recuento, asegurando así la objetividad, reproducibilidad y detección temprana de posibles desviaciones en el área.

NOTA: La evidencia de ensayos de muestras ciegas y reensayos de muestras se registra en "R-6.2-07: SEGUIMIENTO DE LA COMPETENCIA DE LOS ANALISTAS Y ENSAYOS FISICOQUIMICOS".

4.6. SEGUIMIENTO EN AUDITORIAS

Cuando se realicen ejercicios de auditoría interna o externa, y los analistas hagan el atestiguamiento de los ensayos, esto es equivalente a un seguimiento del personal por tanto se podría dejar en "R-6.2-07: SEGUIMIENTO DE LA COMPETENCIA DE LOS ANALISTAS Y ENSAYOS FISICOQUIMICOS" para análisis fisicoquímicos.

Cuando se obtienen resultados de análisis insatisfactorios en actividades de seguimiento, se debe gestionar el respectivo trabajo no conforme según lo establecido en "P-MJ-05: CONTROL DEL TRABAJO Y/O SERVICIO NO CONFORME".

4.7. DILUCIONES

Con frecuencia, los analistas deben diluir o concentrar la cantidad de un analito en una porción estándar o de muestra para que se encuentre dentro de un rango adecuado para el método analítico utilizado, lo que permite realizar el análisis con la precisión especificada.

Los factores de dilución para múltiples diluciones volumétricas se calculan como el producto de las diluciones individuales. En general, la dilución máxima permitida es de 1/100, es decir, 1 mL de muestra en un volumen final de 100 mL.

En los casos que la concentración de una muestra se encuentra por fuera del intervalo de medición de un método, y el analito de interés no permite realizar una dilución, se puede tomar un menor de volumen de muestra para su análisis. En general, el volumen mínimo permitido para un análisis (siempre que sea permitido) es de 1/10, es decir, si inicialmente se necesitan 100 mL de muestra, lo mínimo que se podría utilizar es 10 mL.

NOTA: el criterio del volumen mínimo de muestra utilizado en el desarrollo de una metodología analítica debe ser definido en la respectiva verificación y/o validación del método.

5. CORRELACION DE LAS DE LAS DIFERENTES CARACTERISTICAS DE UN ITEM EN MICROBIOLOGIA.

La cláusula 7.7 de la norma ISO/IEC 17025:2017 establece los requisitos para el seguimiento de la validez de los resultados de ensayos mediante diversas actividades o controles. La correlación de resultados entre diferentes características de un ítem puede proporcionar información valiosa para este seguimiento. Algunos ejemplos que podrían aplicarse en el área de microbiología son:

- **Concentración de cloro residual y conteo de bacterias heterótrofas en agua:** El cloro actúa como desinfectante, por lo que un nivel adecuado de cloro residual debería correlacionarse con un menor conteo de bacterias heterótrofas.

- **Coliformes Totales (CT), Coliformes Termotolerantes (CF) y *E. coli* (EC):** Al ser grupos de microorganismos relacionados, se esperan resultados en el siguiente orden: CT ≥ CF ≥ EC.
- **Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Coliformes Totales:** Un valor alto de DBO generalmente indica una mayor carga de materia orgánica que puede ser utilizada por los microorganismos, incluyendo coliformes.
- **Temperatura de almacenamiento y crecimiento de bacterias:** La temperatura de almacenamiento afecta directamente el crecimiento de bacterias. Con temperaturas más altas o fuera del rango de control se esperaría un mayor conteo de microorganismos.
- **Turbidez del agua, solidos suspendidos y carga microbiológica (Mesófilos, Coliformes):** Un aumento en la turbidez del agua puede indicar mayor presencia de materia orgánica o partículas en suspensión, lo cual puede correlacionarse con mayor crecimiento microbiano.
- **Heterótrofos ≥ CT ≥ CF ≥ *E. coli***: se refiere a una jerarquía microbiológica basada en la naturaleza y el nivel de especificidad de los grupos de microorganismos que se analizan en agua.
- **Conductividad eléctrica y actividad microbiológica en aguas residuales:** En ciertos sistemas, el metabolismo microbiano puede liberar iones al medio, aumentando la conductividad. Una variación significativa en la conductividad puede indicar crecimiento microbiano o fermentación activa.
- **Reducción de nitratos a nitritos y actividad microbiana:** Ciertas bacterias, como la familia *Enterobacteriace*ae, son capaces de reducir nitratos a nitritos. Este cambio químico puede indicar contaminación o proliferación microbiana no deseada.
- **Cambios sensoriales (olor, color, textura) y carga microbiana:** Aunque cualitativos, los cambios sensoriales notables suelen coincidir con una alta carga microbiana.
- **Formación de biofilm y presencia de *Pseudomonas* spp.:** La presencia de *Pseudomonas* spp. está fuertemente asociada a entornos donde hay formación de biofilm (estructuras microbianas adheridas a superficies que le permiten resistir desinfectante y estrés ambiental), como tuberías o líneas de agua de lavamanos o duchas, esta relación es clave porque puede explicar presencia persistente de Pseudomonas pese a la desinfección.
- ***Pseudomonas* spp. y coliformes:** *Pseudomonas* spp. y los coliformes (totales, fecales o *E. coli*) son bacterias que difieren significativamente en su origen, comportamiento ambiental y resistencia a los desinfectantes: los coliformes generalmente se comportan como indicadores de contaminación fecal (especialmente *E. coli*), por lo tanto, su presencia está asociada a fuentes entéricas recientes, en contraste, *Pseudomonas* spp. son bacterias ambientales, comunes en agua, suelos, biofilms y sistemas de distribución de agua, no necesariamente indica contaminación fecal. Los coliformes son relativamente sensibles al cloro y otros desinfectantes. En condiciones de

desinfección efectiva, desaparecen rápidamente, en cambio, *Pseudomonas* spp. tiene alta resistencia al cloro, especialmente cuando está protegida en biofilm. Puede sobrevivir y multiplicarse incluso después de la cloración, especialmente si hay materia orgánica o estructuras donde refugiarse.

- **Heterótrofos ≥ *Pseudomonas* spp:** Los heterótrofos representan la población total de bacterias que crecen en medios generales, incluyendo a *Pseudomonas* spp. como un subgrupo específico. Por ello, bajo condiciones normales, el recuento de heterótrofos debe ser igual o mayor al de *Pseudomonas* spp.

Estas correlaciones sirven como herramientas complementarias para detectar anomalías o decidir si se requiere repetir una prueba, en resumen:

Relación	**Variables involucradas**	**Correlación esperada**	**Justificación**
Cloro residual Vs. Bacterias heterótrofas	Cloro (mg/L) Vs. Recuento heterótrofos (UFC/100mL)	Negativa	Más cloro → Menos bacterias
CT ≥ CF ≥ *E. coli*	Coliformes Totales **≥** Termotolerantes **≥** *E. coli.* (UFC/100 mL, NMP/100 mL)	Directa, ordenada	Subgrupos relacionados
DBO Vs. Coliformes Totales	DBO_5 (mg/L) **Vs.** Coliformes Totales (UFC/100 mL, NMP/100 mL)	Positiva	Más orgánico → más microbios
Temperatura Vs. Recuento microbiano	°C **Vs**. UFC/100 mL, NMP/100 mL	Positiva	Más calor → más crecimiento
Sólidos suspendidos, Turbidez vs. Recuento microbiano	SST (mg/L), NTU **Vs.** UFC/100 mL, NMP/100 mL	Positiva	Más partículas → más turbidez

Heterótrofos ≥CT ≥ CF ≥ *E. coli*	Heterótrofos **≥** Coliformes Totales **≥** Termotolerantes ≥ E. *coli.* (UFC/100 mL, NMP/100 mL)	Directa, ordenada	Subgrupos relacionados
Conductividad eléctrica vs. Recuento microbiano	µS/cm **Vs.** UFC/100 mL, NMP/100 mL	Positiva	Más crecimiento → aumento de la conductividad
Nitritos Vs. Recuento microbiano	NO_3 (mg/L) **Vs.** UFC/100 mL, NMP/100 mL	Positiva	Más crecimiento → más nitritos
Cambios sensoriales (color) vs. Recuento microbiano:	UC (Unidad de Color) **Vs**. UFC/100 mL, NMP/100 mL	Positiva	Más color → más crecimiento
Formación de biofilm y presencia de *Pseudomonas* spp.	Indicadores de biofilm (superficies) **Vs.** Detección o recuento de *Pseudomonas spp.*	Positiva	Presencia de *Pseudomonas* spp.→ Presencia de Biofilm.
***Pseudomonas spp.* ≠, ≤ o ≥ Coliformes**	*Pseudomonas spp.* **≠, ≤** o **≥** Coliformes Totales**.** *E. coli.* (UFC/100 mL ,NMP/100 mL)	Independiente o inversa	Recuento de *Pseudomonas spp.* **≤** o **≥** recuento de coliformes (viceversa) Presencia o recuento de *Pseudomonas spp.* ≠ Presencia o recuento de coliformes

			Ausencia de *Pseudomonas spp.* ≠ Ausencia de coliformes
Heterótrofos ≥ *Pseudomonas spp.*	Heterótrofos **≥** *Pseudomonas spp.* (UFC/100 mL)	Directa, ordenada	Subgrupos relacionados

6. JUSTIFICACION PARA REENSAYO Y/O REPETICION EN MICROBIOLOGIA.

La repetición consiste en la reiteración del análisis microbiológico utilizando la misma muestra original, y se realiza únicamente cuando se presentan anomalías técnicas durante el ensayo inicial. Esta acción solo es válida si la muestra no ha superado el tiempo máximo permitido entre su recolección y análisis, establecido en: 30 horas para agua potable con fines de conformidad, y 24 horas para otros tipos de agua sin fines normativos, para agua no potable con fines de conformidad se realizará reensayo puesto que el límite de tiempo máximo permitido es de 10 horas siendo un tiempo inferior al tiempo de incubación requerido en los análisis microbiológicos. Las causas que justifican la repetición incluyen:

- **Resultados que exceden los límites de las cartas control:** Estos indican una posible señal de variabilidad no atribuible al comportamiento normal del sistema analítico.
- **No hay correlación coherente entre diferentes características de un mismo ítem desde el punto de vista técnico:** es decir, cuando los resultados obtenidos presenten inconsistencias que no puedan ser justificadas según el comportamiento esperado del material o del sistema analizado.
- **Incumplimiento en los controles del ensayo:** Ausencia de crecimiento en el control positivo y/o contaminación del control negativo.
- **Interrupciones operacionales o eventos no planificados que afectan el desarrollo normal del proceso:** Tales como el corte de suministro eléctrico durante la incubación y fallas en el funcionamiento de equipos críticos (por ejemplo, incubadoras).

- **Cuando se solicita un recuento dentro del rango contable del método** (asociados a placas y/o bandejas no cuantificables): Si en la primera aplicación de diluciones a la muestra original los resultados se encuentran fuera de los límites contables establecidos por el método analítico, se justifica la repetición del análisis conforme al procedimiento. El reensayo se refiere a la repetición del análisis microbiológico utilizando una nueva muestra perteneciente al mismo punto de muestreo original. Este procedimiento se justifica únicamente bajo las siguientes circunstancias:
- **Incidente operativo documentado:** Hace referencia a situaciones como derrames o manipulación inadecuada de la muestra original que puedan comprometer su integridad, siempre que estos eventos sean debidamente registrados y justificados.
- **Superación del tiempo máximo de conservación permitido:** Siempre que exista una justificación técnica válida para repetir el análisis, pero la muestra original exceda el tiempo límite establecido para su procesamiento.

Tanto la repetición como el reensayo deberán ser documentados y debidamente justificados conforme a lo establecido en el procedimiento P-MJ-05 de CONTROL DEL TRABAJO Y/O SERVICIO NO CONFORME. Se exceptúan aquellos casos en los que se solicite un recuento dentro de los límites de aceptación establecidos para agua potable con fines de conformidad, y para otros tipos de agua sin fines normativos, dado que no se identifica una desviación técnica directa que comprometa la validez de los resultados.

7. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Resolución	Versión	Detalle
24/11/2023	300-03-10-23-2554	01	Aprobación inicial con código y nombre "D-7.7-02: ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS" en el Sistema de Gestión de Calidad del Laboratorio de Análisis de Aguas.
09/07/2025	100-03-10-23-1338	02	Se incorporaron parámetros específicos para el área de microbiología, tales como el porcentaje de sesgo y la evaluación de la precisión de los análisis microbiológicos.
07/11/2025	100-03-10-23-2291	03	Se incluye ítem 5 y 6 referente a la correlación de resultados para las diferentes características de un ítem y justificación para reensayo y/o repetición en microbiología respectivamente, adicionalmente se incluye el ítem 4.5.7 referente a ENSAYOS DE MUESTRAS CIEGAS un párrafo donde se especifica la frecuencia de aplicación cada 3 meses para ensayos microbiológicos.

Última línea-------última línea------última línea