

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

## 1. Objeto

Establecer los valores de los parámetros que servirán para el aseguramiento de la validez de los resultados emitidos por el Centro de Calidad de Aguas.

## 2. Alcance

Aplica para todos los controles de calidad que aseguren la validez de los resultados emitidos por el Centro de Calidad de Aguas.

## 3. Referencias Normativas

- Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 1020 Quality assurance In: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. 24th ed. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press; 2023.
- American Society for testing Materials ASTM 1193:2011. Standard Specification for reagent water.
- Dry and safe. Drying agents from Merck Millipore. Brochure Sílica Merck Millipore. 2013
- Manual del sistema de gestión de calidad de los laboratorios de ensayo.
- Métodos analíticos adecuados a su propósito. Desarrollado por Eurachem. Primera edición 1998.
- Instructivo General aseguramiento de la calidad de los resultados. Gestión de Tecnología de Negocio. Centro de Innovación y Tecnología. Departamento de Servicio Técnico de Laboratorio de Transporte y Transversales. Laboratorio de Aguas y Suelos. Instituto Colombiano del Petróleo.
- USEPA. 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. Fifth Edition. Office of Water, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460.

## 4. Definiciones

- **Analito:** El elemento, compuesto o componente que se analiza, que debe ser recuperada, detectada o cuantificada por el método.
- **Aseguramiento de la Calidad:** Plan definitivo para las operaciones de laboratorio que especifica las medidas utilizadas para producir datos con precisión y sesgo conocidos.
- **Blanco de reactivo:** Solución en la cual están todos los componentes requeridos en la reacción excepto el analito de interés.
- **Carta de Control:** Es un registro gráfico que muestra los resultados de los controles de calidad a lo largo del tiempo para demostrar el control estadístico de un proceso analítico y para detectar cambios aparentes en el proceso analítico que pueden erosionar dicho control.
- **Control de Calidad:** Conjunto de medidas que, según una metodología de análisis de muestras, aseguran que el proceso se encuentra bajo control.
- **Duplicado:** normalmente, número mínimo de réplicas (dos), aunque en casos, específicos se refiere a las muestras duplicadas, es decir, dos muestras tomadas en el mismo instante en un lugar concreto.
- **Ensayo:** Operación técnica realizada de acuerdo con un procedimiento específico, que consiste en la determinación cualitativa y/o cuantificación de una o más características (propiedades o analitos) en un determinado producto, proceso o servicio.
- **Error aleatorio:** desviación en cualquier fase de un procedimiento analítico que puede tratarse mediante técnicas estadísticas estándar.
- **Estándar de control de laboratorio:** estandar, normalmente certificado por un organismo externo, utilizado para medir el sesgo en un procedimiento, para ciertos componentes y matrices, utilícense los materiales de referencia estándar (Standard Reference Materials) del National Institute of Standards and Technology (NIST), cuando se encuentren disponibles.

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

- **Evaluación de la calidad:** procedimiento para la determinación de la calidad de las medidas de laboratorio mediante el empleo de datos a partir de las medidas de control de calidad externas e internas.
- **Exactitud:** es el grado de aproximación entre el valor obtenido experimentalmente y el valor real o aceptado; normalmente se expresa en términos de error. Se tendrán como referencia las soluciones preparadas en el laboratorio o un patrón externo certificado.
- **Intervalo de aceptación:** conjunto de posibles valores en los que el valor verdadero estará comprendido con un grado específico de probabilidad.
- **Límite de aceptación:** cada uno de los valores frontera que definen el intervalo de aceptación.
- **Material de referencia certificado:** material de referencia acompañado de un certificado, en el que una o más de sus propiedades está certificada por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresa dicha propiedad, y para el que cada valor certificado está asociado a una incertidumbre con un intervalo de confianza determinado.
- **Matriz fortificada:** es una porción adicional de una muestra a la que se agrega una cantidad conocida de analito de interés para la preparación de la muestra. Se usa para evaluar la recuperación del analito en una matriz de muestra.
- **Muestra:** materia objeto del análisis, sometida a un método analítico. Porción de un sistema destinada a proveer información sobre el mismo.
- **No conformidad:** incumplimiento de un requisito.
- **Precisión:** indica el grado de concordancia entre los resultados obtenidos para réplicas de una misma muestra, aplicando el mismo procedimiento experimental, bajo condiciones prefijadas, expresada en términos de coeficiente de variación.
- **Rango:** La diferencia de los valores más grande y pequeño en una operación.
- **Recuperación:** es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra, y se expresa como porcentaje de recuperación.
- **Repetibilidad:** es una medida de la precisión de datos obtenidos por un solo operador, trabajando siempre bajo las mismas condiciones (equipos, materiales y reactivos).
- **Precisión intermedia:** es una medida de la precisión de datos obtenidos entre dos o más analistas y/o laboratorios que utilizan el mismo método y similares condiciones.
- **RPD:** Porcentaje de Diferencia Relativa.
- **Sesgo:** Desviación consistente de valores medidos a partir del valor verdadero, originada por errores sistemáticos durante un procedimiento.
- **Verificación:** Confirmación mediante examen y aportes de evidencia objetiva de que se han cumplido requisitos especificados

## 5. Condiciones Generales.

El control de los resultados requiere que se garantice su calidad al confirmar la validez de los datos analíticos, a través de la aplicación de acciones que permitan eliminar o reducir los errores que pueden producirse durante las operaciones realizadas, y a su vez conocer y producir datos con precisión y sesgos conocidos. Los errores que se presenten, pueden deberse al personal, al instrumental empleado, a los equipos, a los suministros, a los procedimientos de toma de muestras o a la metodología utilizada. El programa de aseguramiento de la validez de resultados deber ser claro, práctico e integral, y debe estar documentado en formatos controlados.

## 6. Contenido

El aseguramiento de la validez de los resultados de ensayo, se lleva a cabo mediante una o varias de las actividades relacionadas a continuación:

### 6.1 Uso de estándares o material de referencia certificado.

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

- Analizar soluciones estándar de calibración preferiblemente trazables a NIST, con una concentración entre 5 y 50 veces la MCC (Mínima Concentración Cuantificable del Método), para así garantizar la confiabilidad de los análisis y verificar que el método está bajo control.
- Analizar blancos fortificados o soluciones de referencia de concentración conocida del analito. Realizar el análisis de blancos fortificados o soluciones de referencia de concentración conocida del analito en cada corrida de análisis, siguiendo el instructivo de referencia.
- La **exactitud** se evalúa mediante el cálculo del porcentaje de error. Para muestras de aguas debe ser  $\leq 10\%$ .
- La **precisión** se evalúa mediante el análisis de soluciones de referencia o blancos fortificados, usando el cálculo del coeficiente de variación el cual debe ser inferior al 10% para aguas.
- Para la verificación de la MCC como control rutinario de calidad, el criterio de aceptación es  $\pm 50\%$  de error; excepto en el análisis de Surfactantes Aniónicos, donde el criterio aceptado para la verificación de la MCC es del 25%.

## 6.2 Uso de muestras reales.

- Analizar los efectos de matriz, mediante adiciones conocidas de los analitos a muestras de aguas. Realizar la adición conocida entre 5 y 50 veces la MCC, o entre 1 y 10 veces el nivel ambiental.
- La **exactitud** se evalúa mediante el análisis de muestras reales fortificadas, calculando el porcentaje de recuperación, el cual debe estar en el rango de 80-120% para aguas.
- La **precisión** se evalúa mediante el análisis de muestras reales fortificadas y calculando el coeficiente de variación, el cual debe ser inferior al 10% para aguas.
- Para el análisis de DBO<sub>5</sub>, se debe tener en cuenta el criterio de precisión y exactitud estipulado en el instructivo del método, basados en los resultados estadísticos del centro de Calidad de aguas.

## 6.3 Programa de chequeo interlaboratorios.

Este programa suministra al centro de aguas una herramienta estadística de aseguramiento de la calidad, y le permite comparar su desempeño frente a otros laboratorios nacionales y/o internacionales sobre una misma muestra. El programa se lleva a cabo teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

**Responsables:** profesional responsable del Centro de Calidad de Aguas.

**Frecuencia:** la frecuencia se encuentra sujeta a los programas que las entidades nacionales y/o internacionales establezcan y ofrezcan anualmente.

**Muestras:** las muestras seleccionadas son enviadas por entidades nacionales y/o internacionales a cada uno de los laboratorios participantes.

**Método de análisis de la reproducibilidad:** las entidades nacionales y/o internacionales realizan un análisis estadístico de la reproducibilidad de los métodos a través del cálculo de la Media Robusta y la Desviación Estándar Robusta. Los parámetros estadísticos utilizados son: desviación estándar de los datos y el Factor Z, que es la relación de la desviación del dato con respecto a la desviación estándar de los datos.

**Pruebas:** las entidades nacionales y/o internacionales ofrecen un listado de pruebas en las que se puede participar. El responsable del laboratorio realiza la selección de acuerdo con las metodologías que el Centro de Aguas tenga implementadas y controladas.

**Información:** las entidades nacionales y/o internacionales suministran sus propios formatos para la emisión de la información completa con respecto al programa y a las muestras enviadas, los cuales constan de la siguiente información:

- Identificación de la muestra.
- Fecha de vencimiento para la entrega de resultados.
- Identificación del laboratorio.
- Análisis.
- Métodos.

|  |  |                    |  |                        |
|--|--|--------------------|--|------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                        |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                        |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 4 de 18 |

- > Resultados.
- > Comentarios.

**Reporte:** la información de los resultados se envía por correo certificado y/o vía e-mail, en el correspondiente formato enviado por las entidades nacionales y/o internacionales, con las muestras.

**Archivos:** los reportes recibidos son fotocopiados y archivados en el Centro de Calidad de Aguas.

**Acciones correctivas:** en el caso de que algunos de los resultados de un análisis sean rechazados o estén por fuera del factor Z permitido ( $-2 < Z < 2$ ), se sigue el procedimiento de acciones correctivas y preventivas establecido en el sistema de gestión de calidad de la Universidad de los Llanos.

#### 6.4 Competencia técnica del analista.

Al ingresar un analista al laboratorio, debe demostrar su competencia en la realización de análisis, mediante capacitación teórico-práctica, realizando la repetibilidad con mínimo siete réplicas a una solución de referencia de concentración conocida y una muestra problema empleada para análisis rutinarios, siguiendo el instructivo del método analítico en el cual se esté capacitando.

La información generada se registra en el FO-GAA-198 Formato de repetibilidad y precisión intermedia de pruebas de laboratorio, el cual contiene lo siguiente:

- > Parámetro
- > Fecha
- > Norma/Procedimiento
- > Equipos
- > Reactivos
- > Código de la muestra
- > Analista
- > Tipo de muestra
- > Número de ensayos
- > Resultados
- > Media
- > Desviación Estándar
- > Coeficiente de Variación o Desviación Estándar relativa
- > Observaciones

#### 6.5 Control del agua grado reactivo.

La calidad de agua grado reactivo se mide mediante los análisis de Conductividad y pH. Para este fin, el analista debe realizar las mediciones cuando se realice un análisis y registrar los datos obtenidos en las bitácoras del equipo. Los valores de referencia de calidad se registran en la tabla 1:

**Tabla 1. Valores de referencia de calidad del agua grado reactivo (ASTM 1193: 2011)**

| Clasificación ASTM 1193-11 | Descripción/Uso  | Conductividad máxima $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C | Resistividad mínima $\text{M}\Omega$ a 25°C | pH a 25°C |
|----------------------------|--|---|---|-----------|
| Agua Tipo I                | Usada en procedimientos que requieren máxima exactitud y precisión (espectrometría atómica, fotometría de llama) | 0.06  | 18  | *         |

|  |  |                    |  |                        |
|--|--|--------------------|--|------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                        |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                        |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 5 de 18 |

|                          |  |      |     |           |
|--------------------------|--|------|-----|-----------|
| Agua Tipo II             | Recomendada para la mayoría de pruebas analíticas y generales de laboratorio.                          | 1.0  | 1.0 | *         |
| Agua Tipo III            | Satisfactoria para algunas pruebas generales de laboratorio y preparación de soluciones de referencia. | 0.25 | 4.0 | *         |
| Agua Tipo IV o destilada | Sirve para la preparación de soluciones y para el lavado o enjuague de material de vidrio.             | 5.0  | 0.2 | 5.0 a 8.0 |

\*El pH no aplica para aguas con altas resistividades.

**Nota 1:** al preparar soluciones, en lo posible usar el mismo lote de agua (tipo II o destilada), cuando cambie, se debe tener en cuenta su influencia en los resultados, dado que cada lote puede tener un nivel diferente de contaminantes.

## 6.6 Control de la sílica gel desecante.

La sílica gel es utilizada como desecante en las pruebas gravimétricas, para optimizar su funcionalidad es necesario mantener la sílica gel activa.

Con el fin de verificar y controlar la capacidad de absorción de humedad, la sílica gel tiene un indicador de saturación de humedad, del cual existen dos clases: - Indicador naranja que cambia a incoloro e - Indicador marrón que cambia a amarillo.

Cuando se observen los cambios en la coloración de la sílica, es necesario regenerarla o activarla sometiéndola a una temperatura entre 105 – 140°C por un tiempo mayor a tres horas (asegurarse que la sílica ha sido totalmente activada observando el cambio en la coloración).

**Nota 2:** La sílica de indicador naranja no se debe calentar a temperatura mayor a 140°C porque puede alterar sus propiedades.

## 6.7 Curvas de Calibración.

Elaborar la curva de calibración con mínimo cinco puntos en la curva. Antes de cada análisis, verificar la curva de calibración mediante el análisis de un estándar o solución de referencia, tal como lo especifique el método individual.

Al elaborar la curva tener en cuenta:

- Indicar la secuencia de patrones en el equipo y seleccionar el tipo de ajuste lineal.
- Realizar cero con el solvente utilizado en el procedimiento (agua, cloroformo, hexano, etc, según el método).
- Pasar el blanco de la curva de calibración como primer punto de la curva de calibración y concentración cero (0.00) y leer la absorbancia, cuando aplique según método normalizado. En caso contrario, iniciar la curva en el valor de la Mínima Concentración Cuantificable (MCC).
- Leer la absorbancia de los demás patrones de la curva de calibración.
- Aceptar la curva de calibración si el coeficiente de correlación de la curva es  $\geq 0.995$ .
- Analizar una solución de chequeo de la curva, esta debe ser una solución de origen diferente a la usada para la elaboración de curva

Al elaborar una nueva curva de calibración se debe tener en cuenta:

- Comparar las absorbancias o voltajes obtenidos con las curvas anteriores.
- Comparar los valores de las pendientes y el punto de corte de la curva.
- Analizar una solución de chequeo de la curva, esta debe ser una solución de origen diferente a la usada para la elaboración de curva.
- Si la nueva curva de calibración falla en algún criterio, se debe realizar una nueva curva de calibración.

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

Para que la verificación de la calibración sea válida, verificar que los resultados de los estándares no excedan el 10% de su valor real, y los resultados del blanco de calibración no sean mayores que la mitad de la MCC. Comparar cada punto de calibración con la curva recalculando su concentración. Si alguna concentración recalculada no está dentro de los criterios de aceptación del método, identificar la fuente de los valores atípicos y corregir antes de la cuantificación de la muestra.

## 6.8 Rango de trabajo.

Todos los métodos de ensayo deben declarar el rango de trabajo. Este rango de trabajo debe contar con un límite inferior que corresponde al límite de cuantificación o Mínima Concentración Cuantificable (MCC) y un límite superior que es establecido por la linealidad de los métodos (si aplica) o por los datos históricos derivados del procesamiento de muestras.

- **Establecimiento y verificación del rango de trabajo**

**Límite inferior:** La mínima concentración cuantificable (MCC) que deriva de la verificación de la mínima concentración detectable (MCD) y es analizada siete (7) veces.

**Límite superior:** Determinado por el propósito del método y puede abarcar solo una parte de la totalidad de la línea recta. Usualmente, los criterios de aceptación implican evaluar la "bondad de ajuste". A menudo se emplea un coeficiente de correlación (r) elevado, como 0.99, como criterio de linealidad.

En métodos no lineales, el rango de trabajo se establecerá de acuerdo al histórico de los resultados de muestras, se preparará un blanco fortificado con el dato de mayor concentración y se verificará por siete (7) réplicas.

## 6.9 Seguimiento y control de reactivos

Todos los reactivos usados en el proceso de análisis de controles y muestras tales como los trazables a NIST y grado analítico son registrados en el formato de inventario de reactivos de laboratorio, el cual cuenta con una alerta de colores para el control de las fechas de vencimiento de cada reactivo: Verde para reactivos vigentes, amarillo para reactivos próximos al vencimiento y rojo para reactivos vencidos.

Para el procesamiento de controles y muestras es indispensable que los reactivos cuenten con fecha vigente, en dado caso que el reactivo no esté vigente se tendrá que evaluar la viabilidad del mismo mediante pruebas que demuestren que se puede usar, sin que este afecte los resultados de ensayo.

## 6.10 Análisis de muestras

Una vez establecida la curva de calibración, montar la secuencia de muestras a analizar en el equipo y realizar los siguientes pasos:

Realizar cero con el solvente utilizado en el procedimiento (agua, cloroformo, hexano, NaOH 0.4%, etc. Según el método).

- Determinar la concentración del blanco de reactivos.

**Nota 3:** el valor obtenido del blanco de reactivos debe ser inferior al límite de cuantificación del método (LCM), si se obtienen valores superiores se debe analizar otro blanco de reactivos, si este segundo blanco de reactivos se encuentra por encima del LCM, investigar y eliminar las fuentes de contaminación.

- Analizar las muestras de control (blanco fortificado, verificación de la curva, verificación de la MCC, muestra fortificada y/o duplicado de muestra o duplicado de muestra fortificada).

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

**Nota 4:** si los controles cumplen con los criterios especificados para uno, continuar, de lo contrario investigar y tomar las acciones según sea el caso.

- Continuar con las lecturas de la secuencia de muestras.
- Si al analizar las muestras se obtienen resultados superiores al valor de patrón de mayor concentración se debe volver a hacer el análisis haciendo una dilución a la muestra.

Los resultados analíticos reportados son aquellos comprendidos en la escala de las diluciones utilizadas. El valor inferior entregable es la mínima concentración cuantificable del método.

#### **6.11 Verificación de la calibración.**

Para confirmar que el rendimiento del instrumento no ha cambiado significativamente desde la calibración inicial, verificar periódicamente la curva de calibrado utilizando un estándar de la curva una vez por cada lote de muestras, cuya concentración se debe rotar de modo que cubran las diferentes partes del rango de calibración. Los resultados deben estar dentro del 10% de error; si el valor está fuera de control, repita el análisis, si la falla continua toma medidas correctivas, incluido un nuevo análisis de cualquier muestra analizada desde la última verificación aceptable y/o el montaje de una nueva curva de calibrado.

#### **6.12 Análisis de blancos reactivos.**

Analizar un blanco de reactivo cada vez que se realicen los análisis, después del estándar de calibración diario y después de muestras altamente contaminadas, si se sospecha un arrastre. Evaluar los resultados del blanco de reactivo para la contaminación. Si los valores del blanco de reactivos exceden los valores de la mínima concentración cuantificable, se sospecha contaminación de reactivos o del ambiente del laboratorio.

Se pueden identificar dos tipos de blancos:

- Blanco de la curva de calibración: es el primer punto de la curva de calibración y debe contener los mismos reactivos usados para preparar los estándares de la curva, excepto el analito de interés.
- Blanco de reactivos del laboratorio: debe contener todos los reactivos y en los mismos volúmenes que se usan en el proceso de preparación de las muestras.

Por lo general, los resultados de las muestras son sospechosos si la concentración del analito (s) en el blanco de reactivo es mayor que la MCC; la concentración del blanco debe ser  $< \frac{1}{2}MCC$ . Las muestras analizadas con un blanco contaminado se deben volver a analizar.

Los resultados de las muestras con respecto a la calidad del blanco del reactivo son aceptados si se cumplen las siguientes condiciones:

- Si el blanco de reactivo es menor que la MCC y los resultados de las muestras son mayores que la MCC.
- Si el blanco de reactivo es mayor que la MCC, pero menor que la MCC, y los resultados de las muestras son mayores que la MCC.

#### **6.13 Solución estándar para cartas de control (blanco de laboratorio fortificado).**

Analizar una solución estándar preparada como control con una concentración de al menos 10 veces la MCC, el punto medio de la curva de calibración o por debajo, o un nivel especificado por el método. Dependiendo de los requisitos de cada método, preparar la solución de la misma fuente de referencia utilizada para la curva de calibración o de una fuente independiente. Como mínimo, se debe incluir una carta de control con cada conjunto de 20 menos muestras. Evaluar los resultados mediante los gráficos de control; si los resultados están fuera de control, tomar medidas correctivas, incluida la preparación y el nuevo análisis de muestras asociadas si es necesario.

#### 6.14 Gráficos de control / cartas de control.

Para realizar la trazabilidad al proceso, se usa una herramienta para el control estadístico que consiste en valores graficados secuencialmente a lo largo del tiempo, e incluye una línea central, un límite de control superior e inferior que se denomina Gráfico de Control registrar los datos en el formato FO-GAA-310 Cartas de control y tendencias estadísticas.

#### 6.15 Análisis de matriz fortificada.

Agregar una concentración que sea al menos 10 veces la MCC, menor o igual al punto medio de la curva de calibración, o nivel especificado por el método, para la(s) muestra(s) seleccionada(s) para permitir que el analista separe el efecto de la matriz del rendimiento del laboratorio, y prepararla a partir de la misma referencia que se usó para la carta de control. Evaluar los resultados para el porcentaje de recuperación (80-120% para aguas; 70-120% para suelos); si no están dentro de los límites de control, tomar medidas correctivas para rectificar el efecto de la matriz. Por cada lote de 20 o menos muestras se debe analizar una muestra real fortificada.

#### 6.16 Análisis de duplicados de muestras/ duplicados de matriz fortificada.

Realizar análisis de muestras duplicadas y/o duplicados de matriz fortificada para evaluar la precisión del método. Por cada lote de 20 o menos muestras se debe realizar un duplicado y calcular la RPD (Porcentaje de diferencia relativa) para confirmar si se acepta o rechaza el duplicado. Si el instructivo técnico de ensayo indica otro criterio, este debe ser usado.

Cálculo del RPD (Porcentaje de diferencia relativa)

$$RPD = \left| \frac{X_1 - X_2}{\frac{X_1 + X_2}{2}} \right| * 100$$

Dónde:

X1 es el resultado de la muestra

X2 es el resultado del duplicado

Cuando los duplicados excedan los valores de RPD reportados en la tabla 2, repetir el duplicado.

**Tabla 2. Valores de RPD máximos permitidos**

| Unidades | RPD (%) |
|----------|---------|
| <1.0     | 15      |
| 1.0-1000 | 10      |
| >1000    | 5       |

#### 6.17 Análisis de una solución del orden de la MCC.

Con cada lote de muestras analizar una solución preparada con la concentración de la MCC establecida para método. El criterio de aceptación es de  $\pm 50\%$  de error; excepto en el análisis de surfactantes aniónicos donde el criterio es del 25%.

Verificar anualmente el valor de la MCC por duplicado, cuyos criterios de aceptación en este caso son precisión y exactitud  $\leq 10\%$ , y el porcentaje de diferencia relativa de acuerdo a los valores de la tabla 2.

#### 6.18 Correlación de resultado.

|  |  |                    |  |                        |
|--|--|--------------------|--|------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                        |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                        |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 9 de 18 |

En el Centro de Calidad de Aguas, se utiliza el cálculo del balance iónico y cálculo de relaciones de variables fisicoquímicas (por ejemplo: sólidos disueltos, conductividad) para correlacionar y verificar la consistencia de los resultados obtenidos en la caracterización de las aguas.

### 6.19 Verificación de resultados.

La verificación de resultados se realiza cuando los datos presentan desviaciones de las tendencias, cuando no se cumplen las ecuaciones de correlación, o cuando el cliente lo solicita. Las actividades que se realizan son:

- Revisión de los cálculos en información consignada en las bitácoras de trabajo del análisis y/o analista.
- Revisión del reporte de los resultados.
- Repetición del análisis para lo cual se debe:
  - ✓ Ser autorizados por el responsable del laboratorio, y/o profesional del área.
  - ✓ Registrar la información en el formato de verificación de resultados.
  - ✓ Comparar los valores obtenidos de la verificación con los resultados reportados inicialmente.
  - ✓ Si hay diferencias significativas, el responsable del laboratorio analiza la secuencia de la prueba y se toman las medidas correctivas, si es un trabajo No Conforme se debe seguir lo establecido en el *PD-GAA-80 Procedimiento para el trabajo no conforme* que hace parte del sistema de gestión del Centro de Calidad de Aguas de la universidad de los Llanos.
  - ✓ Si el resultado en la verificación cambia significativamente, se debe realizar el análisis de causa raíz.
- Realizar revisión trimestral de las verificaciones solicitadas, evaluar cuál es la falla que se presentó con una frecuencia mayor a dos, y tomar las medidas correctivas de acuerdo a lo establecido en el procedimiento de control de producto no conforme que hace parte del sistema de gestión integral a la universidad.
- Implementar las acciones correctivas y/o preventivas.

### 6.20 Reensayos

Realizar reensayos a las muestras con una frecuencia semestral mínimo a dos métodos, teniendo en cuenta, la vigencia de la muestra. Una vez obtenidos los resultados del reensayo, aplicar un cálculo del RPD (Porcentaje de diferencia relativa) y registrarlos los resultados obtenidos en el formato FO-GAA-310 Formato Cartas de Control y tendencias estadísticas.

### 6.21 Validez de los resultados para la Unidad de Biotecnología-Ecotoxicología

El Programa de Repetibilidad y Precisión intermedia hace parte de las prácticas de Control de Calidad Analítica que tienen como propósito fundamental, permitir el aseguramiento de las condiciones de experimentación, minimizando los errores sistemáticos y aleatorios que resultan a partir de las actividades del personal (contaminación, errores de operación), instrumentación, equipos (calibración, mantenimiento), reactivos (fechas de vencimiento), muestras (efecto de la matriz), métodos analíticos (metodologías validadas), manipulación y reporte de datos.

Los Procedimientos Técnicos de Ensayo son ejecutados por profesionales calificados que han recibido entrenamiento apropiado (Matriz de Validación del Personal). Los procedimientos estándar de operación de la unidad están consignados en el Instructivo general de buenas prácticas de laboratorio, Recepción, Identificación y Manejo de Muestras, Apoyo a la Operación para la Disposición de los Residuos Generados en el área de Biotecnología-Ecotoxicología, así como en cada uno de los Procedimientos Técnicos de Ensayo. Es necesario que el personal verifique constantemente el estado de los instrumentos y equipos, así como de los diferentes controles que se llevan a cabo (Ver Tabla 3).

Para el seguimiento de la precisión de los resultados emitidos por el Laboratorio se cuenta con un procedimiento estándar que permite llevar a cabo un seguimiento constante de cada uno de las metodologías de ensayo, de forma que se puedan implementar las correcciones apropiadas oportunamente en caso de presentarse

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

desviaciones sobre los parámetros que se aceptan como válidos.

### 6.21.1 Ensayos Ecotoxicología

Para el seguimiento de la precisión en los ensayos ecotoxicológicos con *Scenedesmus sp.*, *Daphnia pulex* y *Oreochromis sp.* se llevarán cartas control, haciendo uso de un tóxico de referencia, dentro de condiciones de ensayo estandarizadas, para evaluar la sensibilidad relativa de la población de los individuos en estudio, y la precisión y fiabilidad de los datos producidos por el laboratorio. Además de esto se harán ensayos por duplicado en muestras ambientales de toxicidad conocida para cuantificar la variación en muestras con características más heterogéneas. Todos los datos procedentes de los ensayos de reproducibilidad y precisión intermedia serán consignados en el FORMATO DE REPETIBILIDAD, PRECISIÓN INTERMEDIA E INCERTIDUMBRE DE PRUEBAS TOXICOLÓGICAS.

Los ensayos con tóxico de referencia se harán haciendo uso de Dicromato de potasio y se realizarán dos veces al año, si no cambian el método o los analistas o algún equipo incluido en el instructivo. Preferiblemente para las especies de *Daphnia sp.* y *Scenedesmus sp.* se recomienda realizar una prueba cada mes por cada analista.

Todos los ensayos realizados deben seguir el procedimiento estándar descrito en el PROCEDIMIENTO DE TOXICIDAD AGUDA UTILIZANDO PARA CADA ESPECIE UTILIZADA.

#### 6.21.1.1 Repetibilidad

Se establecerán límites de advertencia inferior y superior ( $\pm 2DS$ ) y límites control ( $\pm 3DS$ ). En el caso de puntos finales calculados con estadística cuantil ( $CL_{50}$ ) uno de cada 20 puntos se esperaría que cayera fuera de los límites de advertencia.

Si más de un punto cae fuera de los límites de control el laboratorio debe entrar a investigar opciones para reducir la variabilidad y practicar más ensayos con el tóxico de referencia durante ese mismo mes. Sin embargo, si un resultado del test de referencia cae por fuera de los límites de control ( $\pm 3DS$ ) el laboratorio debe conducir una investigación inmediata para dar con la causa de la variabilidad y los reportados durante este periodo deben ser revisados.

Se establecerá también el coeficiente de variación (CV) de los 20 datos más recientes de  $CL_{50}$  y se comparará con el CV reportado a nivel nacional por la USEPA (Tabla 3-1 en USEPA, 2002). Si el CV calculado excede el percentil 75<sup>avo</sup> reportado en la mencionada tabla, el laboratorio deberá usar el percentil 75<sup>avo</sup> y 90<sup>avo</sup> para calcular límites de advertencia y control respectivamente, y debe investigar opciones para reducir la variabilidad.

Para las muestras ambientales se estableció que cada analista realizará mínimo dos repeticiones de una muestra en la que se presuma o se conozca de antemano su toxicidad. Los valores de  $CL_{50}$  hallados para la muestra se analizarán estadísticamente y si coeficiente de variación sobrepasa el 50% se calificará esta muestra como no repetible.

#### 6.21.1.2 Precisión intermedia

En el caso de los ensayos realizados con tóxico de referencia se analizarán por separado los datos de cada uno de los analistas y se compararán (cada 5 muestras) las medias de los  $CL_{50}$  con la prueba de hipótesis U de Mann-Wittney, que permitirá establecer si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las poblaciones de datos. En caso de existir diferencias significativas entre los dos analistas (No reproducible), el laboratorio debe conducir una investigación inmediata para dar con la causa de la variabilidad y los datos reportados durante este periodo deben ser revisados.

Para las muestras ambientales, simultáneamente al ensayo de repetibilidad, otro analista realiza el ensayo de reproducibilidad empleando la misma muestra y la misma cantidad de repeticiones (2) para análisis en iguales condiciones de ensayo (condiciones de reproducibilidad).

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

Cada par de datos se analizará con la prueba de hipótesis U de Mann-Wittney, que permitirá establecer si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las poblaciones de datos. En caso de existir diferencias significativas entre los dos analistas (No reproducible), el laboratorio debe conducir una investigación inmediata para dar con la causa de la variabilidad y los datos reportados durante este periodo deben ser revisados.

### 6.21.1.3 Medidas Preventivas y Correctivas

El personal debe estar al tanto de su desempeño diario como analista, reflejado por los resultados de repetibilidad y precisión intermedia y las cartas de control de precisión, en estas últimas es necesaria la búsqueda de tendencias que puedan anticipar posibles datos fuera del límite de control. El analista puede optar por las medidas preventivas que considere apropiadas según la situación, desde el cambio de materiales para la ejecución del análisis, hasta una nueva revisión de los procedimientos de ensayo.

#### Más de dos datos de un set de 20 fuera de los límites de repetibilidad y reproducibilidad establecidos

- Se suspenden las evaluaciones en curso.
- Se realiza el análisis causa efecto, por parte de todos los analistas, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar las correcciones apropiadas.
- Todos los analistas deben revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
- El Líder de la unidad debe coordinar el reentrenamiento en la prueba para todo el personal.

### 6.22 Validez de los resultados para la Unidad de Biotecnología - Microbiología

El Programa de Repetibilidad y Precisión intermedia hace parte de las prácticas de Control de Calidad Analítica que tienen como propósito fundamental, permitir el aseguramiento de las condiciones de experimentación, minimizando los errores sistemáticos y aleatorios que resultan a partir de las actividades del personal (contaminación, errores de operación), instrumentación, equipos (calibración, mantenimiento), reactivos (fechas de vencimiento), muestras (efecto de la matriz), métodos analíticos (metodologías validadas), manipulación y reporte de datos.

Los Procedimientos o Instructivos Técnicos de Ensayo son ejecutados por profesionales calificados que han recibido entrenamiento apropiado. Los procedimientos estándar de operación de la unidad están consignados en los procedimientos/instructivos técnicos generales de Buenas Prácticas de Laboratorio, Recepción, Identificación y Manejo de Muestras, Apoyo a la Operación para la Disposición de los Residuos Generados en el área de microbiología, así como en cada uno de los Procedimientos/instructivos Técnicos de Ensayo. Es necesario que el personal verifique constantemente el estado de los instrumentos y equipos, así como de los diferentes controles que se llevan a cabo (Ver Tabla 3).

Para el seguimiento de la precisión de los resultados emitidos por el Laboratorio se cuenta con un procedimiento estándar que permite llevar a cabo un seguimiento constante de cada uno de las metodologías de ensayo, de forma que se puedan implementar las correcciones apropiadas oportunamente en caso de presentarse desviaciones sobre los parámetros que se aceptan como válidos.

**Tabla 3. Controles de la unidad de microbiología**

| CONTROL                         | FRECUENCIA                          |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| Ambiente                        | Mensual                             |
| Esterilidad Autoclaves          | Mensual                             |
| Potenciómetro                   | Semanal                             |
| Balanza                         | Semestral                           |
| Micropipetas                    | Trimestral                          |
| Medios de Cultivo               | Por Lote                            |
| Frascos de Muestreo             | Por Lote                            |
| Agua para análisis              | Por Lote                            |
| Filtros de membrana             | Por Lote                            |
| Temperatura y Humedad Ambiental | Diaria                              |
| Temperatura de incubadoras.     | Dos veces al día cuando este en uso |

|  |  |                    |  |                         |
|--|--|--------------------|--|-------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                         |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                         |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 12 de 18 |

|   |   |
|---|---|
| Nevera y cuarto frío                    | Semanal   |
| Calibración de equipos                  | Según equipo/instrumento  |
| Control al lavado de material de vidrio | Semanal (Verificación de pH)<br>Anual (Evaluación de residuos inhibitorios) |

### 6.22.1 Ensayos Microbiológicos

Para el control de la precisión de los resultados en la unidad de microbiología, cada analista cuenta con una ficha de seguimiento por prueba en el Formato que incluye la verificación que realizó de la metodología, soportada por un análisis estadístico, así como los respectivos criterios de repetibilidad y Precisión intermedia, los cuales son la base para determinar cuándo un resultado es repetible/ no repetible y/o reproducible/ no reproducible. Los detalles del cálculo de dichos criterios, así como del procedimiento de verificación, se encuentran en el Instructivo General para la Validación de Métodos de Ensayo. De igual forma, se cuenta con una ficha denominada formato de repetibilidad, precisión intermedia e incertidumbre de la unidad de microbiología, con el seguimiento a la totalidad del proceso, que incluye los resultados de los duplicados de todos los analistas graficados en una carta de control construida para establecer los límites de dispersión permisibles.

De forma general, se aceptarán como válidos los resultados cuya repetibilidad y Precisión intermedia no supere una variación del 40%, considerando la variabilidad inherente de las muestras biológicas. Para todas las pruebas incluidas en el alcance de este procedimiento se trabajará con un nivel de confianza del 95%, por lo tanto, por cada corrida de 100 evaluaciones realizadas por duplicado por todos los analistas, máximo 5 pueden salir del límite de control (último límite de la carta de control) (tanto para repetibilidad como para Precisión intermedia). Adicionalmente y respondiendo a este mismo nivel de confianza, cada analista únicamente puede tener un dato no repetible/no reproducible por cada 20 análisis duplicados.

Las matrices de datos aquí referenciadas deben ser diligenciadas diariamente para realizar el adecuado control de cada una de las metodologías y tomar oportunamente medidas preventivas y correctivas cuando se presenten posibles alarmas o desviaciones de los criterios establecidos como normales.

#### 6.22.1.1 Repetibilidad

Para la evaluación de la repetibilidad típicamente se procesará por duplicado la última muestra de cada corrida de ensayo (servicio) con más de 10 muestras, a menos que por carga de trabajo se determine otra condición. El montaje de éste duplicado debe ser realizado por el mismo analista en iguales condiciones de ensayo (condiciones de repetibilidad) y los datos obtenidos se registran en el Formato de Precisión respectivo (Repetibilidad y Precisión intermedia) y en la Bitácora de la unidad. El resultado obtenido se contrasta con el criterio de repetibilidad establecido por el analista que ejecuta la evaluación, se considera repetible si el valor registrado del rango de los resultados\*3.27 es menor que el criterio de repetibilidad.

El criterio de repetibilidad será recalculado para cada analista cada 100 nuevos datos o según se requiera en caso de ser necesaria la toma de medidas para ajustar el sistema. Se considera que para el mejoramiento del proceso el criterio de repetibilidad establecido cada vez, debe ser menor que el anterior. Para cada nuevo analista debe ser establecido un criterio de repetibilidad.

#### 6.22.1.2 Precisión intermedia

Simultáneamente al ensayo de repetibilidad, otro analista realiza el ensayo de Precisión intermedia empleando la misma muestra para análisis en iguales condiciones de ensayo (condiciones de Precisión intermedia), si no se cuenta con otro analista se debe cambiar las condiciones del ensayo. Los datos obtenidos se registran en el Formato de Precisión respectivo (Formato de repetibilidad, precisión intermedia e incertidumbre de la unidad de microbiología FO-GAA-230 y en la Bitácora de la unidad). El resultado obtenido se contrasta con el criterio de Precisión intermedia establecido por el analista que originalmente ejecuta la evaluación. El resultado se considera reproducible si el valor registrado del rango de los resultados\*3.27 es menor que el criterio de Precisión intermedia.

El criterio de Precisión intermedia será recalculado para cada analista cada 100 nuevos datos o según se requiera

|  |  |                    |  |                         |
|--|--|--------------------|--|-------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                         |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                         |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 13 de 18 |

en caso de ser necesaria la toma de medidas para ajustar el sistema. Se considera que, para el mejoramiento del proceso, el criterio de Precisión intermedia establecido cada vez, debe ser menor que el anterior. Para cada nuevo analista debe ser establecido un criterio de Precisión intermedia.

**Nota:** Los resultados expresados como 0, negativo ó  $<10$ , no se ingresan en el Formato. Cada una de las pruebas debe realizarse siguiendo las metodologías descritas en los Procedimientos/Instructivos Técnicos de Ensayo de la unidad.

### 6.22.1.3 Medidas Preventivas y Correctivas

El personal debe estar al tanto de su desempeño diario como analista, reflejado por los resultados de repetibilidad y Precisión intermedia y las cartas de control de precisión, en estas últimas es necesaria la búsqueda de tendencias que puedan anticipar posibles datos fuera del límite de control. El analista puede optar por las medidas preventivas que considere apropiadas según la situación, desde el cambio de materiales para la ejecución del análisis, hasta una nueva revisión de los procedimientos de ensayo.

Para las siguientes situaciones se contemplan medidas correctivas:

- Más de cinco datos fuera de los límites de repetibilidad y Precisión intermedia establecidos por la carta de control

Una ocasión:

- Se suspende la corrida de 100 evaluaciones.
- Se realiza el análisis causa efecto por parte de todos los analistas, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar las correcciones apropiadas.
- Todos los analistas deben revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
- Se inicia un nuevo proceso de 100 evaluaciones, una vez solucionadas las posibles causas, previa autorización del Líder del Laboratorio.

Dos ocasiones seguidas:

- Se suspende la corrida de 100 evaluaciones.
- Se realiza el análisis causa efecto por parte de todos los analistas, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar las correcciones apropiadas.
- Todos los analistas deben revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
- El Líder del laboratorio deber coordinar el reentrenamiento en la prueba para todo el personal.
- Se inicia un nuevo proceso de 100 evaluaciones, una vez solucionadas las posibles causas y hasta que el Líder del Laboratorio determine que todas las condiciones están dadas para la continuación del proceso.

- Analista con más de un dato no repetible/no reproducible por set de 20 datos

Una ocasión/dos no seguidas:

- Se suspende la corrida de 20 evaluaciones.
- El analista realiza el análisis causa efecto, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar las correcciones apropiadas.
- El analista debe revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
- Se inicia un nuevo proceso de 20 evaluaciones, una vez solucionadas las posibles causas, previa autorización del Líder del Laboratorio.

Dos ocasiones seguidas:

- Se suspende la corrida de 20 evaluaciones.
- El analista realiza el análisis causa, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

las correcciones apropiadas.

- c) El analista debe revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
- d) Si el análisis de causas no indica lo contrario, el analista debe empezar el proceso de recálculo de su criterio de repetibilidad/Precisión intermedia según está establecido en el Instructivo.
- e) Se inicia un nuevo proceso de 20 evaluaciones una vez solucionadas las posibles causas y hasta que el Líder del Laboratorio determine que todas las condiciones están dadas para la continuación del proceso.

Para tres o más ocasiones seguidas o no, en un periodo menor a 100 datos

- a) Se suspende la corrida de 20 evaluaciones.
  - b) El analista realiza el análisis causa efecto, para determinar las causas de las repetidas desviaciones y realizar las correcciones apropiadas.
  - c) El analista debe revisar nuevamente el procedimiento de ensayo.
  - d) Si el análisis de causas no indica lo contrario, el Líder del laboratorio deber coordinar el re entrenamiento en la prueba para el analista.
  - e) Si el análisis de causas no indica lo contrario, el analista debe empezar el proceso de recálculo de su criterio de repetibilidad/Precisión intermedia según está establecido en el instructivo.
  - f) Se inicia un nuevo proceso de 20 evaluaciones una vez solucionadas las posibles causas y hasta que el Líder del Laboratorio determine que todas las condiciones están dadas para la continuación del proceso.
- Resultados que presentan variaciones superiores al 30% en sus duplicados para repetibilidad y/o Precisión intermedia.
    - a) El resultado no se acepta como válido.
    - b) El analista y el Líder del Laboratorio realizan el análisis causa efecto, para determinar las causas del error y realizar las correcciones respectivas.
    - c) Si el análisis de causas no indica lo contrario, se debe solicitar una nueva muestra.

#### 6.22.1.4 Cálculo del Criterio de Precisión

Los cálculos de precisión de los métodos de ensayo se obtienen a partir de los datos de repetibilidad de los analistas y las metodologías de ensayo (Cálculos de precisión tipo A).

Los cálculos Tipo A se obtienen a partir del cálculo estadístico con base en determinaciones paralelas que se expresan como desviación estándar (incertidumbre estándar) o desviación estándar relativa y se expresan en la escala logarítmica.

Una vez establecido el criterio de precisión, éste puede ser tomado de referencia para verificar la Repetibilidad de las muestras de rutina de la unidad mediante un Cuadro de Control de datos en que se valide si la variación de cada par de muestras con respecto al criterio de precisión se encuentra dentro de la Repetibilidad del método para la unidad.

#### Criterio de precisión para métodos microbiológicos

Realizar análisis por duplicados con 15 muestras positivas de cada tipo de matriz. Registrar los resultados de los análisis por duplicados como D1 y D2. Calcular el Logaritmo de cada resultado. Si cualquiera de un conjunto de resultados duplicados es <1, agregue 1 a ambos valores antes de calcular los logaritmos. Calcule el rango (R) para cada par de duplicados transformados a logaritmo y sacar la media (R) de estos rangos. Si más de un analista ejecuta regularmente pruebas, incluirlas todas, con cada analista realizando igual número de muestras.

Los pasos que se citan a continuación aplican para el cálculo del criterio de repetibilidad y de precisión intermedia:

1. Calcular el valor de logaritmo natural para ambas réplicas. Si  $\ln(\text{Rep}) < 1$  corrija  $\ln(\text{Rep})+1$ .
2. Calcular el valor del rango correspondiente a las dos réplicas  $(\ln(D_1)-\ln(D_2))$

|  |  |                    |  |
|--|--|--------------------|--|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 |

3. Calcular el valor del promedio (R), desviación estándar y coeficiente de variación a partir de la columna que contiene los valores del rango.
4. Calcular el criterio de precisión empleando:

$$\text{Criterio de precisión} = 3.27 * R$$

Reportar la información en el FORMATO DE REPETIBILIDAD, PRECISION INTERMEDIA E INCERTIDUMBRE DE LA UNIDAD DE MICROBIOLOGIA

*Si Rango resultado \* 3.27 < Criterio P, la medición es REPETIBLE/REPRODUCIBLE*

Después de realizar el cálculo del criterio de precisión, se debe analizar el 10% de las muestras de rutina por duplicado, o uno por ejecución de prueba. Pasar los duplicados a logaritmo y calcular el rango. Si el rango es > 3.27 R, el resultado no se acepta como válido, por lo que se descarta todos los resultados analíticos desde la última verificación de precisión. Identificar y resolver el problema analítico. Antes de hacer más análisis.

**Nota:** Actualizar mediante la repetición periódica de los procedimientos utilizando los conjuntos más recientes de 15 resultados duplicados.

#### 6.22.1.5 Límites de Trabajo (Estadísticos y Prácticos)

Los límites de trabajo inferiores de los métodos microbiológicos son en gran medida asunto de definición, mientras que los límites superiores se definen mediante los requisitos de espacio y las interacciones resultantes de las colonias microbianas, considerando que un microorganismo para hacerse detectable a simple vista debe multiplicarse aprox. un millón de veces (principio de la unidad formadora de colonia–UFC-).

##### Límite Inferior

El límite estadístico inferior puede expresarse como el recuento “confiable” más bajo por porción analítica o detector (caja de petri o tubo de ensayo, según sea el caso), definiendo la confiabilidad por la mejor precisión. Por esta razón, el límite inferior de cuantificación (determinación) se encuentra alrededor del valor límite de lectura en el sistema detector que se emplee en que el coeficiente de variación en condiciones aleatorias es +/- 25% (Poisson).

En el caso de recuento en placa por siembra en superficie este valor límite de determinación se encuentra alrededor de 15 colonias, en el recuento en placa por siembra en gota alrededor de 3 colonias, en el recuento sobre membranas de filtración alrededor de 20 colonias y en el recuento en medio líquido por dilución seriada en base 10 alrededor de 10 microorganismos.

Además, para el límite de detección, aplicando el criterio de lectura del Standard Methods (Method 9215A-8), si en el elemento detector de todas las diluciones de cualquier muestra no se obtiene crecimiento, se reporta el recuento como < 1 dividido por el menor volumen de muestra trabajado.

En el caso del límite de detección, éste se define en términos de la probabilidad de registrar un resultado positivo con una confiabilidad del 95%, el cual se calcula a partir de la distribución de Poisson así:

$$p (+) = 1 - e^{-m}$$

En donde

**e** es la base de logaritmos naturales

**m** es el número promedio de organismos por porción analítica

Considerando la probabilidad de detectar el organismo como del 95% [p(+)= 0.95], si se toma éste como referencia, entonces  $e^{-m} = 1 - 0.95 = 0.05$ , que al solucionar de la ecuación [ $m = - \ln(0.05) = 3$ ] se obtiene que para

|  |  |                    |  |                         |
|--|--|--------------------|--|-------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                         |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                         |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 16 de 18 |

el recuento promedio de 3, las oportunidades de detectar el microorganismo en una porción de ensayo es igual a 0.95 (siempre que prevalezca la distribución de Poisson).

### **Límite superior**

En los métodos de recuento en placas (medio sólido), la precisión teóricamente mejora de manera constante con el número de colonias observadas en el conjunto de detección y que en condiciones prácticas depende de la situación de ensayo; es decir, que se satura cuando el número de colonias objeto de recuento es sólo una, cuando la sobredispersión de los recuentos paralelos es pronunciada o cuando los recuentos de colonia de diferentes diluciones (volúmenes) no concuerdan. Por esta razón, en cada método de ensayo se define un rango de lectura de datos que asegura que la incertidumbre total se encuentra dentro de los criterios de validez del método.

Aplicando el mismo razonamiento del límite inferior, el límite superior de cuantificación (determinación) se encuentra alrededor del valor límite de lectura en el sistema detector que se emplee en que el coeficiente de variación en condiciones aleatorias es +/- 25% (Poisson).

En el caso de que el procedimiento de ensayo no logre el agotamiento de la población en cuantificación y ésta supere el rango de conteo de colonias definido (normalmente hasta 200 ó 300 colonias, según el método del que se trate) no refleja el límite superior del método sino una dilución equivocada. Estas situaciones afectan la confiabilidad del resultado por la pérdida de proporcionalidad (pérdida de linealidad) que ocurre con la alta densidad de colonias por placa. El manejo de estos casos se detalla en cada procedimiento de ensayo.

Otra consideración con el límite superior es la presencia de traslape o enmascaramiento de colonias debido a crecimiento de otros organismos no-objeto o interferentes. Esta condición se corrige al emplear métodos de ensayo que sean selectivos o específicos de los organismos objeto de cuantificación.

En el caso de los métodos de recuento en tubo (medio líquido), no es posible establecer límites superiores por razones estadísticas relacionando el número de organismos en el conjunto de detección de acuerdo a la limitación de distribución de las partículas y sobredispersión, descritos anteriormente y las condiciones de disponibilidad de recursos (número máximo de tubos por muestra). La precisión del método puede mejorarse cambiando el número de réplicas del conjunto de detección y aplican las mismas consideraciones del recuento den medio sólido al obtenerse crecimiento en todos los tubos de todas las porciones de muestra evaluados.

### **6.24 Interferencias del método para la emisión de resultados válidos de la unidad de microbiología**

Las pruebas microbiológicas están sujetas a diferentes interferencias que pueden afectar la calidad de los resultados, dentro de las más importantes están:

- Calibración de las incubadoras.
- Temperatura óptima de crecimiento.
- Naturaleza de la muestra.
- Analista.
- Viabilidad de medios de cultivo.
- Tiempo de incubación.
- Viabilidad de las cepas de referencia.
- Agua destilada.

En caso de presentar alguna desviación en los resultados esperados, verificar el cumplimiento de cada una de las variables enlistada anteriormente.

### **6.25 Validez de los resultados para la Unidad Hidrobiológica de Calidad de Aguas.**

Los criterios de validación y verificación de los métodos para el análisis de las comunidades biológicas se

|  |  |                    |  |                         |
|--|--|--------------------|--|-------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                         |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                         |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 17 de 18 |

encuentran referenciados en el IN-GAA-132 INSTRUCTIVO GENERAL PARA LA VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS.

## **7. Protección de datos.**

### **7.1 Protección de hojas de cálculo de resultados de ensayos.**

Las hojas de cálculo utilizadas para el reporte de resultados de ensayo de las diferentes unidades del Centro de Calidad de Aguas deberán estar protegidas para evitar la alteración de datos por parte de terceros. Una vez revisados los cálculos de resultados, el profesional de calidad o quien haga sus veces, deberá proteger el documento con una contraseña.

### **7.2 Actualización de antivirus en equipos dedicados.**

La actualización del antivirus se realiza a los computadores dedicados, es decir a los que hacen parte de un equipo, con el fin de controlar y mantener los equipos computarizados libres de virus informáticos y evitar la propagación de los mismos o la pérdida de información.

- Registrar la información correspondiente a fecha de actualización y la versión en el formato FO-GAA-194 Seguimiento de Antivirus y Back Up a equipos dedicados.
- Este procedimiento de revisión debe realizarse mensualmente por el analista designado.

### **7.3 Backup en equipos**

El backup o copia de respaldo se realiza a la información almacenada en equipos de cómputo con el fin de salvaguardar los datos, se realiza en una unidad de DVD, una memoria, disco duro o en la red institucional con control de acceso; dicha información también es almacenada en el computador de cada Unidad a cargo del responsable de la Unidad.

Los datos y curvas de calibración, son organizados en una carpeta del equipo y guardados en una memoria o almacenados en línea en una carpeta en la Red Institucional protegida, con acceso autorizado. Las carpetas son identificadas con el nombre del equipo y el rango de fechas de la información consignadas. Esta labor es ejecutada por un analista designado en cada equipo y registrada en el formato FO-GAA-194 Seguimiento de Antivirus y Back Up a equipos dedicados, al menos cada 3 meses.

### **7.4 Generación y aprobación de resultados**

La generación de resultados está a cargo del analista asignado, quien debe registrar los resultados obtenidos en el formato correspondiente (FO-GAA-243 o FO-GAA-331), cumpliendo con los controles de calidad establecidos para cada método, y enviarlos por correo electrónico al responsable de la unidad. Cada resultado debe estar trazado mediante el código de muestra, la fecha de análisis, el método y equipo utilizado, y el nombre del analista. Posteriormente, el responsable de la unidad analítica realiza la verificación de resultados, lo cual implica la revisión técnica y validación de los mismos, incluyendo la verificación de cálculos y el cumplimiento de los criterios de control de calidad. Esta revisión se registra en el formato correspondiente con firma y se envía por correo electrónico al profesional de calidad.

|  |  |                    |  |                         |
|--|--|--------------------|--|-------------------------|
|  <b>UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS</b> | <b>PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA</b>                                 |                    |  |                         |
|  | <b>INSTRUCTIVO GENERAL PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS</b> |                    |  |                         |
|  | <b>Código:</b> IN-GAA-133  | <b>Versión:</b> 09 | <b>Fecha de aprobación:</b> 25/06/2025 | <b>Página:</b> 18 de 18 |

## 8. Listado de anexos

- PD-GCL-05 Procedimiento para Acciones Preventivas y Correctivas
- FO-GAA-198 Formato de repetibilidad y precisión intermedia de pruebas de laboratorio
- FO-GAA-310 Cartas de control y tendencias estadísticas
- FO-GAA-230 Formato de repetibilidad, precisión intermedia e incertidumbre de la unidad de microbiología
- FO-GAA-91 Cálculo de resultados de verificación de métodos de la unidad de microbiología.
- FO-GAA-194 Seguimiento de Antivirus y Back Up a equipos dedicados
- IN-GAA-132 Instructivo general para la validación y verificación de los métodos.

## 9. Historial de Cambios

| Versión | Fecha      | Cambios  | Elaboró / Modificó                                      | Revisó  | Aprobó                                     |
|---------|------------|--|---|---|--|
| 01      | 22/02/2019 | Documento nuevo  | Marlene Estrada<br><i>Prof. Químico</i>                 |   | Marco A. Torres<br><i>Director ICAOC</i>   |
| 02      | 13/03/2019 | Se realiza modificación en la estructura y redacción del documento   | Marlene Estrada<br><i>Líder Técnico</i>                 | Marlene Estrada<br><i>Líder Técnico</i>                     | Mario Gutiérrez<br><i>Prof. de Calidad</i> |
| 03      | 14/06/2019 | Se incluyeron en el numeral 6.1, 6.15 el criterio de aceptación para la verificación de la MCC en el análisis de Surfactantes Aniónicos; en el numeral 6.20 se incluyeron los cálculos del criterio de precisión para ensayos microbiológicos.                     | Marlene Estrada<br><i>Líder Técnico</i>                 | Marlene Estrada<br><i>Líder Técnico</i>                     | Juan M. Trujillo<br><i>Director CCA</i>    |
| 04      | 07/09/2021 | Se ajusta el numeral 6.17 incluyendo el código del procedimiento de trabajo no conforme.   | Karen Mendoza<br><i>Prof. Calidad</i>                   | Joan Patiño<br><i>Responsable unidad analítica de aguas</i> | Juan M. Trujillo<br><i>Director CCA</i>    |
| 05      | 15/06/2023 | Se ajusta el punto inicial de la curva de calibración en el numeral 6.7. Se adiciona numeral 6.18 correspondiente al criterio de reensayo de muestras.   | Juan Arévalo<br><i>Analista lab.</i>                    | Juan M. Trujillo<br><i>Director CCA</i>                     | Marco Torres<br><i>Director CCA</i>        |
| 06      | 26/01/2024 | Se agregan los ítems de 6.8 Rango de trabajo, 6.9 Seguimiento y control de reactivos y 6.24 Interferencias del método para la emisión de resultados válidos de la unidad de microbiología.   | Yair Zapata<br><i>Profesional de Calidad</i>            | Yair Zapata<br><i>Profesional de Calidad</i>                | Marco Torres<br><i>Director CCA</i>        |
| 07      | 09/05/2024 | Se ajustó el alcance del instructivo, se agregaron definiciones, se agregó contenido a condiciones generales, se actualizó la tabla 3 según el SM, se codificaron los formatos y se agregó el numeral 7.1 Protección de hojas de cálculo de resultados de ensayos. | Yirley Angelica Rincon<br><i>Profesional de Calidad</i> | Yair Zapata<br><i>Profesional de Apoyo</i>                  | José Rojas<br><i>Director CCA</i>          |
| 08      | 05/08/2024 | Se agrego calculo estadístico para los reensayos en el numeral 6.20.   | Yirley Angelica Rincon<br><i>Profesional de Calidad</i> | Yair Zapata<br><i>Profesional de Apoyo</i>                  | José Rojas<br><i>Director CCA</i>          |
| 09      | 25/06/2025 | Se agrega ítem 7.4 Generación y aprobación de resultados   | Juan Bermúdez<br><i>Profesional de Calidad</i>          | José Rojas<br><i>Director CCA</i>                           | José Rojas<br><i>Director CCA</i>          |