

GUIA PARA EL FUNCIONAMIENTO DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO DE AGUAS

PARTE I

CRITERIOS PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS ENSAYOS (Revisión 1)

Febrero 2016

ÍNDICE

1. PRÓLOGO.....	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. OBJETO	7
4. DEFINICIONES.....	7
5. DESARROLLO	10
5.1 Ejercicios de intercomparación	12
5.1.1. Establecimiento de familias de ensayo y frecuencias de participación	12
5.1.2. Selección de esquemas para intercomparaciones	13
5.1.3. Evaluación de los resultados de intercomparaciones	15
5.2 Controles de calidad internos	17
5.2.1. Ensayos físico-químicos.....	19
5.2.2. Ensayos microbiológicos	22
6. REFERENCIAS.....	33
ANEXO I – Familias de ensayo	36
ANEXO II- Interpretación de resultados de intercomparación	41
ANEXO III- Elaboración e interpretación de gráficos de control de ensayos físico-químicos	50
ANEXO IV – Control de medios de cultivo y cepas.....	63
ANEXO V – Gráficos de control en ensayos microbiológicos	67

1. PRÓLOGO

El proceso de evaluación de la conformidad surge como consecuencia de la puesta en marcha de actuaciones globales orientadas hacia la libre circulación de productos en determinados ámbitos geográficos. Con el fin de garantizar un alto nivel de protección del interés público en temas como la protección de los consumidores y la salud y seguridad, la legislación comunitaria ha ido desarrollando textos orientados hacia la armonización de normas cuya aplicación permita generar confianza sobre los productos y servicios ofrecidos por organismos, fabricantes y distribuidores.

Este esquema se conoce como proceso de *'acreditación'*, cuyo objetivo es que una tercera parte independiente demuestre a los clientes-usuarios que los productos y servicios que adquieren cumplen con ciertos criterios de calidad y seguridad.

En la actualidad están sometidos a actividades de acreditación los laboratorios de ensayo y calibración, las entidades de inspección, las entidades de certificación de sistemas de gestión, productos y personas, los verificadores ambientales, etc. Los criterios para la acreditación están recogidos habitualmente en una especificación técnica, u otro documento público, que se ha establecido con la cooperación y el consenso o la aportación general de todas las partes interesadas. Son las denominadas *'normas'* y han sido aprobadas por un organismo cualificado en el ámbito nacional, regional o internacional.

La Directiva 98/83, de 3 de noviembre, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, se traspuso al Derecho español mediante el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. En el artículo 16 de este RD se establece que todo laboratorio público o privado que realice determinaciones para los análisis de todo tipo comprendidos en el autocontrol, vigilancia sanitaria o grifo del consumidor, deberá implantar un sistema de calidad y validarlo ante una unidad externa de control de calidad, que realizará periódicamente una auditoría. En el caso de que el laboratorio supere las 5.000 muestras anuales el sistema de calidad deberá de ser el especificado por la UNE-EN ISO/IEC 17025 ⁽¹⁾ o la vigente en cada momento y deberá ser acreditado por una entidad de acreditación (ENAC en España).

Recientemente ha sido publicada la Directiva (UE) 2015/1787 de la Comisión de 6 de octubre de 2015 por la que se modifican los anexos II y III de la Directiva 98/83/CE del Consejo, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. En su Anexo II indica *'Los Estados miembros velarán por que los métodos de análisis empleados a efectos de control y demostración del cumplimiento de la*

presente Directiva se validen y documenten de conformidad con la norma EN ISO/IEC-17025 u otras normas equivalentes aceptadas a nivel internacional. Los Estados miembros garantizarán que los laboratorios o las partes contratadas por laboratorios aplican prácticas de gestión de la calidad conformes con la norma EN ISO/IEC-17025 u otras normas equivalentes aceptadas a nivel internacional.

Por otra parte, la ORDEN MAM/985/2006, de 23 de marzo, por la que se desarrolla el régimen jurídico de las entidades colaboradoras de la administración hidráulica en materia de control y vigilancia de calidad de las aguas y de gestión de los vertidos al dominio público hidráulico, establece en el Artículo 5 que para obtener el título de entidad colaboradora será necesario cumplir con el requisito de acreditación que en el ámbito de actuación de ensayos se basará en la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025, o la norma que en el futuro la sustituya. Posteriormente la Directiva 2009/90/CE, de 31 de julio de 2009, por la que se establecen las especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas, sentó, en su Artículo 3 que los métodos de análisis ya sean de laboratorio, de campo (in situ) o en línea (en continuo), utilizados a efectos de los programas de seguimiento químico se validen y documenten de conformidad con la norma EN ISO/IEC 17025 u otras normas equivalentes aceptadas internacionalmente. La citada Directiva quedó transpuesta al derecho español en el Real Decreto 60/2011, de 21 de enero, sobre normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.

A instancia de la Asociación Española de Abastecimientos de Agua y Saneamiento (AEAS), la Comisión 2ª solicita al Grupo de Trabajo creado al efecto, la elaboración de una serie de documentos en donde se recojan, las pautas de actuación de los laboratorios de control de calidad del agua en materia de aseguramiento de calidad de ensayos, según se desarrolla en la norma UNE-EN ISO/IEC 17025.

El Grupo de Trabajo creado a este efecto está constituido por miembros de laboratorios de ensayo acreditados, con amplia experiencia en los ensayos relacionados y cuya participación pretende plasmar dicha experiencia en los documentos que se les solicitan.

2. INTRODUCCIÓN

Los laboratorios deben establecer, desarrollar y poner en marcha una serie de actuaciones planificadas y sistemáticas que permitan demostrar y proporcionar fiabilidad y validez a los resultados de su actividad, es decir, a los resultados de las determinaciones analíticas que realizan. Este proceso se conoce como '*Aseguramiento de la Calidad*'. Los datos obtenidos deben registrarse de forma que puedan detectarse tendencias y, siempre que sea posible, deben aplicarse técnicas estadísticas para analizar los resultados. Estos controles deben ser planificados y revisados, y pueden incluir, pero no estar limitados, a:

- 1) uso habitual de materiales de referencia certificados y/o controles internos de calidad que empleen materiales de referencia secundarios;
- 2) participación en comparaciones interlaboratorios o programas de ensayos de aptitud;
- 3) repetición de ensayos o calibraciones utilizando los mismos o diferentes métodos;
- 4) repetición de ensayos o calibraciones de los objetos retenidos;
- 5) correlación de los resultados para diferentes características de un ítem.

Los datos de control de la calidad deben ser analizados y, si no satisfacen los criterios predefinidos, se deben tomar las acciones planificadas para corregir el problema y evitar consignar resultados incorrectos.

En noviembre de 2012 se publica la primera versión de la parte I de esta guía y en enero de 2015 se inicia la revisión de esta primera versión con el fin de:

- a) Incorporar la matriz de aguas residuales en el desarrollo del documento.
- b) Considerar los cambios introducidos en la norma ISO 13528 (Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons).
- c) e incluir ejemplos de evaluación de ejercicios de intercomparación.
- d) Ampliar el contenido del bloque de controles internos de calidad, incluyendo ejemplos de gráficos de control.
- e) Actualización de las referencias bibliográficas.

El Grupo de Trabajo que ha realizado este documento se compone de los siguientes miembros *:

Coordinador:

Pedro Pablo Morillas Bravo

CANAL DE ISABEL II GESTIÓN

Miembros activos:

Itziar Larumbe Hernández

AGUAS-AÑARBE

Lluís Vázquez Millà

AGUAS DE BARCELONA

Joan Boix Berna

AGUAS DE BARCELONA

Raúl Bermúdez

DNOTA

Estíbaliz Alda Tobar

C. DE AGUAS DE BILBAO-VIZCAYA

Isabel Echarri Gurtubay

C. DE AGUAS DE BILBAO-VIZCAYA

Josepa Fàbregas Serrà

C. DE AGUAS DE TARRAGONA

Consuelo Juan Rodríguez

EMASESA

Jesús Manuel Esteban Rodríguez

FCC-AQUALIA

Carina González Taboas

GAMASER

Begoña García Asensi

IPROMA

M^a José Vázquez García

LABAQUA

Marta Pedemonte Almirall

LAB. Dr. OLIVER RODES

En la revisión de los aspectos relacionados con ensayos microbiológicos han colaborado:

Carles Vilaró Juanix

AGUAS DE BARCELONA

Lucila Cuberos Gómez

EMASESA

Inmaculada Solís Andrés

IPROMA

Miriam Monedero Boado

LAB. Dr. OLIVER-RODÉS

* La primera edición de esta guía (2012) fue elaborada por el actual Grupo de Trabajo de Acreditación de Laboratorios de la AEAS, y por J. Ruiz García (CERTIO) y P. Vaquero González (LABAQUA).

3. OBJETO

El objeto del presente documento es proponer, de forma objetiva, una sistemática que permita llevar a cabo de forma homogénea las actuaciones necesarias para demostrar el aseguramiento de la calidad de los ensayos, que garantiza el mantenimiento de la competencia técnica de los laboratorios teniendo en consideración factores como extensión y resultados de las validaciones y su nivel de desarrollo como organismo evaluador de la conformidad.

No es objeto de este documento establecer directrices de obligado cumplimiento, pero sí aportar criterios homogéneos de funcionamiento basados en la experiencia, profesionalidad, coherencia y buena práctica de los laboratorios integrantes del Grupo de Trabajo, de tal forma que el mismo sea un referente a tener en cuenta.

4. DEFINICIONES

Cepa de referencia: microorganismo obtenido directamente de una colección de cultivos de referencia y definido como mínimo a nivel de género y especie, catalogado y descrito conforme a sus características y preferiblemente procedente de agua ⁽²⁵⁾.

Comparación interlaboratorios (intercomparaciones): organización, realización y evaluación de mediciones o ensayos sobre el mismo ítem o ítems similares por dos o más laboratorios de acuerdo con condiciones predeterminadas ⁽²⁾.

Cultivo de reserva: cultivo primario procedente de un lote de reserva de referencia ⁽²⁵⁾.

Cultivo de trabajo: subcultivo procedente de un lote de reserva de referencia o de un cultivo de reserva o de un material de referencia, certificado o no ⁽²⁵⁾.

Desviación estándar para la evaluación de la aptitud (σ_{pt}): medida de la dispersión empleada en la evaluación de los resultados de un ejercicio de intercomparación ⁽²⁾.

Ensayo de aptitud: evaluación del desempeño de los laboratorios frente a los criterios preestablecidos por medio de comparaciones entre laboratorios ⁽²⁾.

Especificidad de un medio de cultivo: demostración, bajo unas condiciones definidas, de que los microorganismos no diana no presentan las mismas características visuales que los microorganismos diana ⁽²⁵⁾.

Exactitud de medida: proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando ⁽³⁾.

Familia de ensayo: conjunto de ensayos o calibraciones en el que cualquiera de sus miembros es razonablemente representativo de los demás en cuanto a la evaluación de la calidad de los resultados obtenidos ⁽³⁰⁾.

Incertidumbre de medida: parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a la magnitud que se desea medir, a partir de la contribución de las componentes consideradas ⁽³⁾.

Límite de cuantificación: la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión y veracidad, dentro de una matriz en particular y por un método específico ⁽¹⁴⁾.

Límite de detección: la menor cantidad o concentración de un analito que puede detectarse de manera fiable o diferenciada por un método específico ⁽¹¹⁾.

Linealidad: aptitud del método para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito ⁽¹⁸⁾.

Lote de medio de cultivo: unidad homogénea y de trazabilidad completa de un medio, referida a una cantidad definida de un material básico, de un producto semi-acabado o de un producto final, consistente en cuanto a tipo y calidad, y que ha sido fabricado dentro de un período de producción definido habiéndosele asignado un único número de lote o partida ⁽²⁵⁾.

Lote de reserva de referencia: una serie de cultivos individuales idénticos preparados en el laboratorio o por un proveedor mediante un único subcultivo a partir de una cepa de referencia ⁽²⁵⁾.

Material de referencia (MR): material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas ⁽⁴⁰⁾.

Material de referencia certificado (MRC): material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos ⁽⁴⁰⁾.

Matriz representativa: matriz perteneciente a un grupo de productos y seleccionada de acuerdo a un criterio técnico adecuado en la que se lleva a cabo la validación del método con objeto de obtener resultados de su funcionamiento extrapolables al grupo de productos ⁽⁸⁾.

Medio de cultivo: formulación de sustancias en forma líquida, semi-sólida o sólida, que contienen constituyentes naturales y/o sintéticos destinados a promover la multiplicación (con o sin inhibición de determinados microorganismos), la identificación o la conservación de la viabilidad de los microorganismos ⁽²⁵⁾.

Mensurando: magnitud particular sometida a medición ⁽³⁾.

Microorganismo diana: microorganismo o grupo de microorganismos que se van a detectar o someter a recuento ⁽²⁵⁾.

Microorganismo no diana: microorganismo que resulta suprimido por el medio y/o las condiciones de incubación o que no muestra las características esperadas del microorganismo diana ⁽²⁵⁾.

Patrón de medida: realización de la definición de una magnitud dada, con un valor determinado y una incertidumbre de medida asociada, tomada como referencia ⁽³⁾.

Precisión de medida: proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas de repetibilidad y reproducibilidad ⁽³⁾.

Productividad de un medio de cultivo(P_R): tasa de recuperación de un microorganismo diana a partir de un medio de cultivo bajo unas condiciones definidas ⁽²⁵⁾. Para su cálculo:

$$P_R = \frac{N_S}{N_O}$$

Donde

N_S : recuento de colonias en las placas

N_O : número total de colonias obtenidas en profundidad o en la superficie del medio de cultivo de referencia definido, obtenido a partir de una o más placas.

Rango de trabajo: el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse ⁽¹⁴⁾.

Rendimiento: expresión de la evaluación de los participantes realizada por el proveedor a partir de los resultados emitidos por el laboratorio en un ejercicio de intercomparación ⁽⁶⁾.

Repetibilidad de medida: precisión de medida en condiciones que incluyen el mismo procedimiento de medición, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo ⁽³⁾.

Reproducibilidad de medida: precisión de medida en condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares ⁽³⁾.

Selectividad (especificidad): la capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en la presencia de otros componentes en la matriz bajo condiciones de prueba establecidas ⁽¹¹⁾.

Selectividad de un medio de cultivo(S_F): grado de inhibición observada sobre un microorganismo no diana en profundidad o sobre la superficie de un medio de cultivo selectivo bajo unas condiciones definidas ⁽²⁵⁾. Se expresa en unidades de \log_{10} y para su cálculo:

$$S_{FR} = D_O - D_S$$

Donde

D_O : dilución mayor que muestra crecimiento en el medio de referencia no selectivo.

D_S: dilución mayor que muestra un crecimiento comparable en el medio de ensayo selectivo.

Serie analítica: conjunto de muestras analizadas en condiciones de repetibilidad ⁽¹⁹⁾.

Sesgo de medida: valor estimado del componente del error de medida que, en mediciones repetidas, permanece constante o varía de manera predecible ⁽³⁾.

Trazabilidad: propiedad del resultado de una medición -o el valor de un estándar que consiste en que se pueda establecer el resultado previsible de su comparación directa con los patrones apropiados, generalmente nacionales o internacionales, mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones reales, todas con incertidumbres conocidas ⁽³⁾.

Valor asignado: valor atribuido a una determinada propiedad de un ítem ensayado, en un ejercicio de intercomparación, con el objeto de calcular el rendimiento ⁽⁶⁾.

Valor de referencia: valor de una magnitud que sirve como base de comparación con valores de magnitudes de la misma naturaleza ⁽³⁾.

Veracidad de medida: proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia ⁽³⁾.

5. DESARROLLO

Si bien los diferentes documentos de trabajo a los que pueden recurrir los laboratorios de ensayo siempre hacen referencia a las posibles alternativas que pueden tomar para asegurar la calidad de sus resultados (ver apartado de Referencias sobre control de calidad), se ha evidenciado una dispersión de criterios con los que estas actividades pueden llevarse a cabo.

Esto ha generado conflictos en los procesos de evaluación que son difíciles de resolver, tal y como se pone de manifiesto en la experiencia acumulada por los laboratorios.

La combinación en el uso de varias de estas alternativas, así como el tratamiento de los datos obtenidos y su interpretación pueden permitir la demostración suficiente de la fiabilidad del correcto funcionamiento de los laboratorios. En este sentido los tres argumentos considerados como básicos para la definición de un esquema apropiado para el aseguramiento de calidad de ensayos son:

Extensión de las validaciones

Un laboratorio de ensayo debe contar con métodos de trabajo adecuados al uso previsto, para lo cual debe poner en marcha las actuaciones de validación que le permitan disponer de información de los parámetros que aseguren un

control suficiente de la fiabilidad de los resultados, por ejemplo exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad, linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, robustez o incertidumbre ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾. Sin embargo, debe asumirse que la validación es siempre una ponderación entre costes, tiempos de ejecución, riesgos aceptables y capacidades técnicas disponibles, por lo que puede ocurrir que los laboratorios cuenten inicialmente con una información simplificada sobre rangos e incertidumbres, lo que condiciona el contenido del programa de aseguramiento de la calidad. En este punto, también debe tenerse en cuenta si los laboratorios especifican el uso de matrices representativas a la hora de establecer las familias de ensayo ⁽⁸⁾.

Madurez del sistema de gestión de la calidad

Las actividades de aseguramiento de la calidad permiten además ofrecer mayor confianza a los clientes de los laboratorios y demostrar a terceras partes la eficacia constante de las actividades de los laboratorios.

Cuando un laboratorio inicia el desarrollo e implantación de su sistema de gestión de la calidad dispone de una información de partida variable en función de los métodos analíticos, fuentes bibliográficas, normas o estándares. Su implantación sistemática generará datos y resultados cuyo análisis permitirá adecuar, revisar y mejorar sus técnicas ⁽¹¹⁾⁽¹⁵⁾⁽²⁰⁾⁽³⁰⁾. Esta situación debe ser tenida en cuenta a la hora de valorar las necesidades de control que un laboratorio deberá mantener o poner en marcha para demostrar su aseguramiento de la calidad.

Los laboratorios que cuenten con resultados sistemáticamente satisfactorios en sus actividades de aseguramiento de calidad, demuestran un nivel de competencia que debe permitir revisar las frecuencias de realización ⁽¹³⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾.

Disponibilidad de recursos

Si bien los laboratorios asumen las actividades de aseguramiento de la calidad como una necesidad operativa, es preciso tomar en consideración el volumen de actividad analítica, así como los costes que permitan hacer viable la propia actividad de control.

Debe asumirse un equilibrio entre la extensión de actividades de validación y su supervisión continua, las capacidades técnicas disponibles en cada laboratorio y los costes de mercado de patrones y materiales de referencia necesarios para mantener una trazabilidad de medición aceptable.

En consonancia con los elementos globales descritos y teniendo en cuenta el objetivo planteado, se presenta la siguiente propuesta de criterios para un esquema de actividades de aseguramiento de la calidad mediante la participación en ejercicios de intercomparación y la realización de controles internos, incluyendo estos últimos

por ejemplo adiciones, uso de materiales de referencia (certificados cuando sea posible), realización de duplicados y blancos.

5.1 Ejercicios de intercomparación

Las intercomparaciones de laboratorios tienen varios objetivos y pueden ser utilizadas por los laboratorios que participan en las mismas y por otras entidades. Son una actividad complementaria a los procedimientos internos de control de calidad de los laboratorios ⁽³¹⁾, mediante una evaluación externa que confirma su competencia y capacidad técnica en materia de ensayo, y ofrece a los laboratorios un medio objetivo para evaluar y demostrar la fiabilidad de los datos que se obtienen en la ejecución de los ensayos analíticos. Esta evaluación puede ser realizada por los propios laboratorios, sus clientes o también otras partes interesadas como organismos de acreditación o instancias reglamentarias ⁽³⁵⁾.

5.1.1. Establecimiento de familias de ensayo y frecuencias de participación

Los laboratorios pueden clasificar los ensayos que realizan en “**familias de ensayo**” ⁽³⁰⁾ con el objetivo de establecer una adecuada planificación de sus actividades de intercomparación. Por otra parte, el documento EA-4/18:2010 “*Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation*” ⁽³⁸⁾ introduce el concepto de “subdisciplina”, que razonablemente puede relacionarse con el de familia de ensayo. Dicho documento también expone una serie de criterios a tener en cuenta a la hora de establecer las familias de ensayo, así como sus frecuencias de participación en intercomparaciones.

Junto a éstos, se han tomado en consideración otras referencias ⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽¹¹⁾⁽²⁷⁾ para desarrollar los siguientes criterios en cuanto al establecimiento de familias de ensayo:

- a. La **técnica de medida** es el criterio prioritario para establecer una clasificación por familias de ensayo.
- b. Dentro de una misma técnica, los aspectos relacionados tanto con **pretratamientos** (ej.: etapas de filtración, digestión, extracción, concentración) como **variaciones sustanciales en las condiciones analíticas** (ej. reactivos, columnas cromatográficas, nebulizadores diferentes) pueden conducir a la identificación de familias distintas ⁽³²⁾.
- c. La declaración de “**matriz representativa**” (ver apartado 3, *Definiciones*) puede permitir agrupar productos a ensayo y, por tanto, simplificar la clasificación en familias. Esta declaración puede tener su origen en las

normas de referencia para métodos normalizados o en el alcance de las validaciones desarrolladas internamente por los laboratorios.

- d. En el caso de **técnicas multiparamétricas**, la identificación de una familia de ensayo permite establecer la equivalencia para evaluar la calidad de los resultados de todos los parámetros incluidos en ella ⁽³¹⁾⁽³⁸⁾. En este sentido el laboratorio procurará participar en intercomparaciones para el mayor número posible de parámetros de la familia.

En cuanto a la **frecuencia de participación** en los ejercicios de intercomparación:

- a. Inicialmente, se considera adecuada una periodicidad de participación mínima anual para cada familia de ensayo identificada según las consideraciones anteriores ⁽³¹⁾⁽³⁸⁾. Esta frecuencia puede revisarse en función de la madurez del sistema.
- b. Cuando el laboratorio declare matriz representativa, se considera suficiente la participación anual en una de las matrices de entre las equivalentes.
- c. Atendiendo a los tres elementos básicos establecidos anteriormente en este documento (extensión de validaciones internas, madurez del sistema de gestión de la calidad y disponibilidad de recursos) el laboratorio podrá revisar sus frecuencias de participación.

En base a estos criterios, en el Anexo I a este documento se presenta un ejemplo tipo de familias de ensayo para los parámetros químicos y microbiológicos más habituales en aguas. Esta relación de familias puede variar en función de los ensayos que realiza cada laboratorio.

5.1.2. Selección de esquemas para intercomparaciones

Puesto que se asume la idoneidad e interés en llevar a cabo ejercicios de intercomparación y una vez identificadas las familias de ensayo, es importante establecer los criterios a tener en cuenta para seleccionar esquemas, normalmente, comerciales.

A la hora de seleccionar un proveedor de ejercicios de intercomparación, debe tenerse en cuenta:

a. La **competencia técnica del proveedor**; para ello:

- Es requisito suficiente la acreditación frente a los criterios de la norma ISO/IEC 17043 ⁽²⁾⁽⁶⁾.
- Si el proveedor no está acreditado para un parámetro o familia dada, el laboratorio debe comprobar dicha competencia verificando que aplica los criterios establecidos en la norma ISO/IEC 17043, especialmente en lo relativo a los estudios de homogeneidad y estabilidad de los circuitos que proporcione. Asimismo también deberán considerarse en dicha evaluación la trayectoria y experiencia del proveedor.
- Cuando lo anterior no se cumple pero se trata del único proveedor disponible en el mercado para un determinado parámetro (o familia), debe tenerse en cuenta toda la información que pueda proporcionar sobre la organización del ejercicio, de modo que pueda tomarse una decisión sobre la eficacia y oportunidad de la participación.

En estos dos últimos casos, dentro de la evaluación de la competencia técnica cabe hacer una mención especial al análisis y tratamiento de los resultados obtenidos en los mismos. De manera general, deben tenerse en cuenta tres aspectos ⁽³³⁾:

- La obtención de un valor asignado por métodos estadísticos robustos que eviten la influencia de valores extremos.
- El estudio de la dispersión de los resultados del conjunto de participantes mediante la comparación de valores entre la desviación estándar de los participantes y la desviación estándar objetivo establecida, y aplicación del estadístico adecuado.
- El cálculo de la incertidumbre del valor asignado (estimada por el proveedor del ejercicio).

b. Las **características de las matrices** o productos a ensayo en lo relativo a su similitud frente a las muestras habitualmente ensayadas por los laboratorios, así como los **niveles de concentración** proporcionados ⁽³⁴⁾.

c. El **número habitual de laboratorios participantes** en cada esquema o distribución, de modo que éste sea suficientemente elevado y, siempre que sea posible, superior a 11 participantes ⁽³³⁾.

d. Para un determinado parámetro, el **tratamiento diferenciado de los datos** en función de la técnica utilizada ⁽³³⁾.

5.1.3. Evaluación de los resultados de intercomparaciones

El proveedor de ejercicios de intercomparación puede utilizar varios estadísticos para llevar a cabo la evaluación del rendimiento ⁽³²⁾⁽³³⁾⁽³⁴⁾ de los resultados de las rondas, siendo el más habitual el z-score:

$$z_i = (x_i - x_{pt}) / \sigma_{pt}$$

donde:

x_i = Valor enviado por el laboratorio

x_{pt} = Valor asignado en el ejercicio.

σ_{pt} = Desviación estándar para evaluación de aptitud.

Aunque en determinadas condiciones pueden ser utilizados los estadísticos z'-score, zeta ξ , número E, etc.[†].

La bibliografía indica cómo interpretar los estadísticos de valoración seleccionados por los organizadores:

- a) En el caso de ensayos físico-químicos, para el uso del z-score ^{(2) (33)}:

$ z \leq 2,0$	resultado satisfactorio
$2,0 < z < 3,0$	resultado cuestionable
$ z \geq 3,0$	resultado no satisfactorio

- b) En el caso de métodos microbiológicos, por sus características, el z-score constituye el principal estadístico para la evaluación de los resultados de intercomparaciones, siendo los criterios de evaluación los mismos que para los ensayos físico-químicos. Asimismo también se considera como no satisfactorio la obtención tanto de falsos positivos como de falsos negativos.

Los laboratorios deben realizar una revisión de los resultados obtenidos en sus participaciones y llevar a cabo el tratamiento que corresponda. Además de la información proporcionada por el organizador comercial, el laboratorio puede, si lo considera necesario, realizar un análisis de tendencias o valorar su histórico de datos para evaluar los resultados de los ensayos de aptitud.

Ante resultados no satisfactorios o cuestionables de los estadísticos utilizados el laboratorio debe analizar las causas y, en caso necesario, tomar las medidas oportunas. El alcance de las mismas debe ser proporcional a las desviaciones ocurridas, de modo que desviaciones puntuales exigen un tratamiento equivalente, en tanto que anomalías sistemáticas pueden sugerir la necesidad de revisar o actualizar la validación o incluso el propio método de ensayo. De

[†] En las referencias 32 y 33 se encuentra una explicación detallada del uso de estos estadísticos. Ver igualmente ejemplo 2 del anexo II.

acuerdo con lo anterior, es responsabilidad del laboratorio gestionar siempre dentro de su Sistema de Gestión de la Calidad el tratamiento de estas desviaciones, sin que esto suponga la apertura obligatoria de una no conformidad salvo que pueda cuestionarse su competencia técnica. En cualquier caso deberá dejarse registro del tratamiento de la incidencia.

Como pautas generales de actuación cabe considerar, por ejemplo:

- a. Revisión de datos (unidades, diluciones, cifras significativas, métodos utilizados por los participantes).
- b. Revisión de condiciones de conservación y manipulación.
- c. Revisión de las condiciones del ensayo (instrumentos de medición, ambientales, condiciones de uso de reactivos y patrones).
- d. Revisión de los controles de calidad internos y externos.

En el Ejemplo 1 del Anexo II se expone esta metodología para el análisis de resultados en una participación con un resultado cuestionable.

Excepcionalmente pueden darse situaciones que requieran una evaluación complementaria como la indicada en los puntos siguientes:

- e. Evaluación de la idoneidad del tratamiento realizado por el proveedor, ya sea en casos de asimetría, comportamiento no normal, métodos no comparables, etc.
- f. Análisis de la incertidumbre del valor asignado o de la desviación estándar para la evaluación de la aptitud (σ_{pt}) y su influencia en la evaluación del rendimiento. Esto puede implicar la utilización de estadísticos diferentes al z-score (z'-score, zeta ξ , número E, etc.).

El ejemplo 2 del Anexo II presenta un tratamiento para estas situaciones excepcionales.

Si tras las actuaciones anteriores el laboratorio no es capaz de identificar las fuentes de error entonces puede proceder, si es posible, a la repetición del ensayo usando la misma muestra recibida originalmente o solicitando una réplica de la misma. Un resultado satisfactorio en esta repetición permite asumir una desviación puntual al método siempre y cuando se acompañe de evidencias que lo justifiquen, por ejemplo resultados correctos en los controles de calidad internos o bien en análisis de material de referencia, no detección de tendencias, etc. En cambio, si el resultado de la repetición vuelve a ser no satisfactorio implica realizar un estudio más detallado del problema considerando la necesidad de tratarlo como un trabajo no conforme.

En el caso de no existir ejercicios de intercomparación para una familia dada o no poder evaluar los resultados por bajo número de participantes, el laboratorio debe considerar el uso de materiales de referencia certificados como fuente de trazabilidad alternativa o bien, en su defecto, alguna otra fuente que permita disponer de un valor de referencia, por ejemplo uso de muestras adicionadas o bien organización de ensayos bilaterales ⁽²⁾.

5.2 Controles de calidad internos

La principal herramienta de uso común en los laboratorios de ensayo orientada a garantizar la fiabilidad de los datos obtenidos es el control de calidad interno. Su objetivo es comprobar, a lo largo del tiempo, la ejecución adecuada y correcta de todos los pasos que componen el proceso de análisis, incluyendo el ajuste o calibración del instrumento de medición. En la práctica supone la evaluación continuada de los parámetros de validación, como pueden ser veracidad, precisión o incertidumbre.

Esta actividad debe ser programada y planificada en el tiempo teniendo en cuenta el uso previsto de los resultados que se obtienen en los ensayos, atendiendo a requisitos reglamentarios o de sus clientes. Un programa de control de calidad interno debería incluir:

- El tipo de muestras de control (blancos, patrones, muestras naturales adicionadas o no, materiales de referencia, etc.)
- El tipo de control (recuperación, precisión, veracidad o exactitud a partir de medidas individuales, duplicados, etc.)
- Los niveles de concentración utilizados de acuerdo con el rango de trabajo habitual.
- El establecimiento de criterios de aceptación que permitan la toma de decisiones.
- La frecuencia de realización.
- El seguimiento de los resultados obtenidos.

Los dos primeros puntos se tratan de manera más detallada en los apartados 5.2.1 y 5.2.2.

En cuanto a los niveles de concentración, si las muestras ensayadas están fuera de dichos rangos, el laboratorio debería incluir valores de control en el orden de concentración obtenido.

A la hora de establecer los criterios de aceptación debe tenerse en cuenta si existen requisitos legales, normativos o de cliente (límites de control objetivo). Por otro lado, el laboratorio puede atender también a los resultados obtenidos a partir de pruebas experimentales para establecer sus propios requisitos (límites de control estadístico) ⁽²⁴⁾.

El uso de uno u otro tipo de límite puede depender de los datos iniciales con que cuente el laboratorio. Cuando no se dispone de suficientes datos experimentales es habitual fijar inicialmente unos límites de control objetivo; si ya se dispone de datos suficientes sobre el comportamiento del método, se pueden utilizar los límites de control estadísticos, que deben ser coherentes con los requisitos legales, normativos o de cliente.

En el caso de que el laboratorio haya validado sus métodos, estos límites deben ser coherentes con los resultados declarados en la validación y deben confirmarse en el tiempo. Si no es así, el laboratorio deberá plantearse la revisión de límites en uso ⁽¹⁷⁾, situación que puede ser más probable durante las fases iniciales de la implantación de los controles de calidad.

En el caso de que los resultados del control de calidad muestren una mejora en el comportamiento del método, el laboratorio debe valorar la necesidad o no de ajustar estos límites teniendo en cuenta la idea de que es el uso previsto para los datos, y no la capacidad del laboratorio, lo que define la calidad necesaria.

La frecuencia de obtención de valores de control es responsabilidad del laboratorio y debería tener en cuenta factores como:

- los riesgos de asumir errores importantes y la gravedad de sus consecuencias ⁽²⁰⁾,
- mantener un equilibrio entre las actividades de control y la carga de trabajo del laboratorio ⁽²⁷⁾

Ante resultados de control de calidad internos que incumplan puntualmente los criterios establecidos, el laboratorio debe tomar las medidas oportunas para analizar las causas. El conjunto de medidas puede abarcar:

- Comprobación de datos de preparación de las muestras de control.
- Repetición del control.
- Uso de patrones alternativos.
- Comprobación de errores instrumentales.
- Idoneidad de los límites de acción establecidos (histórico de datos).

Ante estos incumplimientos puntuales, el laboratorio, atendiendo a criterios técnicos, puede decidir informar sobre los resultados obtenidos indicando a sus clientes, si procede, que estos pueden verse afectados por esta situación.

Si los valores de los controles repetidos continúan fuera de control ⁽²⁷⁾, el laboratorio no debería informar a sus clientes de los resultados analíticos obtenidos, y ante incumplimientos sistemáticos puede ser necesario revisar la adecuación al uso del método de ensayo.

Una vez establecido el programa de control de calidad es necesario definir un método de seguimiento y evaluación del mismo. Una forma sencilla puede ser disponer de una tabla donde se hayan incluido los límites de control para ver si el resultado cumple o no cumple, aunque los gráficos de control son una herramienta más extendida, ya que proporciona más intuitivamente información adicional como, por ejemplo, tendencias⁽²⁷⁾.

Los valores de control se introducen en un gráfico en el que se han incluido los límites de control (de aviso y de acción) establecidos como criterios de aceptación. De esta forma es posible visualizar que el proceso de medida se mantiene dentro de los límites marcados. Es importante que los límites de control y la línea central permanezcan estables en el tiempo, ya que de lo contrario se dificultaría la detección de cambios graduales en la calidad analítica. Los límites de control objetivo sólo deberían modificarse cuando las necesidades de los clientes o la legislación aplicable cambien. En el caso de límites de control estadístico, el cambio debe considerarse sólo si ha tenido lugar una variación significativa en la precisión o en el sesgo y ni siquiera el hecho de que haya un cambio significativo implica necesariamente una actualización de límites, ya que pueden existir diferencias estadísticamente significativas que no afecten a la calidad declarada del método⁽²⁷⁾.

En el Anexo III se presentan ejemplos de elaboración e interpretación de gráficos de control de ensayos físico-químicos y en el Anexo V para ensayos microbiológicos.

5.2.1. Ensayos físico-químicos

Las muestras de control deben someterse, en la medida de lo posible, al procedimiento de ensayo en todas sus fases, y ser lo más similares a las muestras reales analizadas por el laboratorio. Se asume como necesario realizar al menos un control de calidad por cada serie analítica⁽²⁰⁾, en la que debería incluirse un blanco de control, siempre que aplique, y alternar las muestras de control en los tipos que se describen a continuación como a), b), c) y d), en la frecuencia que establezca el laboratorio en su plan de control de calidad.

Por otra parte, en el caso de parámetros que estén agrupados bajo una misma familia de ensayo se considerará la posibilidad de realizar los controles de calidad alternativamente entre dichos parámetros, de forma que se garantice que todos ellos queden controlados en el plazo de un año⁽⁸⁾.

Se pueden utilizar varios tipos de muestras de control:

- a) Material de referencia certificado –MRC- (incluye material matricial y procedente de ejercicios de intercomparación)

Siempre que estén disponibles, su uso permite identificar errores sistemáticos (sesgo):

$$\text{Sesgo (\%)} = \frac{(V_M - V_R)}{V_R} \cdot 100$$

Donde:

V_R , es el Valor teórico o de referencia

V_M , es el Valor experimental

y estimar la repetibilidad (S_r) de las medidas mediante determinaciones repetidas dentro del mismo lote (duplicados), y la reproducibilidad (S_R) a lo largo del tiempo en diferentes lotes.

Se recomienda que su frecuencia de uso se base en criterios prácticos y económicos.

El laboratorio debe tener en cuenta que la incertidumbre estándar (u_{MRC}) declarada para el MRC utilizado no sea significativa frente a la reproducibilidad del método (S_R), por ejemplo, menor o igual a 0,2 veces ⁽²⁹⁾.

- b) Muestras adicionadas (con material de referencia, soluciones patrón comerciales o preparadas internamente).

Como no siempre es posible disponer de MRC matriciales o los existentes cuentan con una homogeneidad tal que proporcionan una dispersión mucho menor que las muestras naturales, el laboratorio puede hacer uso de muestras adicionadas con soluciones patrón, comerciales o preparadas internamente. Los patrones utilizados en estas preparaciones deben ser diferentes a los empleados para la calibración instrumental.

Estas muestras de control pueden dar indicación tanto de errores sistemáticos (sesgo evaluado como recuperación)[‡]:

$$\text{Rec (\%)} = \frac{V_M}{V_R} \cdot 100$$

Donde:

V_R , es el Valor teórico o de referencia

V_M , es el Valor experimental

como aleatorios (reproducibilidad dentro del laboratorio S_R).

[‡] Se puede emplear la expresión matemática del sesgo corrigiendo con el valor del blanco obtenido en la matriz.

En el caso de controles próximos al límite de cuantificación sobre muestras adicionadas, cabe pensar en una situación ideal en la que el valor de concentración de la muestra control sin fortificar sea inferior al límite de detección, de modo que su valor puede considerarse 'cero'. Sin embargo, en matrices complejas (aguas residuales, lodos, etc.) esto no ocurre y el control interno a estos niveles de concentración puede resultar casi inviable. Como alternativas puede recurrirse:

- A Materiales de Referencia Certificados comerciales en el valor deseado, siempre que estén disponibles en el mercado.
- A diluciones máximas sin eliminar el efecto matriz (ej.: 30% del valor obtenido) o mezcla de matrices.
- En combinación con otras alternativas, a la confirmación de la bondad del control metrológico del equipo de medición mediante muestras de control enriquecidas sobre agua de laboratorio.

Debe tenerse en cuenta que, cuando esto ocurre, los valores habituales de las muestras naturales que analiza el laboratorio están lejos del límite de cuantificación y, por tanto, su frecuencia y necesidad de confirmación es menos crítica que para el resto de concentraciones medidas.

De forma general, la concentración mínima de la fortificación debe ser de 1 a 5 veces el valor de concentración del analito en la muestra de control ⁽¹⁶⁾. En cualquier caso, la fortificación mínima debe ser tal que no se produzca solapamiento en los intervalos de confianza de los valores de la muestra de control sin fortificar y fortificada.

c) Muestras duplicadas (naturales o material de referencia)

El ensayo por duplicado de muestras de rutina del laboratorio permite obtener información sobre la repetibilidad del método, heterogeneidad de la muestra y posibles errores accidentales.

Numéricamente se obtiene a partir del valor del rango, o diferencia entre valores experimentales, en valor absoluto o relativo:

$$R = |V_1 - V_2|$$

$$R (\%) = \frac{|V_1 - V_2|}{\frac{V_1 + V_2}{2}} \cdot 100$$

d) Patrón interno de recuperación

Se utilizan generalmente en aquellos métodos con procesos de extracción y/o purificación de la muestra, para evaluar el rendimiento en cada muestra. Se trata de una cantidad conocida de uno o varios componentes, que se

añaden a las muestras antes de su extracción, de forma que se controla la eficacia de la extracción y el porcentaje de recuperación de cada muestra. El componente añadido imita el comportamiento de los analitos de interés y son compuestos poco probables de ser encontrados en muestras medioambientales.

e) Blancos

Consiste normalmente en una muestra de agua de laboratorio a la que se adicionan los mismos reactivos, si procede, que a las muestras de rutina.

Además de permitir realizar un seguimiento del límite de detección, estos deben incluirse siempre que sea necesario identificar posibles fuentes de error como, por ejemplo:

- Contaminación de reactivos
- Contaminación de recipientes o del sistema de medida (efecto memoria)
- Errores instrumentales (ejemplo: deriva de la línea de base)

La posición de los blancos en la serie analítica dependerá del control buscado, pudiendo situarse al principio, al final o en ambas posiciones de la serie, o incluso puede ser necesario contemplar puntos intermedios atendiendo al grado de contaminación de las muestras a ensayo. Los resultados obtenidos deben responder a los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio, que pueden estar relacionados con la señal instrumental (métodos cromatográficos), o bien con los límites de detección o cuantificación de los métodos validados ⁽²⁸⁾.

Para confirmar el criterio de aceptación establecido inicialmente el laboratorio puede hacer uso del histórico de valores disponibles de blancos.

5.2.2. Ensayos microbiológicos

En cuanto a las determinaciones microbiológicas, indicar en primer lugar que éstas cuentan con una serie de limitaciones que pueden resumirse en:

- El ensayo microbiológico parte de suspensiones de microorganismos vivos, que pueden comportarse de una manera aleatoria y, por lo tanto, el número de colonias observadas es solamente una aproximación del número real de dichos microorganismos ⁽²¹⁾.
- Interacciones producidas por la microbiota acompañante al microorganismo.

- Baja robustez condicionada por las condiciones de incubación, el medio de cultivo, la preparación de la muestra, la experiencia del personal, etc.

Como consecuencia de lo anterior, no siempre es posible disponer de materiales de referencia certificados que garanticen una adecuada trazabilidad.

Los controles de calidad microbiológicos incluyen:

1. Control de medios de cultivo (selectividad, productividad y especificidad)
2. Control de cepas.
3. Control de ensayos (precisión y recuperación)
4. Control de condiciones ambientales

1. Control de medios de cultivo (selectividad, productividad y especificidad).

En el momento de establecer la tipología y frecuencia de los controles de calidad sobre los medios de cultivo, se debe diferenciar entre:

- a) Medios listos para su uso (incluyendo los parcialmente completos)

El laboratorio debería adquirir sus medios a fabricantes con sistemas de gestión de calidad reconocidos (certificación ISO 9001) y comprobar que los controles realizados por ellos están basados en la norma ISO 11133. En este caso el laboratorio no tendrá que repetir el control de calidad, salvo cuando realice la primera compra del medio de cultivo o por cambio de fabricante. El resto de tipos de control de calidad microbiológico (ej. recuperación de ensayos) sirven para realizar un control indirecto sobre los medios empleados por el laboratorio. En otras circunstancias, el laboratorio deberá establecer un esquema de control propio y basado en la norma ISO 11133 ⁽⁴⁾ ⁽²⁵⁾.

- b) Medios preparados internamente por el laboratorio, a partir de formulaciones deshidratadas comerciales

En este caso, deben establecerse los controles de calidad a realizar en base a la norma ISO 11133 teniendo en cuenta, cuando procedan, las especificaciones del fabricante ⁽²⁵⁾ ⁽²⁶⁾.

- c) Medios preparados a partir de sus componentes básicos individuales.

Además de asegurar la productividad del medio, el laboratorio deberá identificar y seleccionar las especificaciones aplicables a los controles a

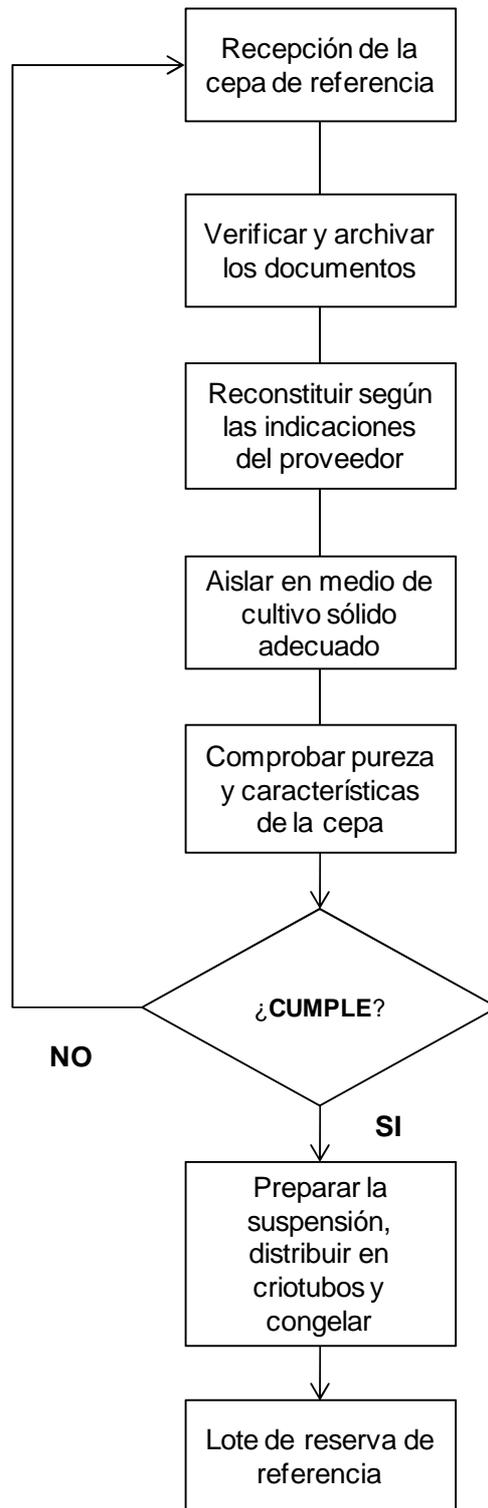
realizar ⁽²⁵⁾. Para ello puede recurrir a bibliografía, normas de ensayo específicas o la norma ISO 11133.

En el Anexo IV se incluyen tablas con propuestas para el control de medios de cultivo y las cepas a utilizar.

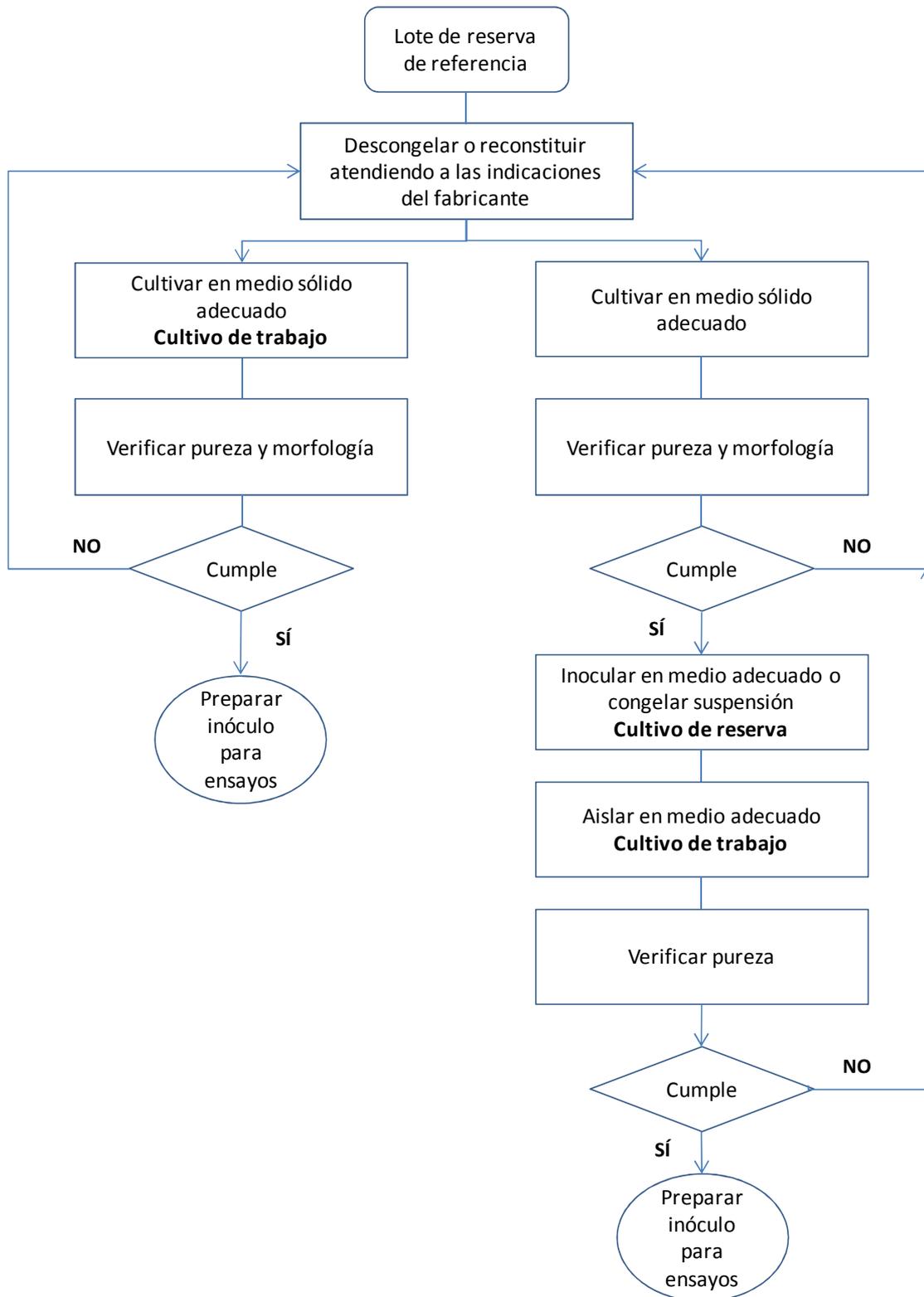
2. Control de cepas

El control de las cepas microbianas en el laboratorio tiene como objetivo demostrar la perdurabilidad de las cepas utilizadas en el control de calidad y la estabilidad genética de las mismas a lo largo del tiempo de almacenamiento. Las cepas son fuente de trazabilidad en las medidas realizadas en el laboratorio y se usan para la validación de los métodos, el control de medios de cultivo y el control interno de calidad de los métodos usados en el laboratorio.

Es importante distinguir entre cepa de referencia, lote de reserva de referencia, cultivo de reserva y cultivo de trabajo (ver apartado de Definiciones). Para la preparación de un lote de reserva de referencia a partir de una cepa de referencia seguir el siguiente esquema ⁽²⁵⁾:



Para la preparación de los cultivos de reserva y de trabajo a partir de un lote de reserva de referencia, seguir el siguiente esquema ⁽²⁵⁾:



Fuente: Anexo B.2 ISO 11133:2014

El laboratorio deberá establecer un control de calidad para cada tipo de cepa (ver ejemplo en la tabla siguiente):

- **Referencia:** una vez recibida y reconstituida la cepa se realizarán pruebas bioquímicas y de crecimiento en medios de cultivo específicos de identificación disponibles en el laboratorio para tal fin.
- **Reserva:** por cada cepa obtenida comprobar su pureza en medio de cultivo no selectivo y crecimiento y morfología adecuados en los medios de cultivo en los que va a utilizarse como control.
- **Trabajo:** por cada uso comprobar su pureza en medio de cultivo no selectivo.

Cepa: *Escherichia coli*
(WDCM 00013/ATCC 25922/CECT 434)

	Pruebas morfológicas y enzimáticas	Crecimiento en medio de cultivo	Comprobar pureza y viabilidad
Cepa de referencia	Gram Oxidasa Catalasa Indol Caldo lactosado	Agar Tergitol TTC Agar Cromogénico Colilert	Sí
Cepa de reserva	NO	Agar Tergitol TTC Agar Cromogénico Colilert	Sí
Cepa de trabajo	NO	NO	Sí

3. Control de ensayos (precisión y recuperación)

Estas actividades de control de calidad deben realizarse, en la medida de lo posible, con muestras naturales tanto positivas (inoculadas o contaminadas naturalmente) como negativas (en el caso de controles de recuperación).

Para inocular muestras se podrán emplear:

- Suspensiones de cepas de colección reconocida.
- Material de referencia.
- Muestras naturales.

El conjunto de actividades de control de calidad se realizará en condiciones de reproducibilidad y dependerán del tipo de ensayo:

- Ensayos cualitativos: límite de detección y blancos.
- Ensayos cuantitativos: recuperación, precisión y blancos.

Los criterios de aceptación de estos controles, al igual que para los métodos físico-químicos, deben estar relacionados, al menos en un principio, con los

resultados declarados en la validación ⁽¹⁷⁾. La supervisión periódica de estos resultados puede confirmar o no el cumplimiento de los criterios establecidos. En este segundo caso, el laboratorio deberá plantearse la coherencia de los nuevos criterios con los derivados de su validación y considerar su revisión. Los gráficos de control son una herramienta comúnmente empleada para ello. Así, la secuencia de actuación podría ser:

- Elaborar el gráfico de control inicial a partir de los datos de validación.
- Incorporar resultados de control de calidad interno derivados de un periodo temporal suficiente o un número significativo de resultados de control para mejorar el conocimiento de la robustez del método.
- Recalcular los valores medios de recuperación y precisión y los límites de control correspondientes, para su aplicación al gráfico de control, si procede.
- Actualizar periódicamente los límites de control en los casos en que se obtengan diferencias significativas en los parámetros de control (por ejemplo, prueba t y prueba F) al incorporar nuevos resultados.

En el Anexo V se incluyen ejemplos de aplicación de esta herramienta, tanto de recuperación (en % y escala logarítmica) como de precisión.

Ensayos cualitativos: control del límite de detección

Con una frecuencia determinada (inicialmente puede ser mensual) se inocularán muestras negativas con inóculos de suspensiones microbianas con recuento bajo cercano al límite de detección (<10 UFC), y se realizará el ensayo según el procedimiento de cada laboratorio. Si en la muestra analizada no se espera microbiota acompañante, se deberá contaminar además con un nivel de inóculo adecuado de un microorganismo interferente.

El control se considera correcto si el resultado obtenido es “Ausencia” en muestras no inoculadas y “Presencia” cuando la muestra haya sido inoculada.

Ensayos cuantitativos: control de recuperación

Con una frecuencia determinada (inicialmente puede ser mensual), se inocularán las muestras con inóculos de suspensiones microbianas con un recuento comprendido entre 20 UFC ⁽²¹⁾ y el límite superior de recuento en placa, y se realizará el ensayo según el procedimiento de cada laboratorio.

También se puede realizar el control de recuperación a partir de los resultados obtenidos en ejercicios intercomparación.

La recuperación en tanto por ciento se calcula como:

$$Rec (\%) = \frac{V_M}{V_R} \cdot 100$$

O bien en escala logarítmica:

$$Rec (\%) = 10^{-d} \cdot 100$$

Donde:

d, es $V_R (\log) - V_M (\log)$

V_R , es el Valor teórico o de referencia

V_M , es el Valor experimental

Ensayos cuantitativos: control de precisión

Con una frecuencia determinada (inicialmente puede ser mensual), se realizarán réplicas de muestras naturales. Los recuentos comprendidos entre 20 UFC y el límite superior de recuento de cada método se encuentran dentro del rango de precisión óptimo, si bien la precisión de los recuentos comprendidos entre 10 y 20 UFC siguen siendo aceptables ⁽¹⁰⁾. Por tanto, este control debe asegurar que mayoritariamente los resultados obtenidos proporcionen recuentos por encima de 10 UFC.

La precisión se calcula como:

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}}$$

Donde:

y_{iA} , es el dato transformado en Log_{10} de la réplica A (UFC/volumen analizado (mL))

y_{iB} , es el dato transformado en Log_{10} de la réplica B (UFC/volumen analizado (mL))

i , es el número de muestras

n , es el número de repeticiones

Que puede expresarse en tanto por ciento:

$$CV (\%) = (1 - 10^{-s_R}) \cdot 100$$

Control de blancos

El control de blancos supone la realización de un ensayo con una muestra de agua estéril, cuyo resultado siempre deberá ser <1 UFC/volumen testado o, ausencia, en caso de ensayo cualitativo. Esta actividad además de controlar las condiciones de ejecución del ensayo, complementa los controles correspondientes a los realizados para medios de cultivo, material de filtración, controles ambientales y de superficies del laboratorio, por lo que su frecuencia queda supeditada al conjunto de los mismos.

4. Control de condiciones ambientales

Tiene como objetivo controlar las condiciones ambientales y el grado de limpieza de las superficies de trabajo y de las instalaciones del laboratorio de microbiología.

Para ello se realiza el recuento de microorganismos aerobios (bacterias y hongos), utilizando por ejemplo los siguientes medios de cultivo y condiciones de incubación:

- Recuento de bacterias aerobias: medio de cultivo no selectivo (TSA, AN, PCA) incubando a temperaturas de 30-35°C durante 72 horas, o bien 36±2°C durante 48 horas.
- Recuento de hongos un medio de cultivo específico (Sabouraud-Cloranfenicol, Rosa Bengala) incubando a temperaturas de 20-25°C o 30±2°C, durante 5 a 7 días.

En el caso de control de superficies se utilizará, preferentemente, un medio que contenga sustancias neutralizantes frente a posibles restos de desinfectantes y detergentes que pudieran existir en la superficie a estudiar.

Control ambiental:

Se basa en el recuento de colonias crecidas en un medio de cultivo sólido no selectivo que ha estado expuesto durante un tiempo determinado a los microorganismos presentes en el ambiente. Se puede utilizar una de las siguientes técnicas:

- Exposición durante, por ejemplo 15 minutos ⁽²⁶⁾, de una placa sin tapar con el medio de cultivo elegido, a la sedimentación de microorganismos presentes en el aire. Incubar en las condiciones indicadas anteriormente. En el caso de cabinas de flujo laminar el tiempo de exposición será de 30 minutos. La expresión de resultados será de recuento de UFC/placa.

- Aspiración de un volumen determinado de aire (como mínimo 100L) e impactación sobre una placa de cultivo utilizando un muestreador de aire automático. Incubar en las condiciones indicadas anteriormente. El resultado se expresará como recuento de UFC/m³.

Control de superficies:

Se basa en el recuento de colonias crecidas sobre un medio de cultivo sólido no selectivo, que se ha puesto en contacto con las superficies de trabajo un tiempo determinado (por ejemplo 10 segundos) y ejerciendo una presión uniforme. Se pueden utilizar varios tipos de superficies de contacto, como por ejemplo placa de contacto Rodac, láminas de contacto, hisopo. El resultado se expresa como recuento de UFC/cm².

En el laboratorio se deben definir las zonas a estudiar y los controles a efectuar en cada una de ellas. Se pueden definir las siguientes:

- Zonas de trabajo: Poyatas de preparación de medios de cultivo, de inoculación de muestras, de lecturas de resultados.
- Cabinas de flujo laminar.
- Incubadoras.
- Otras zonas relacionadas con las zonas de trabajo: estanterías de las zonas de trabajo.

En la tabla siguiente se incluyen las posibles alternativas de control, frecuencias y criterios de aceptación.

	Control ambiental	Control Superficies	Criterios aceptación	
			Ambiental ⁽¹⁾ UFC/placa	Superficies UFC/cm ²
Poyatas preparación de medios	Sí	Sí	<15	<1
Zona de siembra y filtración de muestras			<15	<1
Zona de lecturas de resultados			<15	<1
Cabinas de flujo laminar			<1	<1
Incubadoras	No		--	<1

⁽¹⁾ Este criterio de aceptación se establece para el control ambiental por sedimentación.

Estas actividades se realizan en condiciones normales de trabajo y complementan los controles correspondientes a los realizados para medios de

cultivo, material de filtración y blancos, por lo que su frecuencia queda supeditada al conjunto de los mismos.

El laboratorio debe establecer el plan de actuaciones a seguir en el caso de que los controles no cumplan los criterios establecidos. Todos los resultados de los controles ambientales y de superficie de las instalaciones del laboratorio deberán estar registrados.

6. REFERENCIAS

Generales:

1. UNE-EN ISO/IEC 17025:2005. Evaluación de la conformidad. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
2. ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment. General requirements for proficiency testing.
3. ISO/IEC Guide 99-12:2007/JCGM 200:2008, International vocabulary of metrology. Basic and general concepts and associated terms (VIM, 3rd edition)
4. Accreditation for Microbiological Laboratories, 2013. Eurachem Guide AML.
5. GA-ENAC - LEC Rev. 6 Criterios Generales para la acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según Norma UNE-EN-ISO/IEC 17025. ENAC, Octubre 2014
6. G-ENAC - 14 Rev. 1 Guía sobre la participación en programas de intercomparación. ENAC, Septiembre 2008.
7. NT - 18 Rev. 1 Laboratorios de Ensayo: Acreditación para Categorías de Ensayo. ENAC, Junio 2004.
8. NT - 19 Rev. 3 Laboratorios de Ensayo: Acreditación de Análisis de Residuos de Plaguicidas en Productos Alimentarios. ENAC, Junio 2011
9. NT - 32 Rev. 5 Análisis microbiológico: Documento aclaratorio, ENAC, Febrero 2015
10. UNE-EN ISO 8199:2005. Calidad del Agua. Orientaciones generales para el recuento de microorganismos en cultivo.

Sobre validación:

11. NATA Technical Note 17 - Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods (Octubre 2013)
12. IUPAC (2002), Harmonised guidelines for single laboratory validations of methods of analysis, Pure Appl.Chem. 74(5), pp 835-855
13. ISO 16140:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Protocol for the validation of alternative methods. ISO 16140:2003/Adm.1:2011).
14. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, Eurachem (2014).
15. EA- EDQM/OMCL TA. Validation of analytical procedures. Mayo 2005
16. Guide to Method Flexibility and Approval of EPA Water Methods. EPA. December 1996

17. Guía para el funcionamiento de laboratorios de ensayos de aguas. Parte II: Criterios para la validación de los métodos de ensayo físico-químicos y microbiológicos. AEAS. Octubre 2014.
18. Guide to Method Validation for Quantitative Analysis in Chemical Testing Laboratories (PS15). INAB. Issue 3 April 2012.

Sobre control de calidad:

19. Harmonized guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. IUPAC Technical Report. Michael Thompson, Roger Wood. 1995.
20. ISO/TS 13530:2009 Water quality - Guidance on analytical quality control for chemical and physicochemical water analysis.
21. ISO/TR 13843:2000 Water quality - Guidance on validation of microbiological methods.
22. Guide to quality in analytical chemistry Citac/Eurachem Guide. 2002
23. Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement: 1996 (EURACHEM/IUPAC/ISO/AOACI)
24. Setting control limits based on demand on measurement quality, Magnusson B. Eurachem workshop on Internal QC in Berlin, 2012
25. UNE-EN ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production storage and performance testing of culture media.
26. UNE-EN ISO 7218:2008 Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Requisitos generales y guía para el examen microbiológico. (ISO 7218:2007). ISO 7218:2007/Amd 1:2013
27. Informe Técnico Nordtest 569. Control de Calidad Interno. Manual para laboratorios químicos. Primera Edición en español, 2013. (<http://nordtest.info/>)
28. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. 22nd Edition. 2012.
29. ISO 21748:2010 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation.

Sobre intercomparaciones:

30. NT - 03 Rev. 5 Política de ENAC sobre Intercomparaciones (Septiembre 2012)
31. EA-2/10. EA Policy for Participation in National and International Proficiency Testing Activities (01-06-11).
32. Eurachem. Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes Second Edition 2011.

33. ISO 13528:2015 – Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
34. ISO/TS 20612:2007 Water quality – Interlaboratory comparisons for proficiency testing of analytical chemistry laboratories.
35. IUPAC/CITAC Guide: Selection and use of proficiency testing schemes for a limited number of participants – chemical analytical laboratories (IUPAC Technical Report). Ilya Kuselman, Ales Fajgelj. 2010. Pure Appl.Chem, Vol 82, Nº 5, pp 1099-1135.
36. IUPAC. Thompson, M. and Ellison, S.L.R., Fitness for purpose – the integrating theme of the revised Harmonised Protocol for Proficiency Testing in Analytical Chemistry Laboratories. Accred. Qual. Assur. 11, 373-378, (2006)
37. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. Pure Appl. Chem., 78, 1; 145-196, (2006). IUPAC Technical Report.
38. EA-4/18 TA (rev. 00). Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation, Junio 2010

Sobre materiales de referencia:

39. ILAC G9:2005. Guidelines for the Selection and Use of Reference Materials.
40. ISO Guide 30:1992 Terms and definitions used in connection with reference materials. ISO Guide 30:1992/Amd 1:2008 Revision of definitions for reference material and certified reference material.
41. ISO Guide 32:1997 Calibration in analytical chemistry and use of certified reference materials.
42. ISO Guide 33:2000 Uses of certified reference materials
43. IUPAC technical Report. Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement-. Pure & Appl. Chem., Vol. 71, No. 2, pp. 337–348, 1999.
44. EA-4/14 INF (rev.00) Selection and Use of Reference Materials Feb. 2003

Sobre incertidumbre:

45. ISO/TS 19036:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations. ISO/TS 19036:2006/Amd 1:2009
46. ISO 21748:2010, Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation
47. Nordtest TR 537. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories (NT TR 537) Edition 3.1. Aproved 2012-11
48. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition, Eurachem (2012)

ANEXO I – Familias de ensayo

Abreviaturas:

CNT: Aguas Continentales
CNS: Aguas de Consumo
MAR: Aguas Marinas

RES: Aguas Residuales
REG: Aguas Regeneradas

Categoría 0 (Ensayos en laboratorio permanente)

Parte A: Análisis Físico-Químicos

ENSAYO	FAMILIAS ^(NOTA 2)		
	1	2	3
Amonio por espectrofotometría UV-Vis (Indofenol)	CNT CNS MAR	RES REG	
Aniones mediante cromatografía iónica	CNT CNS RES REG	MAR	
Carbono orgánico no purgable por espectrofotometría IR	CNT CNS	MAR	RES REG
Cationes mediante cromatografía iónica	CNT CNS	MAR	
Cianuros Totales por espectrofotometría UV-VIS	CNT CNS	MAR	RES REG
Cloro combinado (calculado)	CNS	MAR	REG
Cloro residual libre y total por espectrofotometría UV VIS	CNS	RES	
Cloro residual libre y total por titulación volumétrica	CNS	MAR	RES
Cloruros por espectrofotometría UV-VIS	CNT CNS		
Color por comparación visual	CNS MAR	REG	RES
Compuestos Orgánicos Volátiles Cromatografía de gases /Espectrometría de masas (CG/MS)	CNT CNS	MAR	REG

ENSAYO	FAMILIAS (NOTA 2)		
	1	2	3
Conductividad por electrometría	CNT CNS RES REG	MAR	
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅) por método respirométrico	CNT RES REG		
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅) por electrometría	CNT RES REG		
Demanda Química de Oxígeno (DQO) por espectrofotometría UV-VIS	CNT RES REG	MAR	
Demanda Química de Oxígeno (DQO) por volumetría	CNT RES REG	MAR	
Fósforo Total por espectrofotometría UV-VIS	CNT	RES REG	RES REG
Fluoruros por electrometría	CNT CNS	MAR	RES REG
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos por Cromatografía de Líquidos de alta eficacia/fluorescencia (HPLC/FLD) [Punto ebullición < 400 °C]	CNT CNS	MAR	REG
Índice de actividad Alfa total por el método de la evaporación directa mediante contador proporcional	CNT CNS		
Índice de actividad Beta total y beta resto mediante contador proporcional	CNT CNS		RES REG
Mercurio total por Fluorescencia atómica	CNT CNS	MAR	RES REG
Metales (NOTA 3) disueltos por espectroscopia de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP -AES)	CNT CNS	MAR	RES REG
Metales (NOTA 3) disueltos por espectroscopia de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).	CNT CNS	MAR	RES REG
Metales (NOTA 3) totales por espectrofotometría de absorción atómica.	CNT CNS	MAR	RES REG
Metales (NOTA 3) totales por espectroscopia de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP -AES)	CNT CNS	MAR	RES REG
Metales (NOTA 3) totales por espectroscopia de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).	CNT CNS	MAR	REG

ENSAYO	FAMILIAS (NOTA 2)		
	1	2	3
Microcistinas por cromatografía líquida de alta eficiencia/masas (HPLC/MS)	CNT CNS		
Microcistinas por enzima-inmuno-ensayo (ELISA)	CNT CNS		
Nitratos por espectrofotometría UV-VIS	CNT CNS MAR	RES REG	
Nitritos por espectrofotometría UV-Vis	CNT CNS MAR	RES REG	
Nitrógeno Kjeldahl mediante digestión, destilación y posterior valoración ácido-base	CNT RES REG		
Nitrógeno total espectrofotometría UV-VIS	CNT CNS	RES REG	
Nitrógeno total por quimioluminiscencia	CNT	RES REG	
Ortofosfatos por espectrofotometría UV-VIS	CNT CNS MAR	RES REG	
Plaguicidas por Cromatografía de Gases /espectrometría de masas (CG/MS)	CNT CNS	MAR	RES REG
Plaguicidas por SPME/GC/MSMS	CNT CNS	MAR	REG
pH por electrometría	CNT CNS MAR RES REG		
Sólidos en suspensión mediante filtración y gravimetría.	CNT RES REG	MAR	
Tritio por centelleo líquido	CNT CNS		
Turbidez por nefelometría	CNT CNS MAR	RES REG	

Parte B: Análisis Microbiológicos

ENSAYO	FAMILIAS (NOTA 2)		
	1	2	3
Detección y recuento de <i>Legionella</i> spp. con identificación de <i>Legionella pneumophila</i>	CNT CNS	MAR	RES REG
Investigación de coliformes totales mediante la técnica del sustrato definido. (Ausencia/Presencia)	CNT CNS RES REG	MAR	
Investigación de <i>Escherichia coli</i> B-glucuronidasa positivos mediante la técnica del sustrato definido (Ausencia/Presencia)	CNT CNS RES REG	MAR	
Investigación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mediante la técnica del sustrato definido (Ausencia/Presencia)	CNT CNS		
Investigación de <i>Salmonella</i> spp (Presencia/Ausencia)	CNT CNS MAR RES		
Investigación de <i>Staphylococcus aureus</i> (Ausencia/Presencia)	CNT MAR		
Recuento de <i>Clostridium perfringens</i> (Filtración)	CNT CNS	MAR	
Recuento de Clostridios sulfito reductores	CNS		
Recuento de Coliformes mediante técnica del sustrato definido	CNT CNS RES REG	MAR	
Recuento de Coliformes totales (Filtración)	CNT CNS	MAR	RES REG
Recuento de Coliformes termotolerantes (Filtración)	CNT CNS	MAR	RES REG
Recuento de Enterococos/Estreptococos (Filtración)	CNT CNS	MAR	RES REG
Recuento de Enterococos mediante técnica del sustrato definido	CNT CNS RES REG	MAR	
Recuento en placa de aerobios a 22º C	CNT CNS		
Recuento en placa de aerobios a 37º C	CNT CNS		

ENSAYO	FAMILIAS (NOTA 2)		
	1	2	3
Recuento de <i>Escherichiacoli</i> (Filtración)	CNT CNS	MAR	RES REG
Recuento de <i>Escherichia coli</i> mediante técnica del sustrato definido	CNT CNS RES REG	MAR	
Recuento de huevos de nematodos intestinales por observación microscópica	REG RES		
Recuento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (filtración)	CNT CNS	MAR	
Recuento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mediante técnica del sustrato definido	CNT		
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> (filtración)	CNT	MAR	

Notas al Anexo

- (1) Dicho anexo constituye un ejemplo de lo que se puede considerar representativo en cuanto a establecimiento de familias de ensayo.
- (2) La equivalencia de matrices expresada en la tabla debe interpretarse a modo orientativo, y puede realizarse atendiendo a su composición y no a su origen de modo que, por ejemplo, matrices de agua regenerada podrán ser equivalentes a aguas continentales o a aguas residuales. Para los ensayos microbiológicos se ha tenido en cuenta el documento EA-4/18⁽³⁷⁾.
- (3) En lo que respecta al concepto "Metales" se toma como referencia lo establecido en el Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. En dicha instrucción se establecen diferentes acepciones para la determinación de metales en función del tipo de pretratamiento de la muestra, por tanto se entiende que cada laboratorio define su familia en función de dicho pretratamiento.

ANEXO II- Interpretación de resultados de intercomparación

Ejemplo 1 - Interpretación de resultados de intercomparación (resultado cuestionable)

Se presentan a continuación los resultados y la evaluación del rendimiento realizada por un organizador comercial para un ejercicio de intercomparación en aguas de consumo para el parámetro Plomo.

Lab ID	Method	Result (µg/L)	z score
1	ICP-MS	6,6	0,80
2	ICP-OES	7,6	2,80
3	ICP-MS	6,2	0,00
4	Other	6,3	0,20
5	ICP-MS	6,1	-0,20
6	ICP-MS	6,4	0,40
7	ICP-MS	6,3	0,20
8	ICP-MS	6,6	0,80
9	ICP-MS	6,0	-0,40
10	AAS	7,0	1,60
11	ICP-MS	5,3	-1,80
12	ICP-MS	6,3	0,20
13	ICP-MS	7,0	1,60
14	ICP-MS	5,8	-0,80
15	ICP-MS	6,3	0,20
16	ICP-MS	6,6	0,80
17	ICP-MS	6,2	0,00
18	ICP-OES	6,2	0,00
19	ICP-MS	6,0	-0,40
20	ICP-MS	6,2	0,00
21	ICP-MS	5,7	-1,00
22	ICP-MS	6,3	0,20
23	ICP-MS	6,4	0,40
24	ICP-MS	6,3	0,20
25	ICP-OES	5,7	-1,00
26	ICP-MS	5,3	-1,80
27	ICP-MS	5,0	-2,40
28	ICP-OES	7,8	3,20
29	ICP-MS	6,4	0,40
30	ICP-MS	6,2	0,00
31	ICP-MS	6,3	0,20
32	ICP-MS	6,3	0,20
33	ICP-MS	6,0	-0,40
34	ICP-OES	6,5	0,60
35	AAS	6,7	1,00
36	ICP-MS	6,3	0,20
37	ICP-MS	6,3	0,20
38	ICP-MS	6,2	0,00
39	ICP-MS	6,6	0,80
40	ICP-MS	6,3	0,20
41	AAS	5,5	-1,40
42	ICP-MS	5,8	-0,80
43	ICP-MS	6,0	-0,40
44	ICP-OES	6,0	-0,40
45	ICP-OES	6,0	-0,40
46	ICP-MS	5,8	-0,80

47	ICP-MS	6,3	0,20
48	ICP-MS	5,5	-1,40
49	ICP-MS	6,1	-0,20
50	ICP-OES	8,2	4,00
51	ICP-MS	6,4	0,40
52	ICP-OES	5,8	-0,80
53	ICP-MS	6,5	0,60
54	ICP-OES	5,7	-1,00
55	ICP-OES	5,2	-2,00
56	ICP-MS	6,2	0,00
57	ICP-OES	6,4	0,40
58	AAS	6,9	1,40
59	AAS	6,5	0,60
60	ICP-MS	6,0	-0,40
61	ICP-MS	6,1	-0,20
62	ICP-MS	6,1	-0,20
63	ICP-OES	10,5	8,60
64	AAS	6,8	1,20
65	ICP-MS	6,5	0,60
66	ICP-MS	6,3	0,20
67	ICP-OES	6,6	0,80
68	ICP-OES	5,3	-1,80
69	AAS	4,5	-3,40
70	ICP-MS	5,5	-1,40
71	AAS	5,9	-0,60
72	AAS	8,5	4,60
73	AAS	<10,0	
74	ICP-MS	6,3	0,20
75	AAS	6,3	0,20
76	ICP-MS	7,0	1,60
77	ICP-MS	5,7	-1,00
78	ICP-OES	6,8	1,20
79	AAS	6,1	-0,20
80	AAS	6,8	1,20
81	ICP-MS	6,3	0,20
82	ICP-MS	5,9	-0,60
83	ICP-OES	5,5	-1,40
84	AAS	5,6	-1,20
85	ICP-MS	6,2	0,00
86	ICP-OES	<60,0	
87	ICP-MS	6,1	-0,20
88	ICP-MS	6,1	-0,20
89	ICP-OES	5,0	-2,40
90	ICP-MS	5,3	-1,80
91	ICP-MS	<100,0	
92	ICP-MS	6,5	0,60

Tras el tratamiento estadístico el Organizador incluye en su informe de valoración los siguientes datos:

	Valor
Número de Resultados	92
Número de resultados excluidos	4
Media	6,2 µg/L
Mediana	6,2 µg/L
Desviación Estándar	0,62 µg/L
Desviación Estándar Robusta	0,44 µg/L
Rango de Resultados	4,5 a 8,5 µg/L

Con unos datos de rendimiento estadístico:

	Valor
Valor asignado	6,2 µg/L
Incertidumbre del valor asignado	0,1 µg/L
Desviación Estándar Diana	0,5 µg/L
Rango Satisfactorio	5,2 a 7,2 µg/L
Z-Scores Satisfactorios ($Z \leq 2$)	91,0%
Z-Scores Cuestionables ($2 < Z < 3$)	3,4%
Z-Scores no satisfactorios ($Z \geq 3$)	5,6%

Resultados por método

Método	Número de Resultados	Resultados Excluidos	% del Total	Mediana	Desv, Robusta	Rango
				µg/L		
AAS	14	1	15,22	6,5	0,59	4,5 a 8,5
ICP-OES	19	2	20,65	6,0	0,74	5,0 a 8,2
ICP-MS	58	1	63,04	6,2	0,30	5,0 a 7,0
Otro	1	0	1,09	6,3	0,00	6,3 a 6,3
Todos	92	4	100	6,2	0,44	4,5 a 8,5

Comentarios

En este interlaboratorio de matriz “Agua Limpia” han participado 92 laboratorios, de los cuales se han excluido 4 resultados para los cálculos estadísticos.

El valor asignado de Plomo es de 6,2 µg/L y, como es habitual en este proveedor, se ha tomado a partir de la mediana de los resultados, coincidente en este caso con la media. La desviación diana establecida es de 0,5 µg/L, lo cual ha dado un rango satisfactorio de valores entre 5,2 y 7,2 µg/L.

Los participantes han utilizado principalmente 3 técnicas analíticas: AAS (15%), ICP-OES (21%) e ICP-MS (63%).

El laboratorio 89 participa con un ICP-OES con un método acreditado, y declara una incertidumbre expandida del 25% (k=2).

El valor original de Plomo emitido por el laboratorio fue de 5,0 µg/L, fuera del rango de aceptación indicado por el organizador. El valor de z-score obtenido por este laboratorio es de **-2,40**, un valor considerado por el organizador como “Cuestionable”, ya que es mayor de 2 pero inferior a 3 ($2 < |z| < 3$). El Sistema de Gestión de la Calidad del laboratorio indica que en estos casos se estudiará la incidencia para estimar la apertura o no de una desviación.

Dentro de este estudio, el laboratorio realiza las siguientes actividades:

- Revisión de los resultados obtenidos con las diferentes técnicas utilizadas por los participantes. La mediana de los laboratorios que emplean ICP-OES es de 6,0 µg/L, frente a la mediana de 6,2 µg/L del interlaboratorio, lo que indica que la desviación observada no parece deberse a la técnica utilizada.
- Revisión de los datos primarios del ensayo (unidades del resultado, dilución efectuada, calibración del equipo, etc.) por si existe un error en la interpretación y presentación del resultado final. No se detectan errores.
- Revisión de las condiciones de conservación de la muestra y su manipulación. Se verifica que ha sido la correcta.
- Revisión de las instrucciones del organizador de preparación de la muestra. En este caso, se trataba de un frasco para la medida directa, y se comprueba que no ha existido error en este sentido.
- Revisión de la secuencia de análisis y de los controles de calidad, y se verifica que fueron los correctos y satisfactorios.
- Revisión del histórico de resultados de participación para este parámetro observándose resultados satisfactorios en los últimos años.
- Realización de una repetición del análisis, obteniéndose un resultado de 5,3 µg/L de Plomo. Se confirma el valor obtenido inicialmente, aunque este segundo resultado entraría dentro del rango de aceptación del organizador.

Teniendo en cuenta que el valor de la incertidumbre del resultado del laboratorio participante es de un 25%, el intervalo de confianza del resultado informado por el laboratorio estaría entre 3,8 y 6,3 µg/L, intervalo que incluye el valor asignado (6,2µg/L) en el interlaboratorio. Esto puede ocurrir cuando el intervalo de aceptación del propio interlaboratorio es más restrictivo que el intervalo de confianza con el que informa el laboratorio (incertidumbre de medida).

En este caso se concluye que, aunque el valor de z-score se considere “cuestionable”, no es necesario abrir una desviación y el resultado de la intercomparación se considera adecuado.

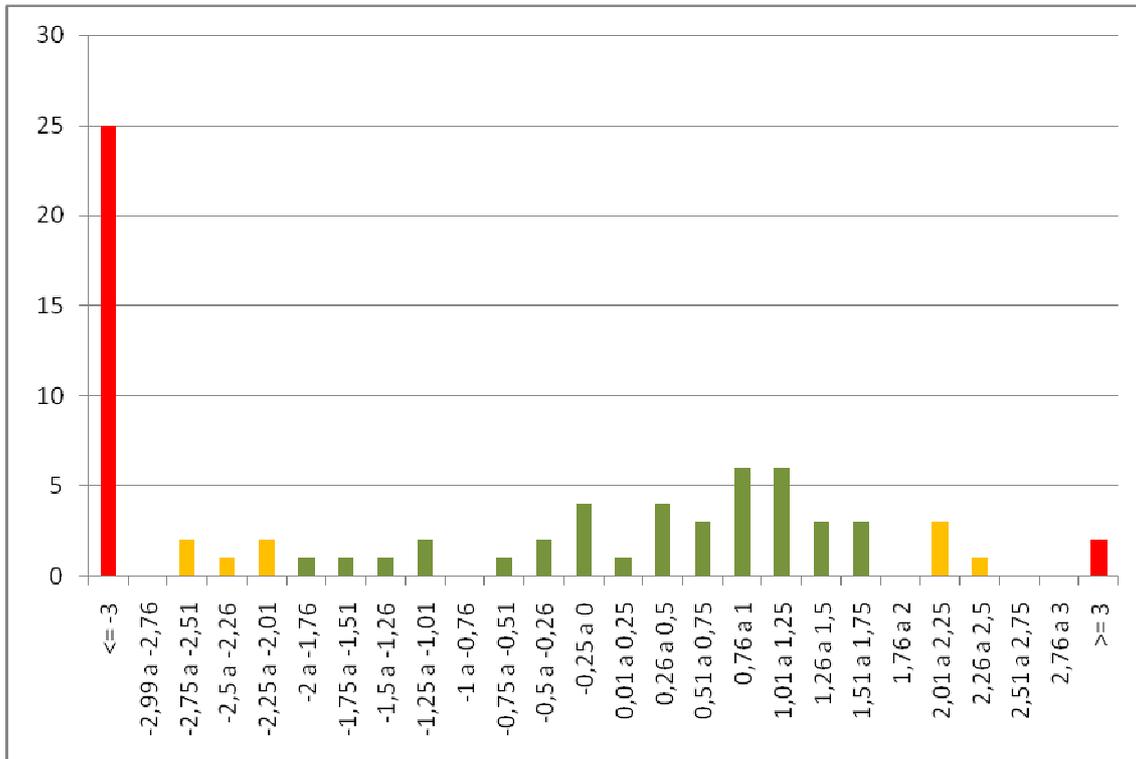
ANEXO II- Ejemplo 2 - Interpretación de resultados de intercomparación (presencia de dos poblaciones de datos)

Se presentan a continuación los resultados y la evaluación del rendimiento realizada por un Organizador comercial para un ejercicio de intercomparación en aguas de consumo para el parámetro amonio (mgNH_4/L).

Código Lab	Método	Resultado (mgNH_4/L)	z' score
1	DA	0,346	-4,09
2	DA	0,473	-2,12
3	DA	0,711	1,57
4	Otro	0,287	-5,01
5	DA	0,454	-2,42
6	IC	0,66	0,78
7	C	0,672	0,96
8	C	0,578	-0,5
9	C	0,644	0,53
10	C	0,3	-4,81
11	C	0,687	1,19
12	IC	0,945	5,19
13	C	0,381	-3,55
14	IC	0,326	-4,4
15	DA	0,694	1,3
16	C	0,66	0,78
17	ASC	0,72	1,71
18	C	0,754	2,23
19	DA	0,594	-0,25
20	C	0,678	1,05
21	ASC	0,563	-0,73
22	DA	0,611	0,02
23	F	0,669	0,91
24	DA	0,669	0,91
25	ASC	0,638	0,43
26	C	0,65	0,62
27	Otro	0,441	-2,62
28	DA	0,745	2,09
29	IS	0,322	-4,46
30	ASC	0,35	-4,03
31	C	0,38	-3,57
32	C	0,691	1,26
33	DA	0,69	1,24
34	IS	0,36	-3,88
35	Otro	0,653	0,67
36	Otro	0,608	-0,03
37	Otro	0,298	-4,84

Código Lab	Método	Resultado (mgNH_4/L)	z' score
38	C	0,26	-5,43
39	C	0,27	-5,27
40	Otro	0,197	-6,4
41	Otro	0,634	0,37
42	IS	0,67	0,93
43	C	0,54	-1,09
44	C	0,489	-1,88
45	C	0,72	1,71
46	C	0,627	0,26
47	C	0,61	0
48	C	0,7	1,4
49	C	0,29	-4,96
50	IC	0,297	-4,85
51	Otro	0,294	-4,9
52	C	0,309	-4,67
53	Otro	0,522	-1,36
54	C	0,678	1,05
55	C	0,267	-5,32
56	Otro	0,743	2,06
57	C	0,497	-1,75
58	ASC	0,837	3,52
59	DA	0,47	-2,17
60	C	0,299	-4,82
61	C	0,411	-3,08
62	C	0,69	1,24
63	Otro	0,69	1,24
64	Otro	0,584	-0,4
65	IC	0,111	-7,73
66	C	0,2	-6,36
67	IC	0,15	-7,13
68	Otro	0,375	-3,64
69	ASC	0,63	0,31
70	IC	0,76	2,33
71	C	0,435	-2,71
72	C	0,535	-1,16
73	C	0,6	-0,16
74	Otro	0,156	-7,04

El histograma de frecuencias de los valores de z' es:



Tras el tratamiento estadístico el Organizador incluye en su informe de valoración los siguientes datos:

	Valores
Número de resultados	74
Número de resultados excluidos	11
Media	0,561 mg NH ₄ /L
Mediana	0,610 mg NH ₄ /L
Desviación estándar	0,151 mg NH ₄ /L
Desviación estándar robusta	0,131 mg NH ₄ /L
Rango de resultados	0,294 a 0,837 mg NH ₄ /L

Con unos datos de rendimiento estadístico:

	Valores
Valor asignado	0,610 mg NH ₄ /L
Incertidumbre del valor asignado	0,021 mg NH ₄ /L
Desviación estándar diana	0,061 mg NH ₄ /L
Rango satisfactorio	0,488 a 0,732 mg NH ₄ /L
% z' score satisfactorios	51 %
% z' score cuestionables	12 %
% z' score no satisfactorios	37 %

Resultados por método:

Método	Nº de resultados	Media (mg NH ₄ /L)	Mediana (mg NH ₄ /L)	Rango (mg NH ₄ /L)	% No Satisfactorios
ASC	6	0,623	0,634	0,350 a 0,837	33
C	32	0,517	0,559	0,200 a 0,754	34
DA	11	0,587	0,611	0,346 a 0,745	9
F	1	0,669	0,669	0,669 a 0,669	0
IC	7	0,464	0,326	0,111 a 0,945	71
IS	3	0,451	0,360	0,322 a 0,670	67
O	14	0,463	0,482	0,156 a 0,743	43

Comentarios en el informe del Organizador:

“La evaluación del rendimiento se ha realizado utilizando el z'-score, en lugar del z-score, ya que hay que tener en cuenta el valor de la incertidumbre del valor asignado ($u_{\bar{x}}$) por no ser despreciable al compararla con la desviación estándar diana (σ_{pt}).

Si

$$u_{\bar{x}} \geq 0,3 \sigma_{pt}$$

entonces

$$z' = \frac{(x_i - \bar{x}^p)}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_{\bar{x}}^2}}$$

La solución preparada para amonio en la muestra entregada contribuía en 0,29 mgNH₄/L a la concentración total.

Varios participantes han enviado resultados que están cerca del valor de la fortificación y, por lo tanto, indican muy poca contribución al resultado global de la matriz.

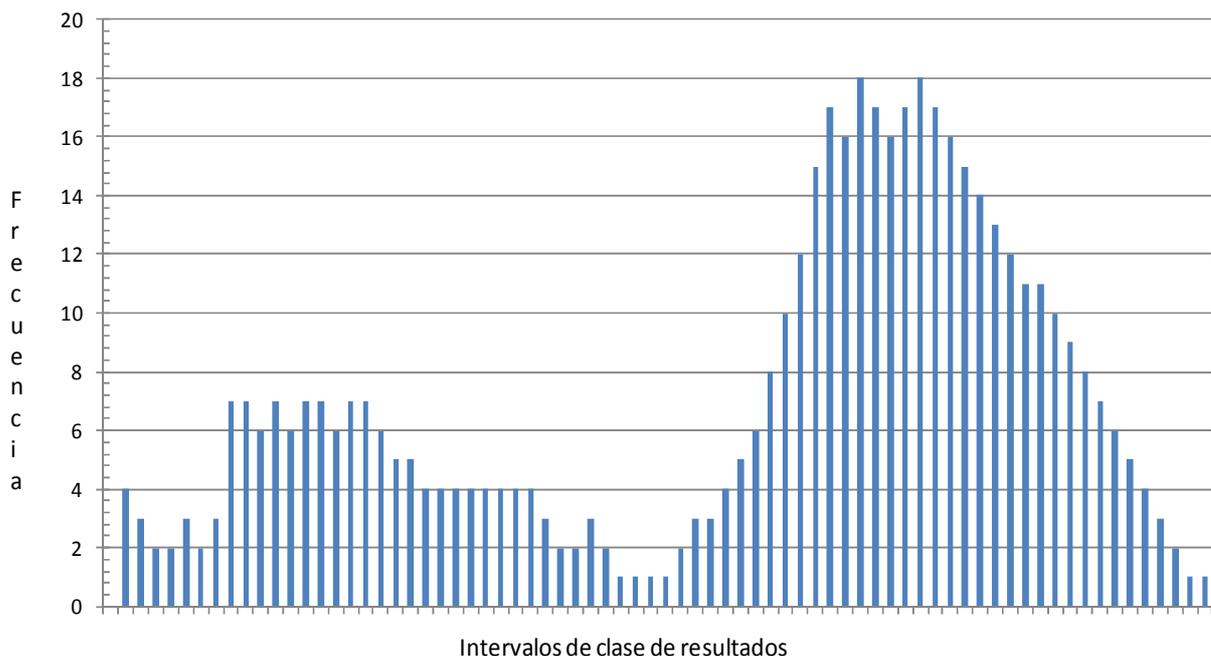
La mayoría de los participantes han enviado resultados de aproximadamente 0,60-0,66 mgNH₄/L, por lo que se utiliza el valor de la mediana como valor asignado en el ejercicio. Los resultados promedio para cada uno de los métodos individuales, excepto la cromatografía iónica, son similares al resultado mediana para todos los resultados”.

Un laboratorio de ensayo que cuenta con cuatro Unidades Técnicas diferentes ha participado en el ejercicio con los códigos 9, 10, 14 y 22, y tramita una reclamación al organizador ya que, habiendo recibido supuestamente la misma muestra, sus resultados han sido:

Código Lab	Método	Resultado (mgNH ₄ /L)	z' score
9	C	0,644	0,53
10	C	0,300	-4,81
14	IC	0,326	-4,40
22	DA	0,611	0,02

Las consideraciones que realiza el laboratorio son:

- El laboratorio hace una revisión de posibles errores de dilución, preparación de la muestra, transcripción de datos, etc., no habiendo observado ningún problema.
- Las Unidades Técnicas 9 y 10 utilizan el mismo método de ensayo y obtienen resultados de medida y estadísticos muy diferentes.
- Los datos obtenidos parecen agruparse en torno a dos valores, tal y como se observa en el histograma de frecuencias elaborado por el laboratorio:



- A pesar de que el Organizador indica en su informe que la mayoría de los participantes envían resultados en el intervalo 0,60 – 0,66 mgNH₄/L y establece como valor asignado la mediana de todos los resultados, el laboratorio considera un error esa decisión ya que el histograma de frecuencias pone de manifiesto un claro comportamiento bimodal, situación que no ha sido considerada por el Organizador.
- El laboratorio sospecha que se han entregado dos muestras distintas entre los participantes, ya que 39 laboratorios, independientemente del método utilizado, se agrupan por debajo del valor asignado y 27 por encima de ese valor. Solo 9 laboratorios están en el entorno de la mediana.
- El laboratorio tampoco considera adecuado el tratamiento estadístico ya que el Organizador no tiene en cuenta que el 49% de los z'-score obtenidos son cuestionables o no satisfactorios. La desviación estándar del ejercicio es muy elevada, dos veces y media superior a la diana esperada.

El laboratorio comunica esta información al Organizador, y este decide abrir una investigación interna, comunicando posteriormente que anula el ejercicio al confirmar que se ha producido un error en la preparación de la muestra.

ANEXO III- Elaboración e interpretación de gráficos de control de ensayos físico-químicos

A continuación se detallan ejemplos de gráficos de control que pueden ser utilizados en los laboratorios para la evaluación de la exactitud y la precisión en sus ensayos de rutina. Se especifican pautas de actuación que solo pretenden ser una guía y no criterios de obligado cumplimiento.

A) Control de la exactitud con un MRC. Medidas individuales

Determinación de amonio en aguas de consumo humano mediante espectrofotometría UV-VIS (azul de indofenol). El Real Decreto 140/2003 establece como valor paramétrico 0,5 mg/L, medido con una exactitud[§] de 10% y una precisión de 10%. De acuerdo con la definición que el texto legal incluye para precisión, se asume un valor de RSD legal de 5%.

El laboratorio ha obtenido en su validación los siguientes resultados al valor paramétrico de 0,50 mg/L.

Precisión (RSD):	5%
Sesgo:	4%
Incertidumbre expandida:	12%

Para realizar los controles de calidad internos de rutina utiliza un MRC matricial de valor 0,50 mg/L NH₄⁺ con una incertidumbre certificada del 1%.

Se decide elaborar un **gráfico de control tipo X** que consta de línea central, límites superiores e inferiores de aviso (LAvS – LAVI) y límites superiores e inferiores de acción (LAcS – LAcl). Este tipo de gráfico es uno de los más antiguos y sencillos, y se basa en la distribución de los valores de control alrededor de un valor de referencia. Se puede emplear para controlar tanto errores sistemáticos como aleatorios para los valores de control, basándose en los resultados individuales o en una media de varios análisis. Mediante el uso de un material de referencia similar a una muestra de rutina como muestra de control, el sesgo puede controlarse por la comparación, a lo largo del tiempo, del valor medio de control con el valor de referencia ⁽²⁷⁾.

Se realiza un control con cada serie analítica.

Los límites de aviso y acción pueden establecerse como:

- Límites de control objetivo. Si el laboratorio no dispone de la validación del método pero quiere implantar un programa de control de calidad puede utilizar en principio los valores establecidos legalmente o basados en características del método (bibliografía).

[§] La definición de exactitud en el Real Decreto 140/2003 equivale a la veracidad del Vocabulario Internacional de Metrología.

En este caso, como el requisito del Real Decreto 140/2003 es RSD=5%, los límites de aviso se pueden ajustar a dos veces la desviación estándar del requisito ($\pm 10\%$) y los límites de acción a tres veces la desviación estándar ($\pm 15\%$).

Nota: Si el requisito estuviera determinado en base a la incertidumbre, en este caso del 40% (Directiva 2015/1787 de la Comisión de 6 de octubre de 2015), el requisito de RSD podría ser establecido al 50% de la incertidumbre estándar, de tal modo que se obtenga una estimación del requisito a partir de ⁽²⁷⁾:

$$RSD = \frac{u_c}{2} = \frac{U}{4} = 10\%$$

- b) Límites de control estadístico. Si el laboratorio dispone de datos de RSD obtenidos en la validación, puede emplearlos para establecer los límites de control. En este caso, el valor de RSD obtenido para el nivel de concentración de 0,50 mg/L es del 5%, coincidente con el requisito legal. Así, los límites de aviso se ajustan a dos veces la desviación estándar del requisito ($\pm 10\%$) y los límites de acción a tres veces la desviación estándar ($\pm 15\%$).

Como no existen diferencias significativas entre el valor medio experimental y el valor de referencia del material en uso, la línea central en el gráfico de control se puede establecer a partir del valor medio de los valores de control, o bien como el propio valor de referencia (por ejemplo, valor certificado expresado en porcentaje). En este ejemplo se emplea el valor de referencia como línea central del gráfico.

Cada valor obtenido del análisis de la muestra de control se expresa en %. Por ejemplo, si el valor obtenido es 0,48 mg/L en el gráfico se representará **:

$$\frac{V_{obtenido}}{V_{referencia}} = \frac{0,48}{0,50} \times 100 = 96\%$$

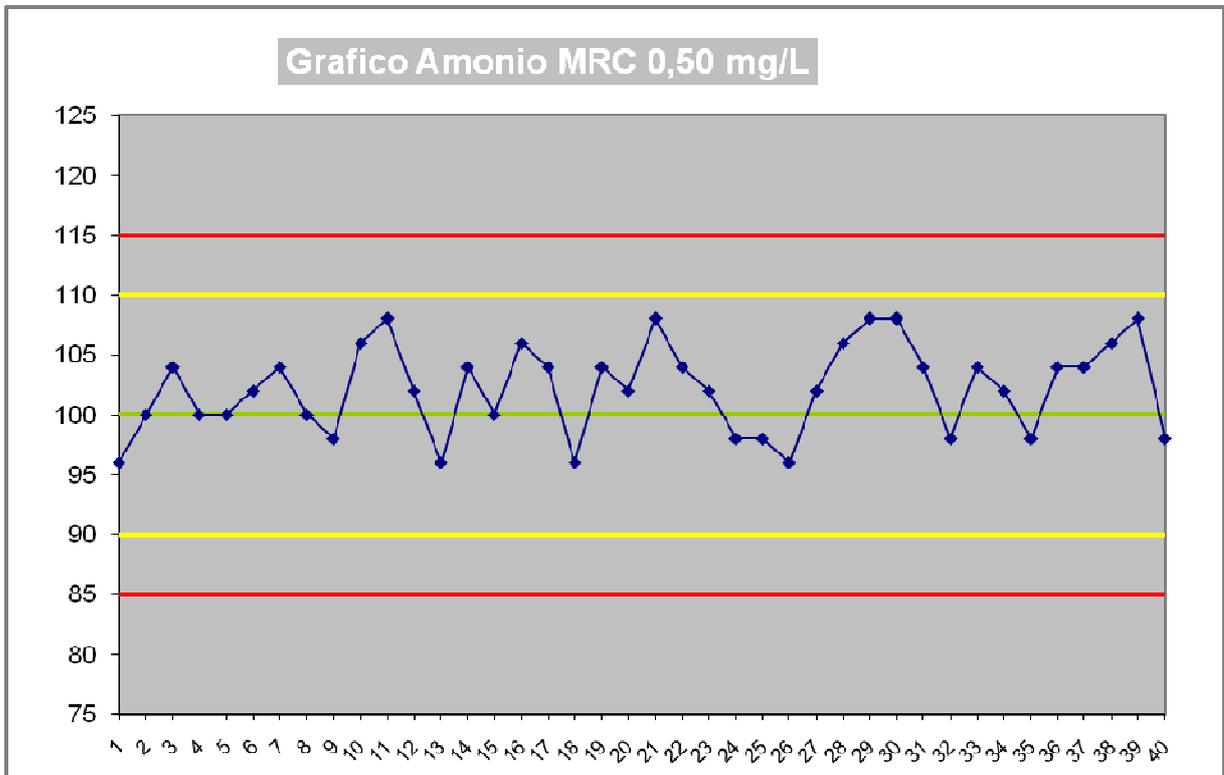
Los datos obtenidos en cada serie analítica se incluyen en la tabla siguiente:

** Se recomienda usar una cifra adicional, respecto a las utilizadas en los resultados ensayo, para realizar los cálculos

Parámetro:	AMONIO
Método:	PEXXXX
Unidades:	mg/l
Límite de Cuantificación:	0,20

Nº	Fecha	Hora	Analista	Código	Valor ensayo	Valor Ref.	Rec (%)	Observaciones
1				MR	0,48	0,50	96	
2				MR	0,50	0,50	100	
3				MR	0,52	0,50	104	
4				MR	0,50	0,50	100	
5				MR	0,50	0,50	100	
6				MR	0,51	0,50	102	
7				MR	0,52	0,50	104	
8				MR	0,50	0,50	100	
9				MR	0,49	0,50	98	
10				MR	0,53	0,50	106	
11				MR	0,54	0,50	108	
12				MR	0,51	0,50	102	
13				MR	0,48	0,50	96	
14				MR	0,52	0,50	104	
15				MR	0,50	0,50	100	
16				MR	0,53	0,50	106	
17				MR	0,52	0,50	104	
18				MR	0,48	0,50	96	
19				MR	0,52	0,50	104	
20				MR	0,51	0,50	102	
21				MR	0,54	0,50	108	
22				MR	0,52	0,50	104	
23				MR	0,51	0,50	102	
24				MR	0,49	0,50	98	
25				MR	0,49	0,50	98	
26				MR	0,48	0,50	96	
27				MR	0,51	0,50	102	
28				MR	0,53	0,50	106	
29				MR	0,54	0,50	108	
30				MR	0,54	0,50	108	
31				MR	0,52	0,50	104	
32				MR	0,49	0,50	98	
33				MR	0,52	0,50	104	
34				MR	0,51	0,50	102	
35				MR	0,49	0,50	98	
36				MR	0,52	0,50	104	
37				MR	0,52	0,50	104	
38				MR	0,53	0,50	106	
39				MR	0,54	0,50	108	
40				MR	0,49	0,50	98	

Y la representación gráfica (Gráfico X):



Con esta representación es sencillo comprobar si un valor de control se sitúa fuera de los límites de aviso y acción, o si durante un periodo de tiempo se observa un comportamiento sistemático (tendencias) en los valores de control.

Pueden darse tres situaciones:

1. El método está bajo control.
2. El método está bajo control, pero la evaluación a largo plazo pone de manifiesto que el método está fuera de control estadístico (tendencias a medio y corto plazo).
3. El método está fuera de control.

Para mayor detalle consultar las referencias (20) y (27). En el ejemplo, todos los valores están dentro de los límites de aviso y, por tanto, el método está bajo control.

El laboratorio debe comprobar en el tiempo la idoneidad de los límites establecidos, evaluando si tiene o no que modificarlos. En este ejemplo el laboratorio decide revisar los gráficos después de obtener 40 datos de control.

A partir del conjunto de datos anteriores los nuevos límites de control calculados son:

Nuevos Límites Calculados		Existentes
Media %	102	100
RSD %	4	5
LAcS %	114	115
LAvS %	110	110
LAVI %	94	90
LAcl %	90	85

Tanto el valor del sesgo (2%) como el de la RSD (4%) son menores a los obtenidos en validación y los nuevos límites calculados están dentro del intervalo de los límites establecidos. El laboratorio, en principio, decide mantener los límites existentes, ya que no superan los datos obtenidos en validación, y por tanto la incertidumbre declarada.

B) Control de la exactitud (recuperación) con muestras adicionadas a distintos niveles de concentración. Medidas individuales.

Para poder utilizar un mismo gráfico de control con diferentes niveles de concentración es necesario:

- Expresar los resultados de control en valores relativos (%).
- Las RSD y el sesgo obtenidos durante la validación del método en los distintos niveles deben ser comparables para que los límites establecidos se puedan aplicar a todos los niveles.

Si esto no es así, el laboratorio debe evaluar la necesidad de disponer de gráficos distintos para distintos rangos de concentración.

Continuando con el ejemplo del apartado A) anterior, los datos obtenidos en validación fueron:

	0,20 mg/L	0,50 mg/L	2,0 mg/L
RSD	5%	5%	4%
Sesgo	5%	4%	4%
Incertidumbre	13%	12%	12%

Por lo que se establecen los siguientes parámetros de calidad del método:

RSD máxima:	5%
Sesgo máximo:	5%
Incertidumbre máxima:	13%

Como muestras de control se emplea un agua matriz con concentración muy baja en amonio (agua mineral), lo que nos permite asumir un valor de cero mg/L para el parámetro en control. A la matriz se adicionan valores de concentración de 0,20, 0,50 y 2,0 mg/L de un patrón comercial de amonio.

En cuanto a la frecuencia de control, el laboratorio decide que el nivel de 0,20 mg/L se analiza en cada serie analítica. Si la serie tiene más de 20 muestras se incluye también alternativamente la fortificación de 0,50 mg/L y el de 2,0 mg/L. En caso de series con menos de 20 muestras, las adiciones de 0,50 y 2,0 se controlan al menos una vez a la semana.

Como en el caso A) se utiliza un Gráfico tipo X.

Para establecer los límites de aviso y acción se tienen en cuenta los resultados de la validación del método (límites de control estadístico), considerando la RSD media (4,7%) a partir de los valores de los tres niveles de concentración evaluados, ya que los valores obtenidos en los mismos son similares. De este modo:

$$LAcS = 100 + 3 \cdot RSD_{media} = 114\%$$

$$LAvS = 100 + 2 \cdot RSD_{media} = 109\%$$

$$LAvI = 100 - 2 \cdot RSD_{media} = 91\%$$

$$LAcl = 100 - 3 \cdot RSD_{media} = 86\%$$

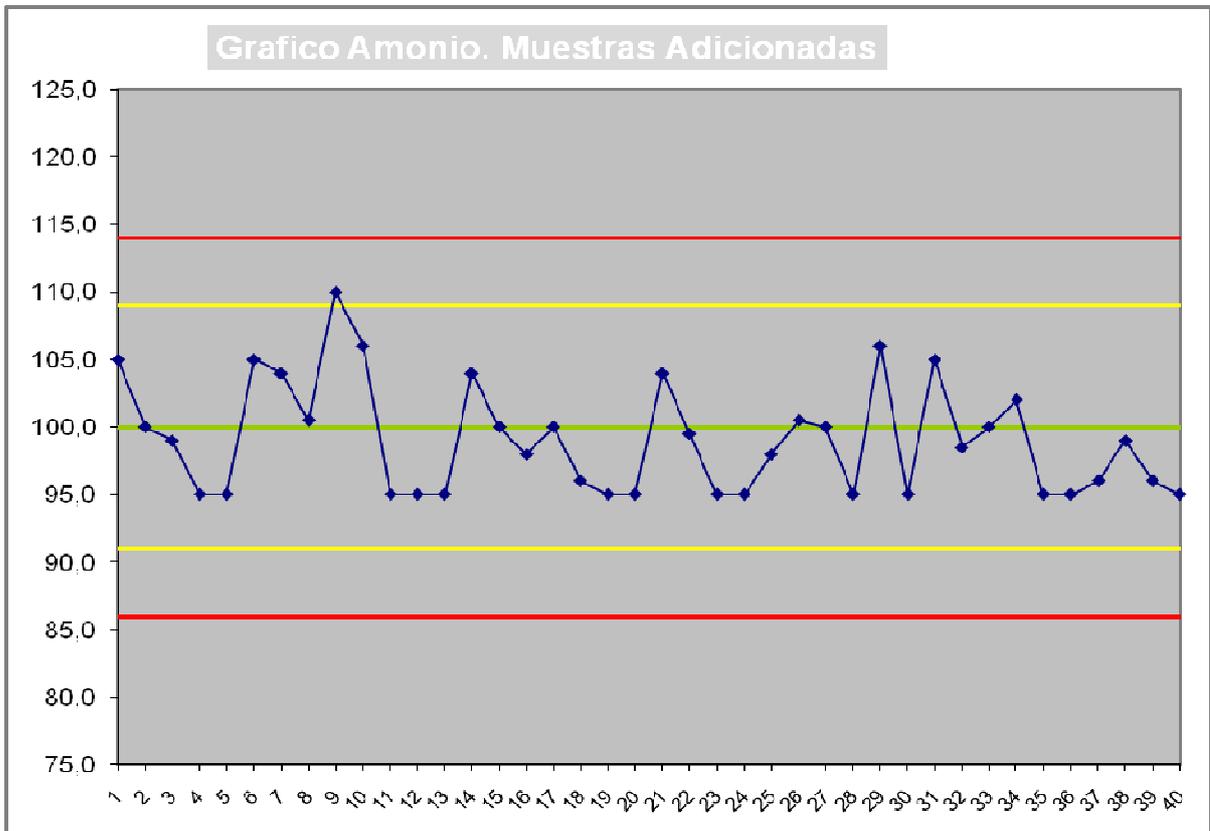
Como en el caso A) la línea central en el gráfico de control puede ser el valor de control medio de los valores obtenidos o un valor de referencia. Al tratarse de un gráfico inicial, el laboratorio utiliza el valor de referencia expresado como el 100%.

Los valores obtenidos se incluyen en la tabla siguiente.

Parámetro:	AMONIO
Método:	PEXXXX
Unidades:	mg/l
Límite de Cuantificación:	0,20

Nº	Fecha	Hora	Analista	Código	Valor ensayo	Valor Ref	Rec (%)	Observaciones
1				MA	0,21	0,20	105	
2				MA	0,50	0,50	100	
3				MA	1,98	2,00	99	
4				MA	0,19	0,20	95	
5				MA	0,19	0,20	95	
6				MA	0,21	0,20	105	
7				MA	0,52	0,50	104	
8				MA	2,01	2,00	100	
9				MA	0,22	0,20	110	
10				MA	0,53	0,50	106	
11				MA	0,19	0,20	95	
12				MA	0,19	0,20	95	
13				MA	0,19	0,20	95	
14				MA	0,52	0,50	104	
15				MA	0,50	0,50	100	
16				MA	1,96	2,00	98	
17				MA	0,20	0,20	100	
18				MA	0,48	0,50	96	
19				MA	0,19	0,20	95	
20				MA	0,19	0,20	95	
21				MA	0,52	0,50	104	
22				MA	1,99	2,00	99	
23				MA	0,19	0,20	95	
24				MA	0,19	0,20	95	
25				MA	0,49	0,50	98	
26				MA	2,01	2,00	100	
27				MA	0,20	0,20	100	
28				MA	0,19	0,20	95	
29				MA	0,53	0,50	106	
30				MA	0,19	0,20	95	
31				MA	0,21	0,20	105	
32				MA	1,97	2,00	99	
33				MA	0,20	0,20	100	
34				MA	0,51	0,50	102	
35				MA	0,19	0,20	95	
36				MA	0,19	0,20	95	
37				MA	0,48	0,50	96	
38				MA	1,98	2,00	99	
39				MA	0,48	0,50	96	
40				MA	0,19	0,20	95	

Su representación gráfica es:



El valor de control número 9 se sitúa por encima del límite de aviso. Aplicando criterios de evaluación y decisión ⁽²⁰⁾⁽²⁷⁾ el laboratorio considera que el método está bajo control y autoriza los resultados.

A partir del conjunto de datos de gráficos sucesivos, el laboratorio procede a evaluar los límites de control, obteniendo:

	Media	Sesgo	RSD	LAcS	LAvS	LAvI	LAcI
Gráfico 1	99,1	0,9	4,2	112	108	91	87
Gráfico 2	98,1	1,9	3,8	110	106	91	87
Gráfico 3	99,3	0,7	4,5	113	108	90	86
Gráfico 4	98,5	1,5	4,3	111	107	90	86
Gráfico 5	99,1	0,9	4,7	113	109	90	85
Gráfico 6	98,3	1,7	4,1	111	107	90	86
Gráfico 7	97,8	2,2	3,9	110	106	90	86
Gráfico 8	98,7	1,3	4,5	112	108	90	85
Gráfico 9	99,2	0,8	4,2	112	108	91	87
Gráfico 10	98,2	1,8	4,7	112	108	89	84

En tanto que la RSD media (4%) confirma los resultados obtenidos en la validación del método, el valor del sesgo medio (1%) es menor que el inicial. Antes de tomar una decisión para modificar los valores de línea central y límites de control el laboratorio puede aplicar alguna prueba estadística que le permita comprobar si existen o no diferencias significativas entre los valores iniciales y los nuevos (prueba T y prueba F).

Otro posible análisis de datos puede estar orientado a evaluar el comportamiento del método en cada valor de concentración, aplicando gráficos de control por niveles.

C) Control de la precisión (repetibilidad). Duplicados

El control de la precisión puede llevarse a cabo mediante el análisis de duplicados^{††}. Este puede realizarse con muestras reales, MR, MRC, muestras adicionadas, etc. Con esta sistemática controlamos la repetibilidad del método, y no su reproducibilidad, de modo que al establecer los límites de control habrá que tener este hecho en cuenta.

A la hora de seleccionar el tipo de muestra de control también hay que considerar de manera especial su similitud con muestras naturales, ya que los materiales sintéticos o los MRC pueden ser extremadamente homogéneos y proporcionar resultados de control de dispersión alejados de la realidad. Esto mismo puede suceder con la estabilidad de las muestras (por ejemplo en determinaciones como oxígeno disuelto, sólidos en suspensión y DBO₅).

En este ejemplo, el laboratorio emplea muestras de control reales (influentes y efluentes de EDAR, y salidas de ERAR) para el ensayo de sólidos en suspensión en aguas regeneradas y residuales, mediante gravimetría. Desde el punto de vista legal, el Real Decreto 1620/2007 de 7 de Diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas establece para esta determinación un límite de cuantificación menor o igual a 5 mg/L con una incertidumbre expandida máxima de 30%.

Los datos experimentales obtenidos por el laboratorio en la validación del método son:

RSD _{Reprod.media} :	4%
Sesgo _{medio} :	2%
Incertidumbre _{máxima} :	10%

^{††} Si para las muestras de ensayo, se hacen determinaciones individuales, el valor de control para el gráfico de rangos debería estar basado en la diferencia entre las determinaciones individuales de dos (o más) alícuotas diferentes de la muestra. Si, por el contrario, las muestras de ensayo se analizan por duplicado, se recomienda que el valor de control se base en el valor medio de las determinaciones duplicadas de dos alícuotas diferentes de la muestra, es decir, el mismo número de medidas para las muestras de ensayo de rutina que para las muestras de control.

En cuanto a la repetibilidad experimental obtenida, en el caso de aguas regeneradas, a bajo rango de concentración se obtuvo una $RSD_{\text{repetibilidad}}$ de 3%, en tanto que para aguas residuales los valores fueron de 3%, 4% y 4% a rangos de concentración bajo, medio y alto respectivamente. Ya que los valores obtenidos en los mismos son similares, se obtiene un valor medio ($\overline{RSD_{\text{repetibilidad}}}$) de 3,5%.

El laboratorio representa los valores de control obtenidos en un Gráfico R, de rangos, expresado en % ya que las concentraciones de las muestras de control son variables.

El laboratorio realiza un control de duplicados por cada serie analítica, y si la serie tiene más de 20 muestras, incluye una muestra de control de duplicados adicional.

Al igual que en los casos A) y B), los límites pueden ser de control estadístico (basados en el funcionamiento del método) o de control objetivo (requisito analítico establecido)^{‡‡}.

Se puede recurrir a los resultados obtenidos en la validación del método o, en su defecto, a la realización de series de ensayos preliminares ($N > 25$) de duplicados ($n = 2$), de modo que ⁽²⁷⁾:

- La línea central se establece como el rango medio:

$$\overline{R (\%)} = \frac{\sum R_i (\%)}{n_{\text{muestras}}}$$

- La desviación estándar, como coeficiente de variación:

$$RSD_{\text{media}} = \frac{\overline{R (\%)}}{1,128}$$

El límite de aviso superior (LAvS) es $+ 2,83 \cdot RSD_{\text{media}}$

El límite de acción superior (LAcS) es $+ 3,69 \cdot RSD_{\text{media}}$

Con los datos obtenidos por el laboratorio durante su validación:

$$\begin{aligned} RSD_{\text{media}} &= 3,5\% \\ \overline{R (\%)} &= 1,128 \cdot RSD_{\text{media}} = 4\% \\ LAvS &= 2,83 \cdot RSD_{\text{media}} = 10\% \\ LAcS &= 3,69 \cdot RSD_{\text{media}} = 13\% \end{aligned}$$

Los datos de control obtenidos son:

^{‡‡} No es habitual encontrar valores objetivo para la repetibilidad en la legislación, si bien pueden aparecer en algunos métodos normalizados.

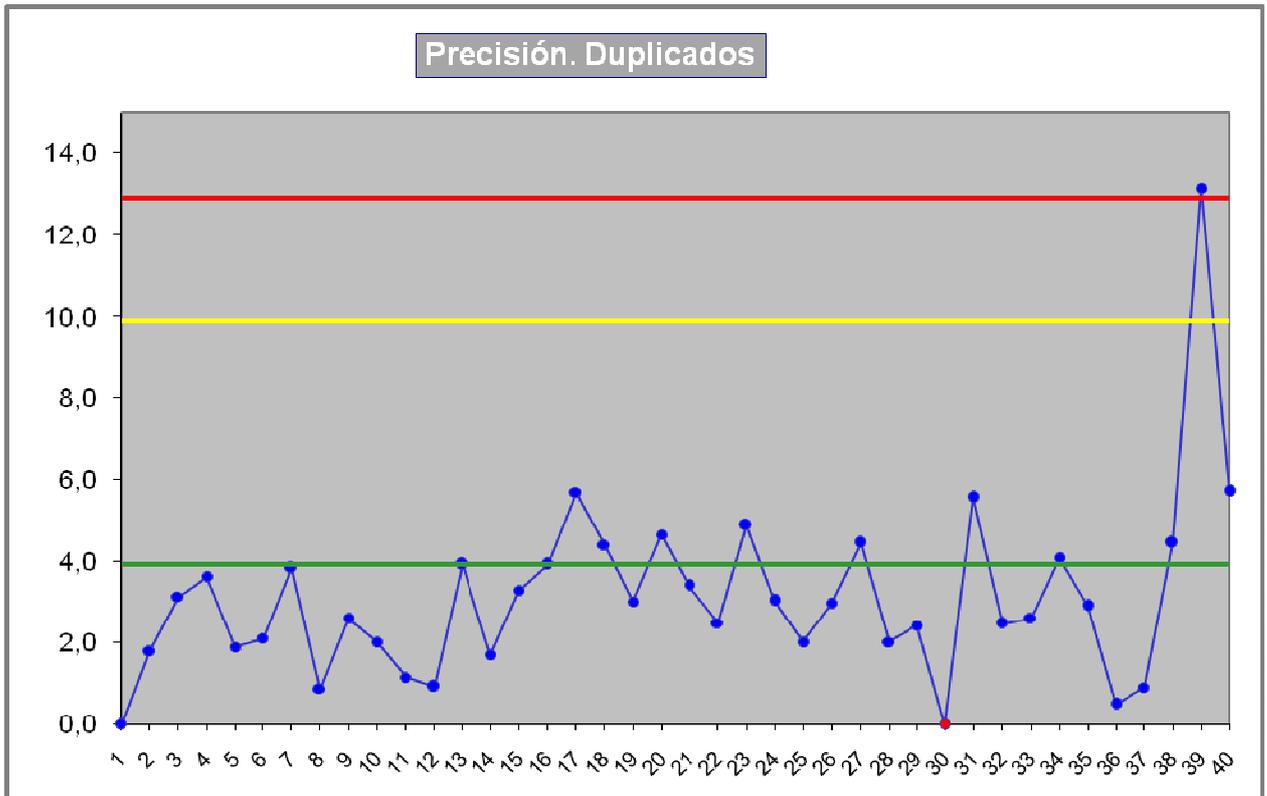
Parámetro:	Sólidos suspensión
Método:	PEXXXX
Unidades:	mg/l
Límite de Cuantificación:	5,0

Para cada par de valores de control se calcula R(%) como:

$$R(\%) = \frac{|V_1 - V_2|}{\frac{V_1 + V_2}{2}} \cdot 100$$

Nº	Fecha	Hora	Analista	Código	V ₁	V ₂	V _i media	R _i	R _i (%)	Observaciones
1					14	14	14,0	0,0	0,0	
2					5,6	5,5	5,6	0,1	1,8	
3					6,5	6,3	6,4	0,2	3,1	
4					190	197	193,5	7,0	3,6	
5					5,3	5,2	5,3	0,1	1,9	
6					9,4	9,6	9,5	0,2	2,1	
7					128	133	130,5	5,0	3,8	
8					116	115	115,5	1,0	0,9	
9					228	234	231,0	6,0	2,6	
10					49	50	49,5	1,0	2,0	
11					174	172	173,0	2,0	1,2	
12					431	435	433,0	4,0	0,9	
13					25,0	26,0	25,5	1,0	3,9	
14					415	408	411,5	7,0	1,7	
15					30	31	30,5	1,0	3,3	
16					26	25	25,5	1,0	3,9	
17					222	235	228,5	13,0	5,7	
18					178	186	182,0	8,0	4,4	
19					229	236	232,5	7,0	3,0	
20					22	21	21,5	1,0	4,7	
21					9,0	8,7	8,9	0,3	3,4	
22					119	122	120,5	3,0	2,5	
23					20	21	20,5	1,0	4,9	
24					163	168	165,5	5,0	3,0	
25					98	100	99,0	2,0	2,0	
26					166	171	168,5	5,0	3,0	
27					23	22	22,5	1,0	4,4	
28					9,8	10,0	9,9	0,2	2,0	
29					12,2	12,5	12,4	0,3	2,4	
30					4,8	4,1	4,5	0,7		<LC
31					35	37	36,0	2,0	5,6	
32					12,3	12,0	12,2	0,3	2,5	
33					39	38	38,5	1,0	2,6	
34					25	24	24,5	1,0	4,1	
35					34	35	34,5	1,0	2,9	
36					41	41	40,9	0,2	0,5	
37					11,1	11,0	11,1	0,1	0,9	
38					22	23	22,5	1,0	4,4	
39					1265	1109	1187,0	156,0	13,1	Los valores repetidos son 1270 y 1230
40					17	18	17,5	1,0	5,7	

El gráfico R es:



El dato de control número 30 se ha obtenido a partir de dos valores que son inferiores al límite de cuantificación. En este caso, se deja constancia de los valores y se marca en el gráfico como cero, y no se tendrá en cuenta en el recálculo de límites.

El dato de control número 39 genera una situación de fuera de control, por lo que el laboratorio debe actuar de acuerdo con lo establecido en su programa de control de calidad. En el ejemplo, las actuaciones llevadas a cabo fueron:

- Repetición del análisis de las muestras de control, obteniendo resultados favorables.
- En la serie analítica no había más muestras con valores de concentración de sólidos superior a 100 mg/L.
- La serie incluía un material MR en rango alto con resultado favorable.

Por lo que el laboratorio decide autorizar los resultados de la serie analítica. La muestra de control no se preparó adecuadamente pues contenía elevada concentración de sólidos y no se realizó una homogeneización adecuada al separar las alícuotas.

Como en los casos anteriores, debe realizarse una comprobación de la idoneidad en el tiempo de la línea central y de los límites de control. Al existir valores fuera de control debe tenerse especial cuidado en su tratamiento. Si se identifica una causa asignable para el resultado de fuera de control en el

momento del análisis, el valor de control debería ser excluido del cálculo de los nuevos límites de control. Sin embargo, si no se identifican las causas de los resultados fuera de control será inevitable tenerlos en cuenta. La exclusión de estos valores, sobre todo si hay más de uno en el conjunto de datos, puede conducir a minimizar la desviación estándar y a contraer los límites de control, lo que se traduciría en el aumento de situaciones fuera de control.

A partir de 40 datos de control, el laboratorio procede a recalcular los límites:

Límites Calculados	
$\overline{R(\%)} =$	2,9
LAcS =	9,6
LAvS =	7,4

Obteniendo valores algo menores a los iniciales, y el laboratorio decide mantenerlos hasta disponer de más datos. Con los resultados de control de un año el valor de $\overline{R(\%)}$ es 2,9%, que expresado como RSD_{media} sería $2,9/1,128 = 2,57\%$, sensiblemente inferior a la obtenida en validación. Para confirmar si existen diferencias estadísticamente significativas es recomendable aplicar pruebas de significación como la prueba T y la prueba F.

ANEXO IV – Control de medios de cultivo y cepas

Tabla1: Método de Control General para Todos los Medios de Cultivo

TABLA 1 - MÉTODO DE CONTROL GENERAL PARA TODOS LOS MEDIOS DE CULTIVO		
TIPO CONTROL	Técnica	Criterio
Observación macroscópica	Observación visual	Descripción visual del medio Si hay anomalías se registra y se comunica al proveedor
pH (*)	Electrometría	Especificaciones fabricante
Esterilidad	Incubación a la temperatura y tiempo según método.	No crecimiento

(*) pH no se valorará en los medios que se adquieren ya preparados.

Tabla 2: Métodos de Control por Tipos de Medio de Cultivo

TABLA 2 - MÉTODOS DE CONTROL POR TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO							
		Productividad		Selectividad		Especificidad	
		Tipo control	Criterio	Tipo control	Criterio	Tipo control	Criterio
MEDIO SÓLIDO	Selectivo de recuento	Cuantitativo	≥70% por comparación con el mismo medio. ≥50% por comparación con un medio no selectivo.	Cualitativo	Inhibición del crecimiento. SF ≥ 2 (Factor Selectividad).	Cualitativo	Crecimiento positivo con morfología no típica
	No selectivo de recuento	Cuantitativo	≥70% por comparación con el mismo medio.	---	---	---	---
	Selectivo de detección	Cualitativo	Buen crecimiento en número y tamaño de las colonias	Cualitativo	Inhibición del crecimiento. SF ≥ 2.	Cualitativo	Crecimiento positivo con morfología no típica
	No selectivo de detección	Cualitativo	Buen crecimiento en número y tamaño de las colonias	---	---	---	---
MEDIO LÍQUIDO	Selectivo de recuento	Cualitativo	Crecimiento (turbidez)	Cualitativo P/A	Ausencia / o característica no típica	---	---
	Selectivo de enriquecimiento	Cualitativo P/A	Crecimiento (turbidez)	Cualitativo P/A	Ausencia / o característica no típica	---	---
	No selectivo de enriquecimiento	Cualitativo P/A	Crecimiento (turbidez)	---	---	---	---
	No selectivo de dilución	Cualitativo	No crecimiento	---	---	---	---

Control cuantitativo en medios sólidos: Inoculación, incubación, recuento y cálculo de la recuperación.

Control cualitativo: siembra en estría

Cualitativo P/A: presencia/ausencia

Tabla 3: Microorganismos para el Control de los Medios de Cultivo

TABLA 3 - MICROORGANISMOS PARA EL CONTROL DE LOS MEDIOS DE CULTIVO							
Medio de cultivo	Productividad			Selectividad		Especificidad	
	Microorganismo (*)	Medio de referencia	Criterio de aceptación	Microorganismo (*)	Criterio de aceptación	Microorganismo (*)	Criterio de aceptación
Colilert (NMP)	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Inhibición total	---	---
GVPC	<i>Legionella pneumophila</i> <i>Legionella anisa</i>	BCYE	$P_R \geq 0,5$	<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	---	---
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Inhibición total o parcial	---	---
Lactosa-TTC	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Citrobacter freundii</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Morfología no típica
Endo Agar	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	<i>Salmonella typhimurium</i>	Morfología no típica
Medio cromogénico para coliformes	<i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Morfología no típica
mCP	<i>Clostridium perfringens</i>	TSA o Blood agar	$P_R \geq 0,5$	<i>Escherichia coli</i>	Inhibición total	<i>Clostridium bifermentans</i>	Morfología no típica
CN	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	---	---
S&B	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibición total	---	---
Enterolert	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibición total	---	---
Bilis aesculine	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	TSA	$P_R \geq 0,5$	---	---	---	---
TS (Sulfito iron tryptose sulfite)	<i>Clostridium perfringens</i>	TSA o Blood agar	$P_R \geq 0,5$	---	---	<i>Escherichia coli</i>	Morfología no típica
TSC	<i>Clostridium perfringens</i>	TSA o Blood agar	$P_R \geq 0,5$	<i>Bacillus subtilis</i>	Inhibición total	---	---
YEA / PCA	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i>	YEA/PCA ya validado	$P_R \geq 0,7$	---	---	---	---
XLD	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Salmonella enteritidis</i>	---	Crecimiento	<i>Escherichia coli</i>	Inhibición parcial o Morfología no típica	---	---
				<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición total	---	---

TABLA 3 - MICROORGANISMOS PARA EL CONTROL DE LOS MEDIOS DE CULTIVO							
Medio de cultivo	Productividad			Selectividad		Especificidad	
	Microorganismo (*)	Medio de referencia	Criterio de aceptación	Microorganismo (*)	Criterio de aceptación	Microorganismo (*)	Criterio de aceptación
BCYE	<i>Legionella pneumophila</i>	BCYE ya validado	$P_R \geq 0,7$	---	---	---	---
TSA	<i>Escherichia coli</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	TSA ya validado	$P_R \geq 0,7$	---	---	---	---

(*) Los microorganismos indicados son los que según ISO 11133:2014 deben utilizarse al menos para realizar los controles. Ver tabla 4 para la selección de la cepa correspondiente a cada microorganismo. Un laboratorio puede estar empleando otros microorganismos con controles igualmente válidos.

Tabla 4: Cepas para Control de Medios de Cultivo

TABLA 4 - CEPAS PARA CONTROL DE MEDIOS DE CULTIVO						
Cepa (*)	CECT	ATCC	WDCM	Productividad	Selectividad	Especificidad
<i>Bacillus subtilis</i>	356	6633	00003	YEA	TSC	---
<i>Citrobacter freundii</i>	7464	43864	00006	Lactosa TTC / Medio cromogénico	---	---
<i>Clostridium bifermentans</i>	550	NCTC 506	00079	---	---	mCP
<i>Clostridium perfringens</i>	376	19408	00007	TS (Tryptose Sulfite) / TSC / mCP / TSA	---	---
<i>Enterobacter aerogenes</i>	684	13018	00175	Lactosa TTC / Endo Agar	---	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	481	19433	00009	S&B / Enterolert / Bilis aesculine	GVPC / Lactosa TTC / Endo Agar / Medio cromogénico / CN / XLD	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	795	29212	00087	TSA	---	---
<i>Enterococcus faecium</i>	8108	6057	00177	S&B / Enterolert / Bilis aesculine	---	---
<i>Escherichia coli</i>	434	25922	00013	Colilert / YEA / TSA	CN / S&B / Enterolert / mCP / XLD / GVPC	TS (Tryptose Sulfite)
<i>Escherichia coli</i>	8296	NCTC 13167	00179	Lactosa TTC / Endo Agar / Medio cromogénico	---	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	---	31488	00206	Colilert	---	---
<i>Legionella pneumophila</i>	7109	33152	00107	GVPC / BCYE	---	---
<i>Legionella anisa</i>	8177	35292	00106	GVPC	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	108	27853	00025	---	Colilert / GVPC	Lactosa TTC / Medio cromogénico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	110	10145	00024	CN / TSA	---	---
<i>Salmonella typhimurium</i>	4594	14028	00031	XLD	---	Endo Agar
<i>Staphylococcus aureus</i>	239	6538	00032	---	S&B / Enterolert	---

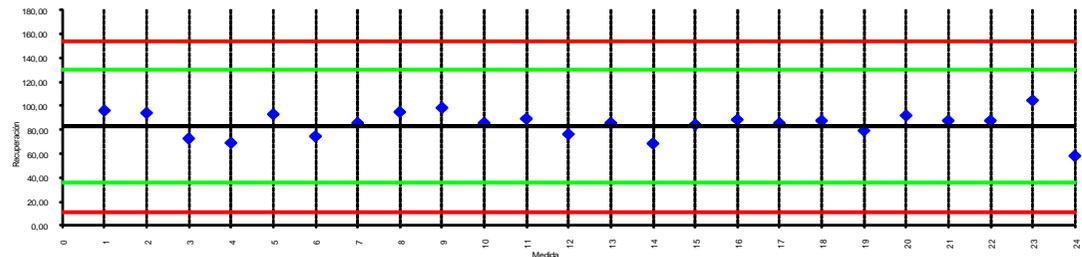
(*) La selección de las cepas indicadas se ha realizado en base a aquellas que pueden utilizarse en el mayor número de medio de cultivo. Para ver la posibilidad de uso de otras cepas consultar el anexo F de la norma ISO 11133:2014. Un laboratorio puede estar empleando otros microorganismos con controles igualmente válidos.

ANEXO V – Gráficos de control en ensayos microbiológicos

Ejemplo 1: Gráfico de Control de Recuperación (en porcentaje)

PARÁMETRO	Enterococos / Streptococos		CEPA <i>Enterococcus faecalis</i>		PNT PAMB-15		MATRIZ Agua de consumo humano									
Medida	1		2		3		4		5		6		7		8	
Recuento	V _R 48	V _M 46	V _R 48	V _M 45	V _R 55	V _M 40	V _R 55	V _M 38	V _R 55	V _M 51	V _R 55	V _M 41	V _R 55	V _M 47	V _R 55	V _M 52
Rec (%)	95,83		93,75		72,73		69,09		92,73		74,55		85,45		94,55	
Lote cepa	03-9043		03-9043		03-7878		03-7878		03-7878		03-7878		03-7878		03-7878	
Muestra	0001		0002		0003		0004		0005		0006		0007		0008	
Fecha	xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx	
Técnico	YYY		PPP		MMM		YYY		PPP		MMM		YYY		PPP	
Medida	9		10		11		12		13		14		15		16	
Recuento	V _R 55	V _M 54	V _R 55	V _M 47	V _R 55	V _M 49	V _R 55	V _M 42	V _R 55	V _M 47	V _R 51	V _M 35	V _R 51	V _M 43	V _R 51	V _M 45
Rec (%)	98,18		85,45		89,09		76,36		85,45		68,63		84,31		88,24	
Lote cepa	03-7878		03-7878		03-7878		03-7878		03-8816		03-7868		03-7868		03-7868	
Muestra	0009		0010		0011		0012		0013		0014		0015		0016	
Fecha	xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx	
Técnico	MMM		YYY		PPP		MMM		YYY		MMM		MMM		YYY	
Medida	17		18		19		20		21		22		23		24	
Recuento	V _R 48	V _M 41	V _R 48	V _M 42	V _R 48	V _M 38	V _R 48	V _M 44	V _R 48	V _M 42	V _R 48	V _M 42	V _R 48	V _M 50	V _R 48	V _M 28
Rec (%)	85,42		87,50		79,17		91,67		87,50		87,50		104,17		58,33	
Lote cepa	03-7868		03-7868		03-7868		03-7868		03-7868		03-7868		03-7868		03-7868	
Muestra	0015		0016		0017		0018		0019		0020		0021		0022	
Fecha	xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx		xx/xx/xx	
Técnico	PPP		MMM		YYY		PPP		MMM		YYY		PPP		MMM	

PARÁMETROS VALIDACIÓN	
Recuperación (%)	82,60
Precisión (%)	23,62
PARÁMETROS GRÁFICO	
Recuperación (%)	84,82
Precisión (%)	10,59
VALORES LÍMITE	
LAVs	129,83
LAVi	35,37
LAcS	153,45
LAcI	11,75



OBSERVACIONES:

Media recuperación validación (log) 0,083
Precisión validación (log) 0,117

Recuperación validación (%) = $100 \times 10^{-0,83} = 82,60$
Precisión validación (%) = $100 \times (1 - 10^{-0,117}) = 23,62$

LAVs: Límite de aviso superior = $82,60 + (2 \times 23,62)$
LAVi: Límite de aviso Inferior = $82,60 - (2 \times 23,62)$
LAcS: Límite de acción superior = $82,60 + (3 \times 23,62)$
LAcI: Límite de acción inferior = $82,60 - (3 \times 23,62)$

En este diagrama de control se ha incluido la siguiente información:

- Parámetro a analizar.
- Microorganismo que se utiliza para realizar el control.
- Procedimiento de análisis.
- Matriz.
- Resultado experimental (V_M) y Resultado teórico (V_R) en UFC.
- Cálculo de la recuperación en % = (Resultado experimental/Resultado teórico) x 100.
- Lote de la cepa utilizada.
- Muestra: Número de registro del análisis/muestra.
- Fecha de realización.
- Técnico analista.

Se especifican los “Parámetros de validación”:

- Valor en % de la recuperación y precisión obtenida a partir de datos de la validación, histórico de resultados, etc.

Se calculan los “Parámetros del gráfico”:

- Cálculo de la media de las recuperaciones y desviación estándar a partir de los 24 resultados. Datos de recuperación y precisión del gráfico.

Se indican los “Valores límite”:

- Cálculo de los límites de aviso y acción superiores e inferiores, que se obtienen de los datos de validación, histórico de resultados, etc.

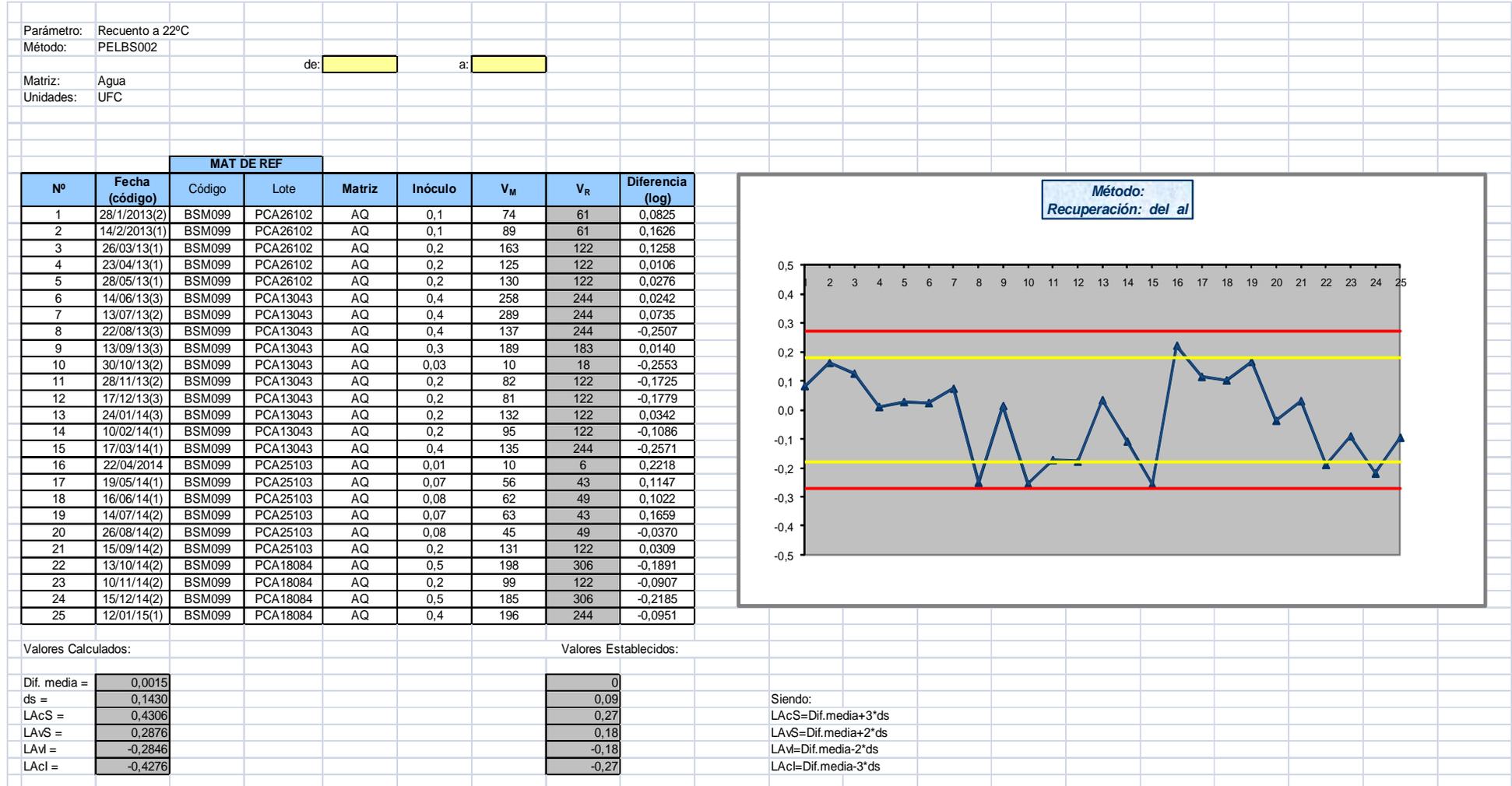
El diagrama de control se construye comparando el resultado experimental con el resultado teórico (esperado).

Se introducen los datos necesarios para poder construir el gráfico (celdas en amarillo).

El resultado de la recuperación individual queda registrado en el gráfico que contiene los límites de aviso y de acción.

Al final de los 24 valores se obtiene la recuperación y precisión del gráfico construido.

Ejemplo 2: Gráfico de Control de Recuperación (en escala logarítmica)



En este Diagrama de Control se ha incluido la siguiente información:

- Parámetro a analizar.
- Método de análisis.
- Matriz.
- Unidades de expresión de resultado.
- Identificación de la muestra analizada.
- Fecha de realización del ensayo.
- Material de referencia que se utiliza para realizar el control (código para indicar el microorganismo y lote).
- Inóculo empleado en la contaminación.
- Resultado experimental (V_M) y resultado teórico (V_R).
- Cálculo de la recuperación en $\log = V_M (\log) - V_R (\log)$.

Con los datos de recuperación obtenidos en el gráfico se obtienen los “Valores Calculados”:

- Cálculo de la media de las diferencias y desviación estándar obtenidas a partir de esos 25 datos. Resultados de recuperación y precisión.

Se indican los “Valores Establecidos” que se obtienen de los datos de validación, histórico de resultados, etc.

- Media de las diferencias y desviación estándar obtenidas de estos datos. Resultados de recuperación y precisión.
- Los límites del gráfico calculados con ese valor medio y esa desviación estándar.

El diagrama de control se construye indicando los límites de aviso inferior y superior (en el ejemplo en amarillo) y los límites de acción inferior y superior (en el ejemplo en rojo) y luego se van representando los resultados que se van obteniendo (en el ejemplo en verde) en cada uno de los 25 datos.

Ejemplo 3: Control de Precisión

EVALUACIÓN DE DUPLICADOS DE MUESTRAS EN MICROBIOLOGÍA

Parámetro: **Enterococos**

Procedimiento interno: **PAMB-15**

Año **2015**

Matriz **Agua de consumo**

Registro muestra	Fecha	Unidades	Resultado 1			Resultado 2			S _{R EXP} (Log)	S _{R Teor} (Log)	3S _{R Teor}	Evaluación
			Técnico	R1 (ufc)	R1 (Log)	Técnico	R2 (ufc)	R2 (Log)				
0001	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	38	1,580	XXX	38	1,580	0,00	0,117	0,234	Satisfactorio
0002	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	103	2,013	YYY	48	1,681	0,234	0,117	0,351	Satisfactorio
0003	XX/XX/XX	ufc/100ml	PPP	47	1,672	YYY	55	1,740	0,048	0,117	0,351	Satisfactorio
0004	XX/XX/XX	ufc/100ml	YYY	39	1,591	PPP	65	1,813	0,157	0,117	0,351	Satisfactorio
0005	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	69	1,839	PPP	68	1,833	0,004	0,117	0,351	Satisfactorio
0006	XX/XX/XX	ufc/250ml	PPP	30	1,477	PPP	50	1,699	0,157	0,117	0,351	Satisfactorio
0007	XX/XX/XX	ufc/250ml	YYY	20	1,301	YYY	27	1,431	0,092	0,210	0,630	Satisfactorio
0008	XX/XX/XX	ufc/250ml	XXX	35	1,544	XXX	39	1,591	0,033	0,117	0,351	Satisfactorio
0009	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	53	1,724	YYY	81	1,908	0,130	0,117	0,351	Satisfactorio
0010	XX/XX/XX	ufc/100ml	PPP	28	1,447	YYY	38	1,580	0,094	0,117	0,351	Satisfactorio
0011	XX/XX/XX	ufc/100ml	YYY	20	1,301	PPP	22	1,342	0,029	0,210	0,630	Satisfactorio
0012	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	31	1,491	PPP	29	1,462	0,020	0,117	0,351	Satisfactorio
0013	XX/XX/XX	ufc/100ml	PPP	45	1,653	PPP	40	1,602	0,036	0,117	0,351	Satisfactorio
0014	XX/XX/XX	ufc/100ml	YYY	55	1,740	YYY	21	1,322	0,296	0,117	0,351	Satisfactorio
0015	XX/XX/XX	ufc/100ml	XXX	23	1,362	XXX	81	1,908	0,387	0,117	0,351	Revisión resultados
Observaciones												

En este documento se ha incluido la siguiente información:

- Parámetro a analizar.
- Procedimiento de análisis.
- Matriz.
- Registro de muestra: Codificación de muestra analizada.
- Fecha de realización.
- Técnico(s) analista(s).
- Resultados obtenidos (Resultado 1) y (Resultado 2) en UFC.
- $S_{R \text{ Teor}}$: Valor de precisión obtenida en la validación, a partir de histórico de resultados, en logaritmo. (La precisión puede ser diferente si se ha calculado por rango de recuento).

Se realizan los siguientes cálculos:

- Expresión de los resultados en logaritmos.
- $S_{R \text{ Exp}}$: desviación estándar en logaritmo de cada par de valores.
- Cálculos de 3 veces la $S_{R \text{ Teor}}$.

Aceptación de resultado:

- Los resultados de recuento son iguales o la $S_{R \text{ Exp}}$ debe ser inferior a $3 \times S_{R \text{ Teor}}$.

A partir de esta información se puede construir un gráfico de control de la precisión del método.