IMPLEMENTACIÒN DEL SISTEMA DE GESTIÒN DE LA CALIDAD PARA LA ACREDITACIÒN EN ANALISIS DE COLIMETRÌA PARA AGUAS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA CORPORACIÓN UNIVERSITARIA LASALLISTA BASADO EN LA NTC-ISO/IEC 17025:2017

Tesis presentada(o) como requisito para optar al título de:

Magíster en Gestión de la Calidad los Alimento

SAY YURANI RAMÍREZ SALINAS

Directora

Dra. Luz Adriana Gutiérrez Ramírez
Doctora en Biotecnología

Codirector

César Augusto Ruiz Jaramillo

Magister en Ingeniería

Unilasallista Corporación Universitaria

Facultad de Ingenierías

Maestría en Gestión de la Calidad

Caldas Antioquia

2021

Contenido

Contenido 2

Introducción 11

Justificacion 12

Antecedentes de la ISO 13

Los principales beneficios de las normas ISO. 14

NTC ISO/IEC 17025-2017 15

Requisitos de la NTC ISO/IEC 17025:2017 15

Requisitos generales #4: 16

Requisitos estructurales #5: 16

Requisitos de recursos #6: 16

Requisitos de procesos #7: 16

Requisitos de gestión #8 16

Gestión de la calidad 17

La documentación de un sistema de gestión de la calidad 18

Certificación y acreditación 19

Validación de un método analítico 20

Verificación de un método 21

Incertidumbre de medición y garantía de calidad analítica 21

Comparación de métodos mediante estudios pre colaborativos 22

Comparación de métodos mediante estudios colaborativos 22

Atributos de los métodos 22
Exactitud 23
Precisión 23
Desviación Estándar 24
Varianza 24
Coeficiente de Variación 24
Linealidad 24
Rango de Linealidad 25
Correlación 25
Coeficiente de Correlación 25
Coliformes 26
Técnica de Sustrato definido Metodología Colilert 27
Fundamento sustrato definido- colilert 27
Fundamento - Quanti-Tray 28
Objetivos 29
General 29
Específicos 29
Implementaciòn del sistema de gestión de calidad 30
Introducción 30
Objetivo Especifico 30
Metodología 30

Requisitos Generales 31
Requisitos relativos a la estructura 33
Requisitos relativos a los recursos 34
Requisitos del proceso 39
Verificación de la metodología colilert 43
Introducción 43
Objetivo Especifico. 43
Metodología 44
Toma de muestra y siembra inicial (día 1) 45
Cuantificación de las cepas 45
Selección de la dilución de trabajo y límites de detección (día 2) 46
Sellado e incubación de muestra (procedimiento colilert) 47
Repetibilidad y Reproducibilidad 48
Tratamiento de la Muestra 48
Resultados 49
Repetibilidad y Reproducibilidad 49
Reproducibilidad intermedia 51
Reproducibilidad *E. coli* y Coliformes totales 51
Cuantificación de las cepas de trabajo 53
Límite de detección 54
Porcentaje de recuperación 55

Repetibilidad 58

Límite de detección 58

Reproducibilidad intermedia 58

Exactitud 58

Elaborar un instructivo de análisis de colimetría para aguas por el método colilert. 60

Introducción 60

Objetivo Especifico 60

Metodología 61

Discusión 62

Conclusión 65

Anexos 66

Bibliografía 67

Listado de figuras

Ilustración 1. Organización del Centro de Laboratorios. Fuente: Corporación Universitaria Lasallista ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Listado de tablas

Tabla 1. Repetibilidad del ensayo realizado por el analista A 49

Tabla 2. Repetibilidad del ensayo realizado por el analista B 50

Tabla 3. Reproducibilidad intermedia del analista A y B 51

Tabla 4. Análisis de varianza de un factor (resumen) 52

Tabla 5. Análisis de varianza 52

Tabla 6. Análisis de varianza de un factor (resumen) 52

Tabla 7. Análisis de varianza 53

Tabla 8. Límite de detección para Escherichia coli 25922 y Klebsiella pneumoniae BAA-1705 53

Tabla 9. Límite de detección para Escherichia coli 25922 54

Tabla 10. Límite de detección para Klebsiella pneumoniae BAA-1705 55

Tabla 11. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua cruda, utilizando la cepa Escherichia coli 25922 56

Tabla 12. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua potable, utilizando la cepa Escherichia coli 25922 56

Tabla 13. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua cruda, utilizando la cepa Klebsiella pneumoniae BAA-1705..... 56

Tabla 14. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua potable, utilizando la cepa Klebsiella pneumoniae BAA-1705..... 57

Resumen

En el mundo actual los retos son cada vez mayores, especialmente entre las empresas, lo cual desafia la alta competitividad. Por esto, la buena gestión de la calidad de un producto o servicio es una condición que sirve para obtener un mayor rendimiento y durabilidad a través del tiempo. La calidad en las empresas es importante, proporciona herramientas prácticas que conllevan a cumplir con unos estándares, y poder competir en un mercado cada vez mas exigente, buscando siempre una mejora continua, satisfaccion de los clientes, estandarización y control de procesos. Esta situación no sólo se evidencia en las empresas, sino también en los laboratorios que quieren vender pruebas acreditadas que garanticen resultados confiables convirtiéndose esta demanda en una necesidad.

Necesidad evidenciada en el Laboratorio de Microbiologia de la Corporación Universitaria Lasallista, la calidad basado en la NTC ISO/IEC 17025:2017 para la acreditación de la prueba de análisis de aguas, en el cual: se establecieron las actividades y se elaboró la documentación asociada a la implementacion del sistema de gestión de la calidad; donde toda esta documentación reposa en los archivos de laboratorios y esta siendo implementada para cada una de las actividades que se realizan en el laboratorio, junto a esto se realizó la verificación del método de análisis número mas probable (NMP) mediante la tecnología colilert en aguas crudas y potables; y se elaboró un instructivo de análisis de colimetría para aguas por el método colilert para la determinación de coliformes totales y *E. coli.*

Palabras clave: Colilert, gestión, verificación, estandarización, colimetría

Abstract

In today's world the challenges are increasing, especially among companies, which challenges high competitiveness. For this reason, good quality management of a product or service is a condition that serves to obtain greater performance and durability over time. Quality in companies is important, it provides practical tools that lead to compliance with standards, and to be able to compete in an increasingly demanding market, always seeking continuous improvement, customer satisfaction, standardization, and process control. This situation is not only evident in companies, but also in laboratories that want to sell accredited tests that guarantee reliable results, making this demand a necessity.

Need evidenced in the Microbiology Laboratory of the Lasallian University Corporation, the quality based on the NTC ISO / IEC 17025: 2017 for the accreditation of the water analysis test, in which: the activities were established and the associated documentation was prepared to the implementation of the quality management system; where all this documentation rests in the laboratory files and is being implemented for each of the activities carried out in the laboratory, together with this, the verification of the most probable number analysis method (NMP) was carried out using colilert technology in water. raw and drinkable; and an instructive for colimetry analysis for waters was prepared by the colilert method for the determination of total coliforms and E. coli.

Keywords: Colilert, management, verification, standardization, colimetry

Introducción

La implementación de los sistemas de gestión de calidad tiene como reto orientar las estructuras organizacionales bajo una visión por procesos y altos estándares de calidad, que faciliten el aseguramiento de la veracidad de los resultados desde la primera actividad de planeación hasta la entrega final al cliente. El Laboratorio de Microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista fue diseñado con la infraestructura física requerida para la Norma NTC ISO/IEC 17025:2017 y se dotó con equipos de última tecnología, sumado a esto un personal cualificado y calificado para, mejorar y aumentar la competitividad en el mercado. Bajo estas condiciones se implementó un sistema de gestión de calidad soportado en la NTC ISO/IEC 17025:2017 cumpliendo con los requisitos necesarios estipulados en dicha norma, facilitando la armonización de criterios de la calidad; paralelo a esto se realizó la verificación del método de análisis NMP mediante la metodología colilert para aguas crudas y potables, donde se obtuvieron los resultados de la verificación, los cuales fueron positivos frente a la validación de la metodología ya estipulada, lo que garantiza que para este tipo de análisis, el Laboratorio de Microbiología cuenta con la competencia técnica y un equipo capaz de garantizar la fiabilidad de los resultados analíticos, situación que revierte en su competitividad.

Justificacion

En el Centro de Laboratorios de la Corporación Universitaria Lasallista se encuentra el Laboratorio de Microbiología, creado con recursos de Regalías y destinado al análisis microbiológico de aguas, concentrados y alimentos, el cual cuenta con las condiciones, equipos e infraestructura óptimas para generar servicios con calidad, sin embargo, ante la necesidad actual de generar pruebas acreditadas se inició hace algún tiempo un proceso documental y técnico para la validación del método de análisis de aguas por NMP. basado en la Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2017(Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración), para esto se abarcaron todos los requisitos pertinentes a las actividades desarrolladas en el laboratorio, así mismo, se llevó acabo la verificación del método de análisis Numero Mas Probable mediante la metodología colilert para aguas crudas y potables con la finalidad de ser acreditada. Los resultados asociados a estos procesos, se verán visibilizados en la mejora continua en la calidad del servicio, la confiabilidad en los resultados, y el posicionamiento del mismo en el mercado.

Antecedentes de la ISO

En el año 1946, los representantes de 25 países se reunieron en Londres, con el fin de crear una entidad que facilitara la coordinación internacional y la unificación de estándares industriales promoviendo la calidad al interior de las organizaciones, a esta normativa le dieron el nombre de Organización Internacional de Normalización y sus siglas ISO (Universidad Catolica de honduras, 2018). Al año siguiente, en el mes de febrero, se formalizó la creación de la ISO y empezó sus operaciones, dando inicio oficial de actividades el 27 de febrero de 1947. Luego en la década de los 80 se hizo necesario que las entidades colocaran en práctica los sistemas de aseguramiento de calidad con el propósito de llenar requisitos técnicos de productos y servicios, garantizando la calidad y la satisfacción del cliente, y fue justo en 1987 cuando se aprobaron las normas de la serie ISO-9000, con la finalidad de establecer una disminución en los diferentes enfoques de sistemas de calidad.

Desde ese momento se han creado más de 19.500 normas que abarcan todos los sectores de producción, incluidos la industria, el sector salud, el sector alimentario y el tecnológico, entre otros. (ISO, 2014) La organización tiene su sede ubicada en Ginebra (Suiza) donde se encuentra la Secretaría General de ISO, en la que se realiza el control de la normatividad en el resto de los países (ISO, 2014)

La primera versión de la serie ISO-9000 se convirtió en el prototipo general que debía reunir un sistema de aseguramiento de calidad en una entidad. En primera instancia se dieron a conocer 5 normas de la serie ISO dos de ellas para gestión interna

de la calidad ISO-9000 e ISO-9004 y los tres restantes para fines externos de aseguramiento de la calidad ISO-9001; ISO-9002 e ISO-9003.

La Norma ISO 9001, fue elaborada por el Comité Técnico ISO/TC176 de ISO (Organización Internacional para la Estandarización) donde especifica los requisitos para un buen sistema de gestión de la calidad; los cuales pueden utilizarse tanto internamente por las organizaciones, para certificación o fines de acreditación (Universidad Catolica de honduras, 2018).

Los principales beneficios de las normas ISO.

La Organización Internacional de Normalización se creó con la idea de dar respuesta a la pregunta: "¿cuál es la mejor manera de hacer las cosas?"

La respuesta a esta pregunta se inició con procesos tan sencillos de registro como el peso y las medidas, y en las últimas cinco décadas se ha convertido en un grupo de estándares que cubren todo, desde productos hasta servicios; estas Normas internacionales son sinónimo de calidad y confianza para los consumidores (Universidad Catolica de honduras, 2018)

Las normas ISO han sido reguladoras de los sistemas de gestión, actualmente la existen variedad de normas, con focos de profundización específicos, tal es el caso de la NTC ISO/IEC 17025:2017, dedicada a implementar un sistema de gestión y acreditación en los laboratorios de ensayo y de calibración (Universidad Catolica de honduras, 2018) .

NTC ISO/IEC 17025-2017

La Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2017 cuenta tanto con los Requisitos generales como con los Requisitos técnicos que debe cumplir todo laboratorio de prueba y calibración, esta norma constituye la referencia internacional para los laboratorios que realizan actividades de calibración y prueba en todo el mundo (ICONTEC, 2017)

La NTC ISO/IEC 17025:2017 promueve el intercambio de información entre los laboratorios y otros organismos al generar una garantía de los resultados entre los países.

Los certificados emitidos en los laboratorios que han sido certificados bajo los lineamientos de esta norma son reconocidos y aceptados de un país a otro sin la necesidad de realizar más pruebas mejorando de esta forma su visibilidad internacional (Universidad Catolica de honduras, 2018). Esta norma consta de Requisitos generales como estructurales, distribuidos así:

Requisitos de la NTC ISO/IEC 17025:2017

Los primeros tres capítulos (1,2,3) de la norma no contienen requisitos, estos identifican el objeto y el campo de aplicación de la norma, las referencias normativas y los términos para la norma, Los requisitos se encuentran divididos en 5 numerales de la siguiente manera.

Requisitos generales #4:

Este numeral hace énfasis en la necesidad de demostrar la imparcialidad y el compromiso de confidencialidad de todo el personal involucrado en los procesos del laboratorio.

Requisitos estructurales #5:

En este requisito se define como debe estar organizado el laboratorio y como debe ser su interacción con el entorno.

Requisitos de recursos #6:

Define los requerimientos del personal, el equipamiento, la trazabilidad metrológica, compras, las condiciones ambientales y las subcontrataciones en el caso de que las haya.

Requisitos de procesos #7:

Indica la revisión de los contratos, métodos de muestreo, evaluación de la incertidumbre, manipulación de los ítems de calibración, validación de los métodos, expresión de los resultados.

Requisitos de gestión #8

Anexo A – Trazabilidad metrológica

Anexo B – Sistemas de gestión

La Norma tiene dos alternativas para dar cumplimiento a los requerimientos en función de los procesos del laboratorio, la opción A esta dirigida al control de documentos y registros, acciones correctivas, gestión de riesgos y oportunidades de mejora, auditorías internas y revisión por la dirección. La opción B se establece si se cuenta con un sistema de gestión de la calidad certificado en NTC ISO 9001:2015 la auditoria confirmaría que estos numerales se están cumpliendo en ISO/IEC 17025 (ICONTEC, 2017), ya que contar con la implementación de la NTC ISO 9001:2015 ya se encuentran contemplados dichos requerimientos.

Gestión de la calidad

La gestión de la calidad en el laboratorio encierra todas las acciones encaminadas a conseguir resultados confiables, todo relacionado con la acción de mejora, donde la cultura organizacional es una de las variables más importantes en el éxito o fracaso de la implementación (J. M. Gonzalez, 2010). La gestión de la calidad tiene cuatro componentes principales:1. Planificación de la calidad; 2. Aseguramiento de la calidad; 3. Control de calidad; 4. Mejora de la calidad.

La planificación de la calidad consiste en la definición de requisitos y metas de calidad. La garantía de calidad se ocupa de la predicción de posibles errores y define un conjunto de medidas para evitarlos, por otro lado, el control de calidad se ocupa de situaciones en las que se crean errores y su principal objetivo es detectarlos y evitar que éstos causen mayores complicaciones. Por último, la calidad tiene como objetivo incrementar la capacidad de la organización para satisfacer a sus clientes y aumentarla

a través de un buen desempeño y define cómo se puede mejorar aún más la calidad de los resultados (Evans & Lindsay, 2012)

Estas cuatro características no son independientes, todas las pruebas realizadas en el aseguramiento de la calidad pueden perjudicar o mejorar los requisitos de calidad previamente definidos en la planificación de la calidad o incluso definir nuevos objetivos para el mejoramiento de los procesos (Pedrosa & Slotboom, 2017).

La implementación de un sistema de gestión de calidad permite resultados de pruebas de alta precisión que incluyen la estimación de la incertidumbre de medición (OMS, 2016)

La documentación de un sistema de gestión de la calidad

La documentación de un sistema de gestión de calidad permite comunicar el proceso y la coherencia de las acciones proporcionando evidencias objetivas, contribuyendo a evaluar la eficacia y la adecuación continua del sistema de gestión de la calidad (Gradzien & Hamrol, 2016). La documentación de un sistema hace referencia a, procedimientos, instructivos, formatos, y manual de calidad, donde los procedimientos refieren de forma especificada como llevar a cabo una actividad o un proceso, los instructivos es el documento que describe en detalle el que y el cómo de una actividad o proceso, los formatos son una forma estandarizada para registrar la información y el manual de calidad es el documento que especifica el sistema de gestión de la calidad de una organización.

Certificación y acreditación

Acreditación y certificación son términos con conceptos totalmente distintos, la acreditación, es el proceso evaluador de la competencia de una organización que realiza cualquier tipo de actividad la cual se inicia cuando la organización decide cumplir un modelo ya establecido para la actividad que desempeña, esto evidencia tanto el cumplimiento como la revisión de un modelo por un ente que corrobora el cumplimiento una vez el ente a acreditar encuentra conformidad en la implementación y el logro del cumplimiento de los objetivos, avala la acreditación (Gonzales, 2012)

La certificación el proceso mediante el cual un ente diferente e independiente, da garantía por medio de un certificado que un producto, proceso o servicio está conforme a los requisitos especificados, convirtiéndose en la prueba de la conformidad del producto materializándose en un certificado el cual es emitido en concordancia con las reglas de un sistema de certificación, que garantiza el cumplimento de la normativa (Gonzales, 2012)

Una vez, un Laboratorio haya implementado el sistema de gestión de calidad, el laboratorio puede proceder a acreditarse con las entidades autorizadas para tal fin, como pueden ser IDEAM y ONAC entre otras, reconociéndose como una organización con altos estándares de calidad en sus procesos, promoviendo el posicionamiento del laboratorio y la generación de confianza en sus clientes; sin embargo para asegurar la competencia técnica de una prueba es necesario, validar la prueba para asegurar la confiabilidad de ésta (Gonzales, 2012).

Validación de un método analítico

La validación de un método analítico es la comprobación formal del comportamiento de un método; fundamentado en una serie de indicadores básicos, tales como: exactitud, precisión, sensibilidad, intervalo lineal, selectividad y robustez. (Camaro & Martinez, 2015)

La validación de las metodologías, al igual que otras actividades dentro del proceso de gestión de la calidad, demuestran que los métodos llevados a cabo en el laboratorio son confiables, evidenciando que las condiciones propias del método cumplen con las exigencias para las cuales fue diseñado; con requisitos como:

- Categoría I: Precisión, exactitud, especificidad, rango, linealidad y tolerancia.
- Categoría II: Precisión, exactitud, especificidad, rango, linealidad, tolerancia y límite de cuantificación.
- Categoría III: Precisión y tolerancia.

Los procesos de validación se llevan a cabo para evaluar la probabilidad de que las limitaciones de la prueba puedan causar un cambio erróneo en la interpretación de los resultados de la prueba o las decisiones de tratamiento (Wolk, 2017). Es por esto, que se genera la necesidad de utilizar métodos validados para el desarrollo de las técnicas, existen varios factores tales como: los planes de muestreo, manejo de las muestras, calibración y mantenimiento de los equipos, las condiciones ambientales, los procedimientos operativos, la conservación y el uso de los reactivos, la capacitación del personal e instalaciones apropiadas (ICONTEC, 2017).

Verificación de un método

La verificación de un método nace por la necesidad de disminuir el tiempo y los protocolos durante un proceso de validación. El objetivo de la verificación es comprobar la capacidad que presentan los laboratorios de producir resultados confiables frente al mismo desempeño analítico, como fueron establecidos cuando se creó el método por los fabricantes de equipos y reactivos (Branbila, 2009). Los Procesos relacionados con la verificación y validación de métodos analíticos cobran de esta forma gran importancia por el continuo desarrollo y actualización de técnicas y equipos analíticos con alto nivel de complejidad, sin contar el interés de los profesionales en garantizar la calidad de sus procesos y resultados (Camaro & Martinez, 2015)

Incertidumbre de medición y garantía de calidad analítica

La incertidumbre de medición es el parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser atribuidos al mensurando. La incertidumbre de medidas comprenden varios componentes evaluados a partir de la distribución estadística caracterizados por desviaciones estándar y se evalúa asumiendo distribuciones de probabilidad basadas en la experiencia adquirida (Pr et al., 2002).

La incertidumbre de medición es de gran ayuda al momento de hablar de garantía de calidad en los laboratorios, ya que asegura la confiabilidad de los resultados.

Comparación de métodos mediante estudios pre colaborativos

Frecuentemente se utiliza como guía la aplicación del método que se valida simultáneamente con un método cuyas características son conocidas sobre un material de referencia o un estándar (Anderson, 2010).

Comparación de métodos mediante estudios colaborativos

Corresponde a la aplicación de un método analítico por un grupo mínimo de 8 laboratorios, sobre una porción idéntica de muestra, con la concentración del analito adecuada para la aplicación del método.

Esta herramienta permite determinar por análisis, muestras paralelas en diferentes días, y de analistas bajo condiciones intermedias de precisión, características tan importantes como exactitud, sensibilidad, rango, especificidad, límite de detección y cuantificación (Rico & Merchan, 2010) .

Atributos de los métodos

La demostración objetiva del cumplimiento de los requisitos exigidos para los cuales fue desarrollado cada uno de los métodos, se hace mediante la determinación estadística de los atributos, siendo estos conceptos los que permiten evaluar la tendencia de los datos, que, para el caso de las mediciones repetitivas en la estimación de los analitos, resulta ser una distribución normal (Rico & Merchan, 2010).

Dentro de los atributos se tiene:

Exactitud

Es el grado de proximidad entre una medida y el valor verdadero o esperado, es igual a la recuperación, también se considera como el grado de correspondencia entre la respuesta obtenida por el método de referencia y la respuesta obtenida por el método alternativo en muestras idénticas. A menudo se puede considerar que un experimento de exactitud es un ensayo práctico de la aptitud del método de medición normalizado. Uno de los principales propósitos de la normalización es eliminar las diferencias entre usuarios (laboratorios) tanto como sea posible, y los datos suministrados por un experimento de exactitud revelarán cuán efectivamente se ha alcanzado este propósito (Guzman, 2006).

Precisión

Es el grado de proximidad entre resultados de ensayos que se efectúan repetitivamente y en forma independiente, bajo condiciones estipuladas. Es igual a la reproducibilidad y está determinada por el coeficiente de variación. En este sentido la repetibilidad corresponde al grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo elemento medido realizada bajo las mismas condiciones de medición y la reproducibilidad al grado de concordia entre los resultados de las mediciones en el mismo elemento medido realizada bajo condiciones de medición alteradas; es la variación observada cuando diferentes operadores miden la misma pieza con la misma instrumentación. Se calcula el coeficiente de variación del método y se compara con el de la literatura (Westgard, 2015).

Desviación Estándar

Se define como la raíz cuadrada de la varianza. Junto con este valor, la desviación típica es una medida (cuadrática) que informa de la media de distancias que tienen los datos respecto de su media aritmética, expresada en las mismas unidades que la variable. Se caracteriza por ser el estadígrafo de mayor uso en la actualidad (Castillo, 2009).

Varianza

Es una variable que representa una medida de dispersión media de una variable aleatoria X, respecto a su valor medio o esperado. Puede interpretarse como medida de "variabilidad" de la variable. Determina si existe diferencia entre los promedios de valores de analitos y los valores numéricos (Guzman, 2006).

Coeficiente de Variación

Se define como la relación existente entre la desviación estándar de los datos y el valor medio de los mismos y se expresa en porcentaje. El coeficiente de variación exigido depende de las unidades de concentración en que se encuentra el analito. (Gutierez, 2012).

Linealidad

Obedece a la capacidad del método de producir resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra, refiriéndose a la

proporcionalidad entre la concentración y la señal recibida, se debe verificar si en el laboratorio se cumple el rango y tipo de linealidad que reporta la literatura del método (Metas y Metrologos Asociados, 2008).

Rango de Linealidad

Es el intervalo de concentración del analito dentro del cual es confiable cualquier resultado obtenido y sobre el cual se pueden aplicar las herramientas estadísticas, gráficas y matemáticas que permitan emitir un resultado final. Esto aplica en los métodos en los que se ha demostrado que la respuesta es lineal (Metas y Metrologos Asociados, 2008).

Correlación

La correlación es una medida de la relación (covariación) lineal entre dos variables cuantitativas continuas (x, y). La manera más sencilla de saber si dos variables están correlacionadas es determinar si co-varían (varían conjuntamente). La correlación es en esencia una medida normalizada de asociación o covariación lineal entre dos variables (Vinuesa, 2016).

Coeficiente de Correlación

Es el ajuste a un modelo lineal, este debe ser cercano a 1, si es (+) positivo es directamente proporcional y si da (-1) es inversamente proporcional.

Sensibilidad

Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración. Como valor se puede reportar el promedio para las curvas obtenidas en los ensayos de estandarización y en la medición de muestras indicando su desviación estándar.

Robustez

Es una medida de la capacidad del método para no ser afectado por pequeños cambios deliberados en sus parámetros y provee una indicación de su confiabilidad durante su uso normal (ICONTEC, 2017).

Coliformes

Son un grupo bacteriano formado por los siguientes géneros, *Escherichia coli, Klebsiella sp*, *Enterobacter sp y Citrobacter sp*, que tienen ciertas características bioquímicas en común: 1. son aerobias o anaerobias facultativas; 2. Bacilos gram negativos; 3. No productoras de esporas; 4. Fermentan glucosa a 35ºC en 48 horas, generando ácido láctico y gas. Son indicadores de contaminación en agua y en alimento (Barrantes & Achi, 2011).

La presencia de coliformes fecales permite asegurar que la contaminación que presenta el agua es por *Escherichia coli*. Con varios métodos para la detección de *E. coli*, en aguas, por ejemplo, se encuentra la tecnología de sustrato definido colilert que detecta simultáneamente *coliformes totales* y *E. coli* en agua. Este método contiene dos

nutrientes indicadores, ONPG (*orto-nitrofenilgalactopiranósido*) y MUG (Agar Cromogénico), el primero es metabolizado por la enzima coliforme *β-galactosidasa* cambiándolo de incolora a amarillo y el segundo es metabolizados β-*glucoronidasa* creando fluorescencia. Estas dos enzimas, se encuentran presentes en la mayoría de las bacterias Coliformes y *E coli,* ambas, necesitan ser inducidas, estas son netamente restrictivas (necesita la absoluta restricción de otras fuentes de carbono, para su expresión de forma adecuada) (Chao, 2006).

Técnica de Sustrato definido Metodología Colilert

Es una técnica destinada a determinar Ausencia/Presencia y/o NMP para microorganismos Coliformes totales y *Escherichia coli* en agua de consumo, en agua potable tratada envasada, aguas de estanques de piscina y matrices similares (Colombia, 1994).

Fundamento sustrato definido- colilert

Colilert es un sistema de reactivos diseñado para un diagnóstico de Coliformes totales y *E. Coli* en aguas. En su formulación sólo se encuentran presente dos únicas fuentes de carbono ONPG y MUG, lo que permite que solo los microorganismos enzimáticamente equipados para hacer el metabolismo de estos azucares, tengan oportunidad de desarrollarse, presentando mediante el cambio de color una señal positiva. La prueba colilert Identifica específicamente *E. coli* y anula los avisos innecesarios por organismos no objetivo, elimina hasta 2 millones de heterótrofos por 100 mL y 5 millones por 250 mL, descarta la subjetividad interpretativa que forma parte

de los métodos tradicionales, detecta un único coliforme o *E. coli*, empleándose para el análisis de determinación de presencia/ausencia o de cuantificación Quanti- tray (IDEXX, 2018).

Fundamento - Quanti-Tray

El sistema utiliza el mismo modelo de distribución estadística de Poisson en que se basa la fermentación en tubos múltiples, pero utiliza más submuestras (tubos) y realiza el trabajo automáticamente. El sellador Quanti-Tray distribuye la mezcla de muestra y reactivo en pocillos de la bandeja. Este proceso elimina el pipeteado manual de los métodos tradicionales y contribuye a la eficiencia del proceso en tiempo y espacio. El diseño con dos tamaños de pocillos Quanti-Tray/2000 aprovecha el mismo modelo de probabilidad usado por el procedimiento de dilución en serie de Numero Mas Probable. Los pocillos de mayor tamaño funcionan como submuestras no diluidas; los pocillos pequeños como submuestras diluidas. Sin embargo, no se requiere un diluyente. Los 97 pocillos de Quanti-Tray/2000 dan lugar a márgenes muy amplios de recuentos y a límites de confianza del 95% muy precisos (IDEXX, 2018).

Objetivos

General

Implementar los procesos para la acreditación en análisis de colimetría para aguas del laboratorio de microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista basada en NTC ISO/IEC 17025:2017.

Específicos

- Establecer las actividades, etapas, equipos, materiales, personal y procesos asociados a la implementación de la NTC ISO/IEC 17025:2017 en el laboratorio de Microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista.
- Verificar el método NMP de análisis de colimetría colilert para aguas crudas y aguas potables según los requisitos del IDEAM.
- Elaborar un instructivo de análisis de colorimetría para aguas por el método colilert.

Implementaciòn del sistema de gestión de calidad

Introducción

En el Laboratorio de Microbiología se elaboró e implementó un Sistema de Gestión de la Calidad bajo los lineamientos establecidos en la NTC ISO/IEC 17025:2017. Este se documentó abarcando todos los requisitos exigidos por la Norma, teniendo en cuenta todos los parámetros y documentos relacionados con el proceso de la verificación del método colilert para aguas crudas. Los sistemas de gestión de la calidad proporcionan una base sólida para manejar todos los procesos, incluido el de verificación de la metodología colilert en aguas, demostrando que el laboratorio opera de forma competente y que tiene la capacidad de generar resultados válidos, convirtiéndose en base fundamental al momento de solicitar la acreditación.

Objetivo Especifico

Establecer las actividades, etapas, equipos, materiales, personal y procesos asociados a la implementación de la NTC ISO/IEC 17025:2017 en el laboratorio de Microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista.

Metodología

Los procesos se realizaron para todas las actividades que se llevan a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista, se tomó cada requisito estipulado en la norma NTC ISO/IEC 17025:2017 y se realizó la identificación y creación de los documentos pertinentes(formatos, instructivos, procedimientos, planes,

políticas, manuales) para cada actividad, solo estuvieron por fuera de la documentación del sistema de gestión los requisitos 7.3 referente al muestreo, debido que el Laboratorio de Microbiología no realiza toma de muestras para los análisis, el requisito 7.8.4 que corresponde específicamente a los certificados de calibración, y el requisito 7.8.5 información de muestro, las actividades se realizaron en conjunto con el equipo de trabajo del laboratorio, compuesto por analistas, microbiólogo, coordinador y director, se realizaron reuniones donde se socializo los alcance de la norma y cada uno de sus componentes, realizando los cambios pertinentes tanto en la conducta del personal involucrado como en la parte física, la forma como se desarrollaron cada uno de los requisito se describe a continuación.

Requisitos Generales

Imparcialidad:

Se define como la presencia de objetividad donde se incluyen requisitos para salvaguardarla y no permitir que ninguna presión comercial, financiera o de otra índole que pueda comprometerla.(LEC, N.D.), el Laboratorio de Microbiología reconoce la imparcialidad como uno de los requisitos de mayor importancia en la NTC-ISO/IEC 17025:2017, implementando los controles definidos en la matriz de riesgos, CL-SGC-FT-017, donde se toman medidas para asegurar que la dirección y los trabajadores estén libres de presión, o influencias tanto interna como externa, se cuenta con un comité de preservación de la imparcialidad, analizando los conflictos que puedan presentarse entre funcionarios, personal y clientes, identificando los riesgos a la imparcialidad de manera

continua, las cuales se registran en el procedimiento gestión de riesgo y oportunidades, CL-SGC-PD-006, de forma independiente, salvaguardando la información en todos los procesos. La dirección del centro de laboratorios se encuentra comprometida con la imparcialidad, e incluye dentro de sus políticas de competencia, imparcialidad, juicio o integridad operativa evitar intervenir en cualquier actividad que pueda afectar el cumplimiento de estas. De cara al cumplimiento de las actividades del sistema de gestión de la calidad, la dirección del laboratorio se encarga de garantizar que el personal cumpla con los estándares de calificación, capacitación y ética profesional necesarios para desempeñar cada cargo. (ver anexo 1 página 8).

Confidencialidad:

En el centro de laboratorios se garantiza la propiedad de la información, y esta es accesible solo para personal autorizado como lo establece la NTC-ISO/IEC 17025:2017, la información es propiedad del cliente, se trabaja y se asegura la protección de la información confidencial y los derechos de propiedad de los clientes, al momento en que se acepta la cotización del servicio, CL-SER-FT-001, para esto, nos apoyamos en el Manual de las políticas de tratamiento de información y protección de los datos personales establecidos por la Corporación, donde se definen los principios específicos, como lo son principios de legalidad, libertad, veracidad y calidad entre otros, el dato sensible, los deberes de la Corporación en el tratamiento de los datos personales, todo esto para garantizar la confidencialidad de toda la información obtenida durante la ejecución de las actividades, (Lasallista, 2013).

En el momento que el laboratorio sea requerido para revelar información confidencial por ley o autorizado por las disposiciones contractuales, el coordinador informa al cliente utilizando el formato de comunicado, CL-SER-FT-003. Los derechos de propiedad de los clientes es parte fundamental en el desarrollo de las actividades del laboratorio de Microbiología, y para esto se definen las políticas y se cuenta con los siguientes documentos, procedimiento gestión de servicio, CL-SER-PD-002, procedimiento para el reporte y entrega de resultados, CL-SER-PD-005, registro de visitantes, CL-SGC-FT-014 y acuerdo de confidencialidad usuarios laboratorio, CL-SGC-FT-016. (ver anexo 1, página 8 y 9).

Requisitos relativos a la estructura

El laboratorio de Microbiología es un de laboratorio de extensión adscrito a la Corporación Universitaria Lasallista, código 2820, institución de educación superior no oficial-corporación, forma parte del Centro del Laboratorios (ver ilustración 1). El laboratorio cuenta con procesos administrativos y de calidad es independiente y autónomo, con el fin de facilitar el acceso de clientes externos a los servicios de análisis microbiológicos, para esto cuenta con personal capacitado para la ejecución y realización de las actividades que requieren confiabilidad y exactitud, características propias de los laboratorios que pasan por procesos de acreditación.

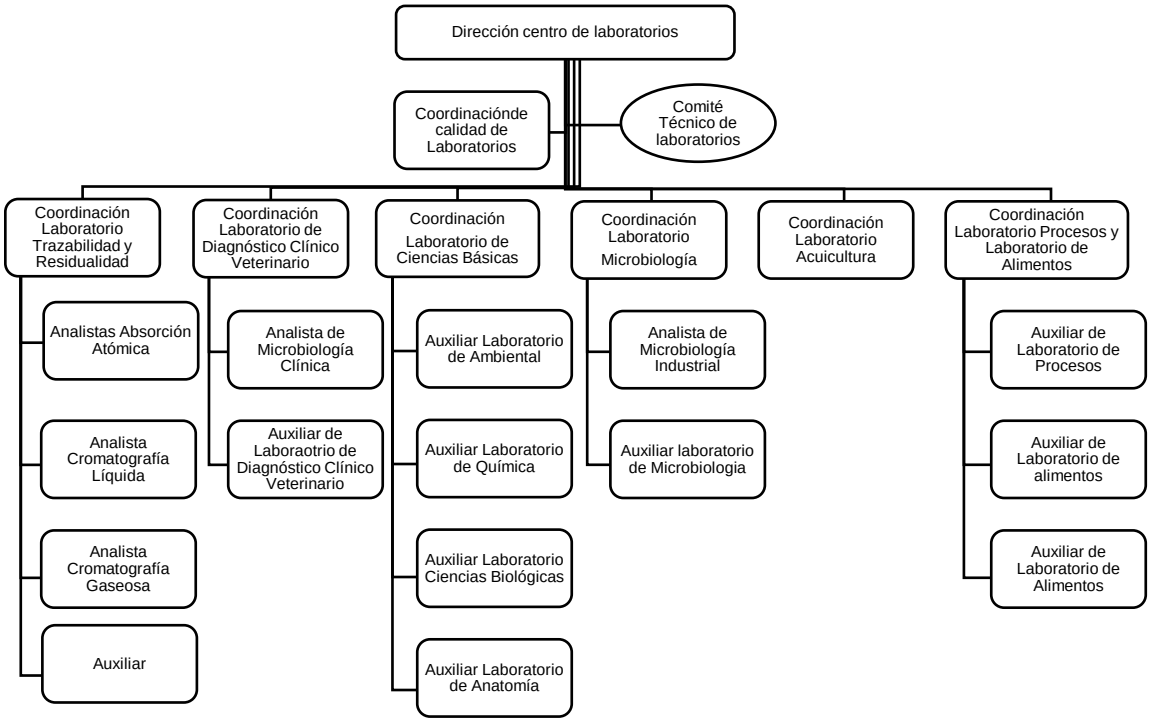

Ilustración 1. Organización del Centro de Laboratorios. Fuente: Corporación Universitaria Lasallista

El sistema de gestión de la calidad establecido cubre todas las actividades realizadas en las instalaciones físicas del laboratorio ubicadas en la Corporación Universitaria Lasallista, no se realizan actividades fuera de las instalaciones. (ver anexo 1, paginas 9,10,11 y 12).

Requisitos relativos a los recursos

Personal:

Toda persona interna o externa que pueda influir en las actividades del laboratorio, están comprometidas de forma imparcial, competentes, y realizar sus actividades de

acuerdo con lo estipulado en el sistema de gestión del laboratorio. El Laboratorio, cuenta con un procedimiento general, para realizar la selección de personal idóneo, acorde a las necesidades de cada función, en donde se tiene en cuenta los criterios de educación, formación, calificación, conocimiento técnico, habilidades y experiencia definidos en el perfil de cargo, TH-FO-169, apoyado por el proceso interno de talento humano de la Corporación, todo personal externo que realice actividades dentro del laboratorio debe firmar el acuerdo de confidencialidad antes de iniciar actividades y paralelo a esto será capacitado de acuerdo al plan de entrenamiento, CL-SGC-FT-019, estipulado por el Coordinador de Laboratorios.

La dirección del Laboratorio es la encargada de comunicar al personal sus tareas, responsabilidades, autoridad y velar por que todas las actividades sean ejecutadas dentro de los parámetros, para esto se realiza evaluación y capacitación continua al personal, de acuerdo con el procedimiento manejo de personal, CL-SGC-FT-019, asegurando de esta manera que el personal cuente con la competencia para realizar sus funciones.

Este requisito es soportado por los procedimientos corporativos como lo son, Procedimiento inducción del personal, TH-PC-009, procedimiento contratación de docente TC-TP y administrativos, procedimiento gestión de desempeño del personal, TH-PC-017, procedimiento plan de formación y desarrollo del personal, TH-PC-018, procedimiento reinducción del personal, TH-PC-101 y selección del personal administrativo, TH-PC-121. (ver anexo 1, página 13 y 14).

Instalaciones y condiciones ambientales:

Son todos aquellos factores presente en el entorno durante la obtención de un producto o prestación de servicio(Freile, n.d.), en este caso, el laboratorio cuenta con un área de trabajo amplia compuesta por dos mesones, un cuarto para procesamiento de muestras, un cuarto de esterilización, dotado también con un espacio para las neveras, todas estas áreas se encuentran separadas e identificadas, de manera que se evita la contaminación cruzada, instalaciones que están diseñadas para la adecuada realización de los ensayos, teniendo en cuenta las fuentes de energía, la iluminación, condiciones ambientales, servicios de acueducto y alcantarillado. Ver ilustración 2.

El laboratorio tiene documentado el procedimiento de instalaciones y condiciones ambientales, CL-MYC-PD-001 los requisitos de las instalaciones y condiciones ambientales, de acuerdo con las especificaciones del procedimiento pertinente, se registran las condiciones ambientales todos los días en el formato de seguimiento de condiciones ambientales, CL-MYC-FT-013, personal del laboratorio se encarga de hacer cumplir el procedimiento de limpieza y desinfección para esto se cuenta con el procedimiento limpieza de laboratorio, CL-MYC-PD-005 el cual es ejecutado por el personal de servicios generales de la Corporación Universitaria Lasallista. El mantenimiento locativo se realiza de acuerdo con el plan de mantenimiento locativo, CL-MYC-FT-022, garantizando que las instalaciones permanezcan limpias y en orden, contribuyendo en el resultado de los ensayos realizados.

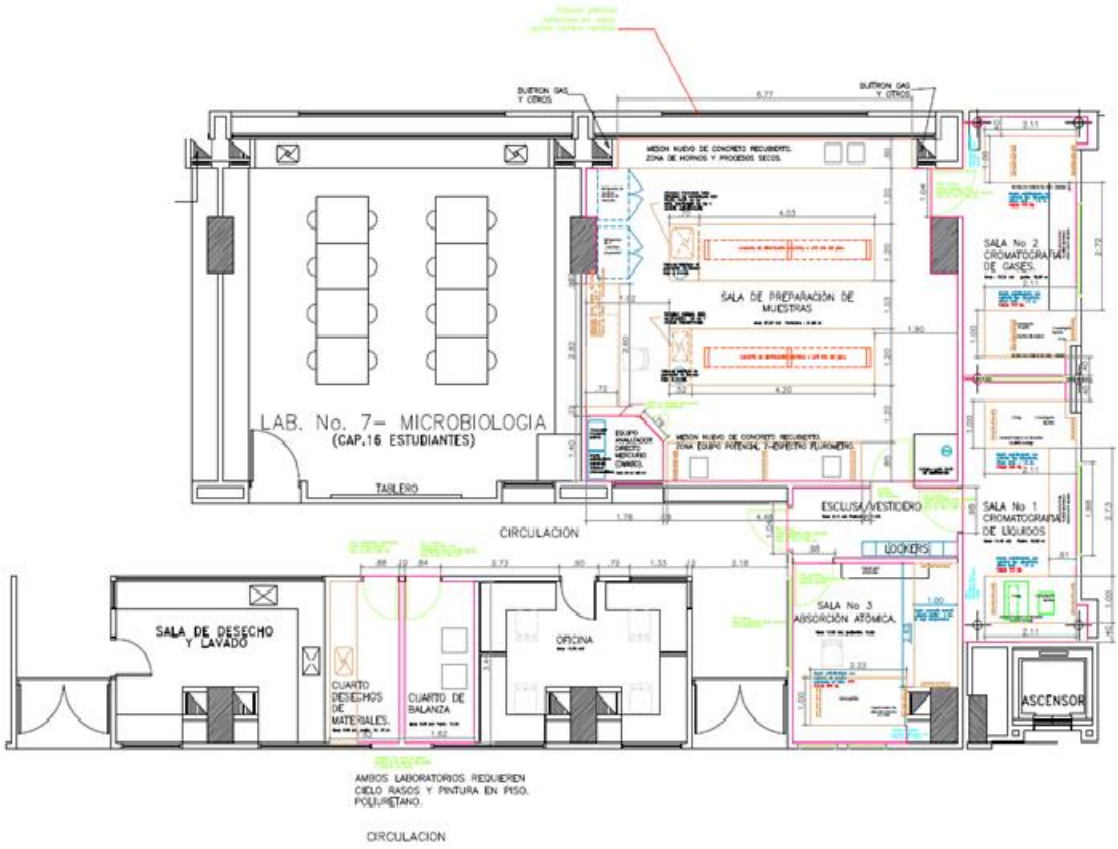

Ilustración 2. Planos del Centro de Laboratorios. Fuente: Corporación Universitaria Lasallista

Equipamiento:

Se refiere a todo instrumento de medición, software, patrones de medición, materiales de referencia, reactivos y consumibles entre otros (ISO-IEC 17025-2017, 2017).

El laboratorio está dotado y cuenta con todo el equipamiento necesario para el correcto desempeño de las actividades (Quanti-Tray, dos incubadoras: una para anaerobios y otra para aerobios, auto clave, cabina de flujo laminar, lámpara de luz ultravioleta) cuenta con los procedimientos de gestión de equipos e instrumentos en cual

se describe paso a paso como debe ser la manipulación, almacenamiento, transporte, uso y mantenimiento para asegurar el funcionamiento correcto de estos, como lo son, el procedimiento gestión de equipo e instrumentos de laboratorio, CL-NYC-003, procedimiento mantenimiento, verificación y calibración de equipos e instrumentos, CL-MYC-PD-004, Los equipos e instrumentos cuentan con una hoja de vida, CL-MYC-FT-002 . Se cuenta con un programa de calibración para aquellos equipos que lo requieren, estos están codificados con el fin de identificar fácilmente el estado de calibración, esta información se encuentra registrada en el plan de mantenimiento, verificación y calibración de equipos, CL-MYC-FT-001, el equipo de laboratorio realiza la evaluación del efecto de la falla del equipo en los ensayos anteriores y realizan las actividades de acuerdo con el procedimiento para el control de trabajos no conformes, CL-SER-PD-006. Los equipos de cómputo, software y demás equipos de medición se encuentran protegidos con claves de usuario que los protegen de ajustes que puedan invalidar los resultados. (ver anexo 1, páginas 16, 17 y 18).

Trazabilidad metrológica:

Se define como la ciencia que estudia y garantiza la calidad de las mediciones (Garcia, 2018). Dentro de la metrología, la trazabilidad es de suma importancia, se trata de la propiedad del resultado de una medición, y pueda ser relacionada con referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una respuesta ininterrumpida de comparaciones, encontrando todas las incertidumbres determinadas (Gella, 2014); teniendo conocimiento de esto, el laboratorio establece y mantiene la trazabilidad metrológica de los resultados que se encuentran registrados en

el formato carta de trazabilidad metrológica, CL-SER-FT-024, la cual se evidencia a través de los patrones de calibración, la cadena ininterrumpida de calibraciones, donde cada una de estas contribuye a la disminución de la incertidumbre de la medición, ayudando a garantizar que los resultados sean trazables, el laboratorio realiza las calibraciones de los equipos con laboratorios competentes acreditados ante la ONAC, como es el caso de los equipos utilizados en el proceso de verificación del método colilert(ver anexo 2). Para la trazabilidad metrológica se utilizan valores certificados de materiales de referencia suministrados por un proveedor que cumpla con los requisitos de la norma ISO 17034 “Requisitos generales para la competencia de los productos de materiales de referencia”, o se utilizan procedimientos de medición de referencia, los que proporcionan resultados de medición adecuados. (ver anexo 1, página 18).

Requisitos del proceso

El Laboratorio cuenta con el procedimiento de compras y evaluación de proveedores, CL-CME-PD-001, asegurando que estos sean adecuados, donde se plasma la revisión de las solicitudes de servicios externos y productos, en el momento que el Laboratorio requiera adquirir servicios de análisis por subcontratación se cuenta con el procedimiento para subcontratación de ensayos, CL-SER-PD-004, para realizar la solicitud de cotizaciones a los proveedores se hace uso del formato solicitud de cotización, CL-CME-FT-014, donde se especifican los requisitos de los productos y servicios que el laboratorio desea adquirir.

Las revisiones de solicitudes, ofertas y contratos, se implementó el procedimiento gestión comercial, CL-CME-PD-002, de manera que se asegura que los requisitos se definen, documentan y comprenden adecuadamente, se mantiene comunicación directa con los clientes o representantes para tratar cualquier anomalía antes de iniciar las actividades, si surge algún cambio después de iniciada las actividades, implica volver a revisar el contrato y se debe comunicar al personal involucrado y se registra en el formato, solicitud de análisis, CL-SER-FT-002.

se cuenta también con registros de las revisiones, cambios acerca de los resultados de las actividades de laboratorio, estos son almacenados y resguardados por el Coordinador de laboratorio.

La selección y verificación de métodos se encuentra definida en los protocolos de análisis, procedimiento para la recepción, registro, almacenamiento y manipulación de muestras, CL-SER-PD-001, procedimiento de validación y confirmación, CL-SER-PD-007, procedimiento para estimación de la incertidumbre, CL-SER-PD-008, Los métodos utilizados por el laboratorio son confirmados de acuerdo con el procedimiento de validación/verificación, CL-SER-PD-007, todos los datos y desarrollo del proceso son registrados en el informe de validación.

El laboratorio no realiza muestreo, el cliente es responsable de la muestra hasta el momento de ser entregada en las instalaciones del Laboratorio, donde es manipulada según lo estipulado en el procedimiento para recepción, registro, almacenamiento y manipulación de muestras, CL-SER-PD-001, donde se encuentra definido los

tratamientos que se le da a la muestra desde el momento de la recepción hasta la disposición final. (ver anexo 1, página 23).

Para la disposición de los registros técnicos, almacenamiento, mantenimiento, archivos, recopilación que se generan en el laboratorio se cuenta el procedimiento control de documentos y registros, CL-SGC-PD-001, la información debe ser completa para identificar aquellos factores que afecten el resultado de la medición y su incertidumbre para esta el laboratorio cuenta con el procedimiento para la estimación de la incertidumbre, CL-SER-PD-008. (ver anexo 1, página 24). Para realizar el seguimiento de la validez de los resultados de ensayo utiliza el procedimiento control analítico, CL-SER-PD-009 y las cartas de control, CL-SER-FT-020, donde se registran las tendencias.

Para evaluar el desempeño de la forma en que el laboratorio lleva a cabo sus ensayos y mediciones, se realizaron ensayos de aptitud, con la finalidad de poder realizar comparaciones y tener una valoración independiente de los datos, en este caso se realizaron microbiológicos de agua lo que nos permitió ver cómo está la cuantificación y cualificación del laboratorio respecto a otros. (ver anexo 3). Los resultados de los ensayos son revisados y autorizados por el coordinador del laboratorio, y son registrados de forma clara y exacta en el formato reporte de resultados, CL-SER-FT-010. (ver anexo 1, páginas 25, 26, 27 y 28).

El laboratorio cuenta un procedimiento de quejas, llamado procedimiento peticiones, quejas, reclamos, sugerencias y felicitaciones, CL-SER-PD-003, donde se especifica la manera de evaluar los servicios recibidos y a si mismo cuenta con el

procedimiento para el control de trabajo no conforme, CL-SER-PD-006. (ver anexo 1, páginas 28, 29 Y 30).

Los documentos que conforman el sistema de gestión de la calidad se encuentran a disposición en los archivos del Centro de Laboratorios para ser utilizados como apoyo en todas las áreas, esto se encuentra establecido el procedimiento control documentos y registros, CL-SGC-PD-001, todo esto con el fin de fortalecer las actividades realizadas en el laboratorio y contribuir al procedimiento mejora continua, CL-EST-PD-001, definir, medir, analizar, mejorar y controlar, teniendo como objetivo la eficacia del sistema de gestión implementado, mediante las políticas, resultado de las auditorias, acciones correctivas, revisión por la dirección y la opiniones negativas como positiva de los clientes, en el caso de las auditorías internas, se realizan anualmente de tal forma que cubra todas las actividades del Laboratorio, esto se encuentra especificado en el procedimiento auditorías internas, CL-SGC-PD-009 y en el programa de auditorías, CL-SGC-FT-012. (ver anexo 1, páginas 32 a la 38).

Verificación de la metodología colilert

Introducción

El método colilert Quanti-Tray es una prueba diseñada específicamente para el recuento NMP (Número Más Probable) de *E. coli* y bacterias coliformes. Está se encuentra fundamentada en la actividad enzimática de los Coliformes totales *y E. coli*, lo que la constituye en una prueba eficaz y rápida, ya que la expresión enzimática del grupo Coliformes reacciona muy selectivamente con el sustrato suministrado para dicha prueba, es por esto que el Laboratorio de Microbiología realizó la verificación de la metodología colilert en una matriz de agua cruda y una matriz de agua potable, lo que le permitió establecer la calidad microbiológica del agua, los resultados obtenidos de la verificación fueron tratados estadísticamente con el programa informático Excel, encontrando que los resultados para cada uno de los tratamientos son favorables.

Objetivo Especifico.

Verificar el método NMP de análisis de colimetría colilert para aguas crudas y potables según los requisitos del IDEAM.

Metodología

Se realizó la verificación del método NMP de análisis de colorimetría colilert en aguas crudas en el laboratorio de Microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista. Para el proceso de verificación fue preciso hacer reuniones previas con la casa comercial, distribuidora de los reactivos, para contextualizar a todo el personal responsable de la parte técnica. La tecnología de sustrato definido colilert Quanti-Tray 2000 permite el análisis de las diferentes matrices de agua, como lo define en el numeral 9223 del Standard Methods versión 23 de 2017, así como la aprobación por parte del estado Colombiano en el marco de la Resolución 2115 de 2007 que resuelve las características que tiene que tener el agua para consumo humano (MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, 2007), este proceso de verificación permite el análisis de aguas superficiales, residuales y para consumo humano; el desarrollo de la verificación se realizó contemplando todas las actividades previas a esta como lo son la limpieza y desinfección de las áreas, la calibración de los equipos involucrados, esterilización de materiales, la verificación se llevó a cabo en 6 etapas, donde fueron necesarios 2 analistas, una persona como soporte técnico que suministro la empresa donde se adquirió la tecnología de sustrato definido colilert® Quanti-Tray 2000 para la verificación del método y el líder de calidad, para este proceso se presupuestaron 5 días. Las etapas fueron ejecutadas en el siguiente orden.

Toma de muestra y siembra inicial (día 1)

Inicialmente se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio la preparación de los insumos y materiales, limpieza, desinfección, esterilización según el caso, posterior a esto se recolectaron en una fuente de agua cruda 20 L de agua en un recipiente plástico que se encuentra cerca a las Instalaciones de la Corporación estos fueron recolectados en 4 puntos diferentes, con una distancia aproximada de 5 metros con el fin de tener una muestra homogénea, la muestra se llevó al inmediatamente al laboratorio, y se almacenó durante una hora bajo condiciones de refrigeración(4 a 8°C), siguiendo los parámetros establecidos en la ISO 19458:2006 (AENOR, 2007) (Calidad del agua - Muestreo para análisis microbiológicos), posteriormente se realizaron 6 diluciones en 10mL de agua destilada estéril a partir de la muestra de agua cruda y se sembraron en una caja Petri, se le adicionó un blíster colilert y se dejó por tiempo de 12 horas con el fin de conocer la concentración inicial de microorganismos en la muestra de agua.

Cuantificación de las cepas

Para el ensayo y validación se utilizaron como control las cepas ATCC *Escherichia coli* 25922 tanto positivo y *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 negativo.

Cuando la concentración aproximada de los microorganismos fue de $1x10^8$ UFC/mL, se realizaron diluciones sucesivas en 10 frascos que contenían 90 mL de agua destilada estéril, debidamente rotulados. Estas diluciones son del orden de 10^{-1} hasta la

dilución de10^{-9}(ver ilustración 3). Se tomaron las tres últimas diluciones 10^{-5}, 10^{-6} y 10^{-7} las cuales fueron definidas como concentración alta, media y baja respectivamente.

Finalmente se toma 1 mL de cada una de las concentraciones (10^{-5}, 10^{-6} y 10^{-7}) y se inocularon en 100 mL de agua destilada estéril, teniendo en cuenta que en la técnica de sustrato definido colilert y las bandejas Quanti-Tray para el conteo en NMP, están diseñados para una capacidad de 100 mL.

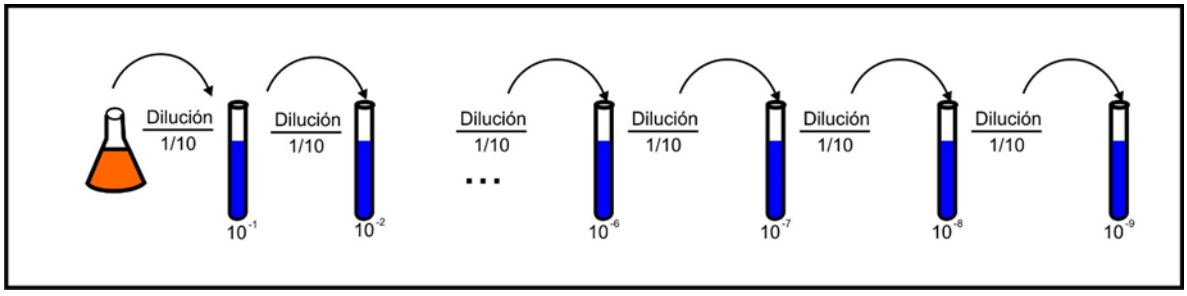

Ilustración 3. Dilución de cepas. Fuente: Aqualap

Selección de la dilución de trabajo y límites de detección (día 2)

Se efectuaron las lecturas de los resultados para determinar la presencia y la concentración de los indicadores *Coliformes totales* y *E. coli*. Se tomaron las cepas ATCC *Escherichia coli* 25922 como control positivo y *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 como control negativo. Se activaron 24 horas antes del ensayo en 20 mL de caldo nutritivo, a una temperatura de 35ºC ± 1ºC. luego, para los dos primeros indicadores se realizan 9 diluciones seriadas en frascos con 90 mL de agua destilada estéril y se tomarán 4 diluciones de las Concentración ALTA: 10^{-5}NMP/100mL Concentración MEDIA: 10^{-6} NMP/100mL Concentración BAJA: 10^{-7} NMP/100mL Límite de detección 10^{-}

^{9} NMP/100mL. De cada una de las diluciones 10^{-5}, 10^{-6} y 10^{-7} se tomó 1 mL y se inoculo en 100 mL de agua destilada estéril.

Sellado e incubación de muestra (procedimiento colilert)

En cámara de flujo laminar se midieron 100 mL de la muestra de agua cruda en una probeta estéril y se llevaron a un recipiente estéril de 250 mL, Se adicionó el contenido de un blíster colilert, se cerró el recipiente y se agito durante 30 segundos en forma circular, el contenido del recipiente se vertió en una bandeja Quanti-Tray/2000, eliminando las burbujas y se selló en el IDEXX Quanti-Tray Sealer. Las bandejas se incubaron a 35 ± 1 ºC durante 18 a 24 horas. Las lecturas se realizaron de acuerdo con lo establecido en la Norma Internacional ISO/9308-2:2012 (Enumeración de *Escherichia coli* y bacterias coliformes), las lecturas preliminares se realizaron entre las 18 y 22 horas de incubación y una lectura final entre las 24 y 28 horas.

El resultado se reportó de acuerdo con la Tabla IDEXX Quanti-Tray/2000.

- Sin coloración amarilla ni fluorescencia resultado negativo para Coliformes totales y *E. coli.*
- Amarillo igual o mayor al comparador IDEXX, Comparador Quanti-Tray/2000 N º WQT2KC -resultado positivo para Coliformes totales.
- En presencia de luz UV, Amarillo igual o mayor al comparador IDEXX y con fluorescencia azul - Resultado positivo para *E. coli.*

Repetibilidad y Reproducibilidad

Para este ensayo se necesitaron dos analistas definidos como analista A y analista B.

Tratamiento de la Muestra

Se seleccionó una dilución de la muestra de agua cruda, esta se llevó a la cámara de flujo laminar donde se midieron 100 mL en una probeta estéril y se llevó a un recipiente estéril de 250 mL más el contenido de un blíster de colilert, el recipiente se tapó y se agitó durante 30 a 40 segundos, el contenido posteriormente se vertió en una bandeja Quanti-Tray/2000, eliminando las burbujas y se selló en el IDEXX Quanti-Tray Sealer y se incubaron a 35 ± 1 ºC durante 18 a 24 horas. Este procedimiento fue replicado para todas las repeticiones de muestras de agua cruda y potable realizadas por los dos analistas. Una vez se tomaron los resultados para los analistas A y B se obtuvo 15 repeticiones por analista y 30 datos por muestra, los datos se normalizaron (Log10) \determinando la media, la varianza y la desviación estándar. Porcentaje de recuperación (día 3 y 4)

Con la finalidad de analizar la recuperación de los indicadores, se realizó un inoculo de las cepas *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* , en los tres rangos, alto: 10^{-5}NMP/100mL, medio: 10^{-6}NMP/100mL y bajo: 10^{-7}NMP/100mL, se cuantifico cada rango, con el método colilert y paralelamente la muestra de agua cruda y agua potable con la adición de los rangos conocidos, el porcentaje de recuperación se calculó para cada una de las muestras con su respectivo rango de acuerdo con promedio de las cepas estandarizadas. (ver anexo 4).

Resultados

Repetibilidad y Reproducibilidad

Debido a que en la microbiología hay mucha dispersión de los datos estos se normalizan expresándolos en Log10.

Para la determinación de coliformes totales y *E. coli* en una muestra de agua cruda y agua potable, se determinó el coeficiente de variación, la media, la variación de las variables, la desviación estándar junto con el análisis de varianza de un factor para los ensayos entre analistas A y B.

Para calcular el porcentaje de Repetibilidad y reproducibilidad (%R y r) se utilizaron las siguientes fórmulas:

$si \bar{x} > 10$ $\%Ryr = (-1 - \sigma 2) \times 100$	$si \bar{x} < 10$ $\%Ryr = (\sigma \,/\, \bar{x}) \times 100$

Los resultados estadísticos fueron trabajados con el programa informático Excel, los datos originales son presentados en el anexo 5. Se presentan a continuación los resultados del %R y r para agua cruda en las tablas: **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y agua potable en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**.

Tabla 1. Repetibilidad del ensayo realizado por el analista A

Agua cruda	Coliformes totales Log (NMP/100mL)	*E. coli* Log (NMP/100 mL)
Media	2,7234	1,9820
DS	0,0475	0,0738
C.V	1,74	3,72

Fuente: El autor.

En la determinación de Coliformes totales en agua cruda el analista A, obtuvo un 98.26% de Repetibilidad y un coeficiente de variación de 1,74 y en el caso de la determinación de *E. coli* en una muestra de agua cruda obtuvo un 96,28% y un coeficiente de variación de 3,72.

Tabla 2. Repetibilidad del ensayo realizado por el analista B

Agua potable	Coliformes totales Log (NMP/100 mL)	*E. coli* Log (NMP/100 mL)
Media	2.72217	1.9527
DS	0.0455	0.0754
C.V	1.67	3.86

Fuente: El autor.

En la determinación de Coliformes totales en agua crudas el analista B obtuvo un 98,33 % de Repetibilidad y un 96.14 para la determinación de *E. coli* con el método colilert en una muestra de agua cruda.

Reproducibilidad intermedia

Los resultados de la reproducibilidad intermedia de los analistas A y B se evidencian en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**.(ver anexo 5).

Tabla 3. Reproducibilidad intermedia del analista A y B

Agua cruda	Coliformes totales Log (NMP/100 mL)	*E. coli* Log (NMP/100 mL)
Media	2.7227	1.96735
DS	0.0465	0.0746
C.V	1.705	3.79

Fuente: El autor.

Los analistas obtuvieron como resultado en el ensayo realizado un 96.21% de confianza para la determinación *de E. coli* y un 98.30% de confianza para la determinación de coliformes totales.

Luego se realizó el análisis de varianza, ver tablas: **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** de un factor para el recuento (NMP/100 mL) de E. coli y coliformes totales, ver tablas: Anova Coliformes Totales

y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**.

Reproducibilidad *E. coli* y Coliformes totales

Los resultados estadísticos fueron trabajados con el programa informático Excel, los datos originales son presentados en el anexo 5. Los datos a continuación son los resultados del análisis estadístico.

Anova *E. coli*

Tabla 4. Análisis de varianza de un factor (resumen)

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista A	15	29,729658	1.981977	0.005447
Analista B	15	29,289871	1,9526581	0.005686

Fuente: El autor.

Tabla 5. Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1	0.0064	0.00640	1,15806	0.2910	4.1959
Dentro de los grupos	28	0.01558	0.00556			
Total	29	0.16232				

Fuente: El autor.

Anova Coliformes Totales

Tabla 6. Análisis de varianza de un factor (resumen)

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista A	15	40.8505	2.7233	0.0022
Analista B	15	40.8259	2,7217	0.0020

Fuente: El autor.

Tabla 7. Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1	2.0094	2,0094	0.0092	0.9239	4.1959
Dentro de los grupos	28	0.0605	0.0021			
Total	29	0,0605				

Fuente: El autor.

El análisis de varianza de un factor para cada uno de los analistas arrojó como resultado un F menor que el F critico evidenciando que se acepta la igualdad de medias, lo que quiere decir que no existe diferencia significativa entre las medidas tomadas por el analista A y el analista B.

Cuantificación de las cepas de trabajo

Las diluciones altas, media, baja y límite de detección para ATCC *Escherichia coli* 25922 y *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705, representados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**.

Tabla 8. Límite de detección para Escherichia coli 25922 y Klebsiella pneumoniae BAA-1705

DILUCIÓN	Coliformes totales (NMP/100 mL)	*E. coli* (NMP/100 mL)
10-5	1353.8	989.4
10-6	629.4	588.3
10-7	16.1	135.6
10-9	1	<1

Fuente: El autor.

Límite de detección

Se define como la mínima cantidad de analito que puede ser detectado (Aguirre ortega leticia, 2001) en las tablas **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** presentamos el resultado de los límites de detección de *Escherichia coli* 25922 y *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705.

Tabla 9. Límite de detección para Escherichia coli 25922

DILUCIÓN	*E. coli* (NMP/100 mL)	*E. coli* Log (NMP/100 mL)
10-5	989.4	2.1
10-6	588.3	2.8
10-7	135.6	3.0
10-9	<1	1
10-9	1	<1

Fuente: El autor.

Tabla 10. Límite de detección para Klebsiella pneumoniae BAA-1705

DILUCIÓN	Coliformes totales (NMP/100 mL)	Coliformes totales log (NMP/100 mL)
10-5	1353.8	1.2
10-6	629.4	2.8
10-7	16.1	3.1
10-9	<1	1

Fuente: El autor.

"La probabilidad de detectar la presencia del compuesto es igual al 95%, donde p(+)= 0.95%"(ICONTEC, 2003), basados en esto decimos que el límite de detección del método colilert para *Escherichia coli* 25922 en las diluciones 10^{-5}, 10^{-6}, y 10^{-7} es del 95% igualmente para *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 sin embargo, en las diluciones 10^{-9} es menor al 95%.

Porcentaje de recuperación

Los resultados estadísticos fueron trabajados con el programa informático Excel, los datos originales son presentados en el anexo 6.

Se obtuvieron los porcentajes de recuperación para coliformes totales y *Escherichia coli*, que se realizaron utilizando las cepas *Escherichia coli* 25922 y *Klebsiella pneumoniae BAA*-1705, esto se realizó para cada una de las concentraciones alta(10^{-5}), media(10^{-6},) y baja(10^{-7}), para una matriz de agua cruda y una de agua potable, los resultados se evidencian en las siguientes tablas: **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**.

Tabla 11. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua cruda, utilizando la cepa Escherichia coli 25922

Dilución	Media Log (NMP/100)	DS	CV%	% R
10-5	3.07	0.0396	1.29	98.71
10-6	2,85	0.0637	2.23	97.77
10-7	2.35	0.0964	4.1	95.9

Fuente: El autor.

Tabla 12. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua potable, utilizando la cepa Escherichia coli 25922

Dilución	Media Log (NMP/100)	DS	CV%	% R
10-5	2.94	0.0525	1.78	98.22
10-6	2.69	0.0629	2.33	97.67

Dilución	Media Log (NMP/100)	DS	CV%	% R
10-7	2.08	0.0494	2.37	97.63

Fuente: El autor.

Tabla 13. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua cruda, utilizando la cepa Klebsiella pneumoniae BAA-1705

Dilución	Media Log (NMP/100)	DS	CV%	% R
10-5	3.2	0.05	1.7	96.8
10-6	3.05	0.05	1.6	98.4
10-7	2.7	0.06	2.48	97.5

Fuente: El autor.

Tabla 14. Estadísticas del porcentaje de recuperación para coliformes totales en una matriz de agua potable, utilizando la cepa Klebsiella pneumoniae BAA-1705

Dilución	Media Log (NMP/100)	DS	CV%	% R
10-5	3.09	0.045	1.48	98.52
10-6	2.74	0.04	1.54	98.46
10-7	1,18	0.11	9.32	90.32

Fuente: El autor.

Los resultados fueron examinados bajo los criterios de aceptación estipulados en el *Standard Methods for the examination of Water and wastewater* 9223, la Norma

ISO/9308-2:2012 y la Guía para la orientación acerca de la validación de los métodos de análisis Microbiológicos (GTC 84).

El análisis de los resultados obtenidos en del proceso de verificación se expresa en el siguiente aparte.

Repetibilidad

El criterio de aceptación para coliformes totales y *E. coli* del coeficiente de variación debe ser con un porcentaje menor al 20 %(EW Rice, RB Baird, AD Eaton, LS Clesceri, 2017), la verificación secundaria realizada en el Laboratorio de Microbiología se estimó un CV menor al 2% para coliformes totales, y un CV menor al 4 %para *E. coli*, lo que significa que está dentro del criterio de aceptación.

Límite de detección

El método colilert cuenta con un límite de detección para *Escherichia coli* 25922 de 3 NMP/ mL se presenta en la dilución 10^{-7} y para *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 es de 3.1 NMP/mL en las diluciones 10^{-7}.

Reproducibilidad intermedia

Según lo estipulado en la *International Standards Organización*, ISO., NORMA ISO/9308-2, 2012, donde se estable un criterio de aceptación para coliformes totales y *E. coli* de un coeficiente de variación menor al 20 %, y la verificación secundaria

realizada en el Laboratorio de Microbiología evidencio un CV menor al 4 % para los dos componentes, encontrándose dentro del criterio de aceptación.

Exactitud

Para esta variable se necesita que el método tenga un porcentaje de recuperación entre el 80 y el 120 por ciento tanto para coliformes totales como para *E. coli* (EW Rice, RB Baird, AD Eaton, LS Clesceri, 2017). Para nuestro caso, en la verificación del método realizada en el Laboratorio de Microbiología, se obtuvo porcentajes de recuperación en la matriz de agua cruda para *E. coli* del 97.46 % en promedio para los tres rangos y 97.84% en la matriz de agua potable para *E. coli, para Klebsiella pneumoniae* en la matriz de agua cruda se obtuvo un porcentaje de recuperación de 97.56 % en promedio para los tres rangos y un 95.76% para la matriz de agua potable para Klebsiella, se demuestra la exactitud del método, ya que los porcentajes de recuperación estuvieron entre el rango establecido.

Elaborar un instructivo de análisis de colimetría para aguas por el método colilert.

Introducción

La metodología colilert es una técnica destinada a determinar Ausencia / Presencia y/o NMP para microorganismos Coliformes Totales y *Escherichia coli* en agua de consumo, en agua potable tratada envasada etc. (IDEXX, 2018). El laboratorio de Microbiología dentro de su documentación cuenta con un instructivo desarrollado para realizar la determinación de coliformes totales y *E. coli* mediante la técnica de sustrato definido colilert por el método de número más probable.

Objetivo Especifico

Elaborar un instructivo de análisis de colimetría para aguas por el método colilert.

Metodología

Este instructivo fue elaborado teniendo en cuenta los pasos realizados en el Laboratorio de Microbiología durante el proceso de verificación de la metodología colilert para aguas. Ver anexo 7.

Discusión

El sistema de gestión de la calidad es una herramienta que ayuda a aumentar la confiabilidad en los servicios que se brindan, facilitando el control sobre las actividades que se realizan dentro del Laboratorio. Estas dinámicas promueven la generación registros de todos los procesos desarrollados, permitiendo de esta manera hacer un seguimiento y análisis de los posibles problemas que se puedan presentar durante la ejecución de las actividades, y poder hablar de datos reales, de tal forma que se tomen las acciones preventivas o correctivas que contribuyan a la consecución de los objetivos y metas ligadas al direccionamiento estratégico del sistema de gestión de la calidad.

En el proceso de verificación de la metodología sustrato definido colilert, para la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli (E. coli),* método NMP para aguas crudas y potables se evaluaron atributos como la repetibilidad, reproducibilidad, límite de detección y exactitud.

Al evaluar la Repetibilidad en los análisis realizados por los dos analistas (A y B) se encontró un CV menor al 2 % para coliformes totales, y un CV menor al 4 % para *E. coli*, donde el criterio de aceptación del coeficiente de variación para coliformes totales y *E. coli* del debe ser un porcentaje menor al 20 % (International Standards Organization,

2014), lo que significa que los valores obtenidos se encuentran dentro del criterio de aceptación.

La Reproducibilidad en los ensayos tanto para *E. coli* como para coliformes totales evaluada cada uno de los analistas presentó una varianza de 0.005447 para el analista A y 0.005686 para el analista B cuando se evaluó *E. coli* y de 0.0022 para el analista A y 0.0020 para el analista B cuando se evaluó Coliformes totales demostrando un $P<0.05$, por tanto, no hay diferencia significativa entre los resultados (Y & P, 2010), demostrando que el método verificado es altamente reproducible.

El Límite de Detección del método Colilert para *Escherichia coli* 25922 en las diluciones 10^{-5}, 10^{-6}, y 10^{-7} es del 95% igualmente para *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705 sin embargo, en las diluciones 10^{-9} es menor al 95%, La probabilidad de detectar la presencia del compuesto es igual al 95%, donde p (+) = 0.95%, lo cual ratifica que los valores se encuentran entre los rangos establecidos.

Para la variable de Exactitud se obtuvo porcentajes de recuperación para *E. coli* en promedio en agua cruda del 97.46 % para los tres rangos y 97.84% en agua potable*, para Klebsiella pneumoniae* en agua cruda se obtuvo un porcentaje de recuperación de 97.56 % en promedio para los tres rangos y un 95.76% para la matriz de agua potable, de acuerdo a los valores de referencia (American Public Health Association, 2012) los % porcentaje de recuperación entre el 80 y el 120 por ciento, lo que demuestra la Exactitud del método ya que los porcentajes de recuperación se encuentran dentro del rango establecido.

Los resultados encontrados en esta verificación son muy similares a la bibliografía y confirma que los valores obtenidos guardan concordancia con los de otros autores, (Arboleda, Arismedi , Sepulveda , Rodriguez, & Betancur, 2016) donde evidencia que la repetibilidad de la metodología para Coliformes totales obtuvo un coeficiente de variación 6% y un coeficiente de variación para *E. coli* de 7%, una precisión intermedia con un CV<6% y un porcentaje de recuperación entre el 80 y 120%, Datos que al ser comparados con la verificación realizada en para la metodología colilert en el Laboratorio guardan mucha similitud, ya que se obtuvo una reproducibilidad intermedia con un CV<4% y una repetibilidad para coliformes totales en agua cruda con un coeficiente de variación de 1.74% y un coeficiente de variación para *E. Coli* de 3,72, cumpliendo con lo estipulado en la International Standards Organización, ISO., NORMA ISO/9308-2, 2012 Calidad del agua. Recuento de *Escherichia coli* y bacterias coliformes, lo que demuestra que el método verificado es preciso y repetible.

Conclusión

Se crearon y se identificaron los documentos pertinentes para el sistema de gestión de la calidad del laboratorio a la luz de la norma NTC ISO/IEC 17025:2017.

El sistema de gestión de la calidad elaborado se encuentra implementado, donde todas las actividades del laboratorio son realizadas teniendo en cuenta los procedimientos, protocolos, instructivos, planes, formatos y manuales estipulados en este.

Los resultados de la verificación de la metodología sustrato definido- colilert (NMP/100mL), demostraron que es reproducible para la determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en la matriz de agua cruda.

Los parámetros de repetibilidad, límite de detección, reproducibilidad intermedia y exactitud, evaluados durante verificación, dieron como resultados, valores que cumplen con lo establecido en el standard Methods for the examination of Water and wastewater 9223 y la Norma ISO/9308-2:2012 y la Guía para la orientación acerca de la validación de los métodos de análisis Microbiológicos (GTC 84). La metodología colilert es precisa y exacta, rápida al momento de ser implementada, además de una técnicas eficaz y eficiente para analizar matrices de aguas potables y crudas.

Anexos

Anexo 1: Manual de gestión de la calidad.

Anexo 2: Certificados de calibración de equipos

Anexo 3: Ensayos de aptitud.

Anexo 4: Datos originales de estandarización de cepas *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli.*

Anexo 5: Datos originales repetibilidad y Reproducibilidad para agua cruda – *coliformes totales y E. coli*.

Anexo 6: Datos originales porcentajes de recuperación para *coliformes totales* y *Escherichia coli*, que se realizaron utilizando las cepas *Escherichia coli* 25922 y *Klebsiella pneumoniae.*

Anexo 7: Instructivo de análisis de colimetría para aguas por la metodología colilert

Referencias

AENOR. (2007). *Calidad de agua , muestreo para el analisis microbiologico.* España: AENOR.

American Public Health Association. (2012). *Standard methods for the examination of water and 9223, Enzyme Substrate Coliform Test,Vol 2, 22.* Washington DC.

Anderson, r. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales. *Unodc*, 76.

Arboleda, C., Arismedi , L., Sepulveda , M., Rodriguez, M., & Betancur, J. (2016). Verificaciòn de la metodologia colilert para la determinacion y cuantificacion de coliformes totales y escherichia coli en una matriz de agua natural . *Revista politecnica*, 8.

Asociados, M. y. (s.f.). Linealidad.

Barrantes, K., & Achi, R. (2011). Calidad microbiológica y análisis de patógenos (Shigella y Salmonella) en lechuga. *Revista de la sociedad Venezolana de Microbiologia*.

Branbila, E. (2009). Validación y Verificación de Sistemas de Medición en el Laboratorio Clínico. *Centro Nacional de Metrologia*, 22.

Camaro, M. I., & Martinez, R. (2015). Validation and verfication of microbiology methods. *Enfermedades infeccionsas Y microbiologicas clinica*, 5.

Castillo, O. J. (2009). Estadistica modulo 1. En O. J. Castillo, *Estadistica aplicada .*

Chao, W. (2006). Evaluation of Colilert-18 for the detection of coliforms and Escherichia coli in tropical fresh water. *Letters in Applied Microbiology*, 5.

Colombia, C. d. (1994). Decreto 2372. 23.

Evans, J., & Lindsay, W. (2012). The Managemet and Control of Quality. En J. Evans, & W. Lindsay, *The Managemet and Control of Quality* (pág. 579). St. Paul New York Los Angeles San Francisco: WEST PUBLISHING COMPANY.

Garcia, E. (2018). *Propuesta plan de mejoramiento del laboratorio de metrología de Audifarma en el marco de los requisitos técnicos de la nueva versión de la norma NTC-ISO/IEC 17025.*

Gella, J. (2014). *Trazabilidad e Incertidumbre de la Medición.* Barcelona-España.

Gonzales, R. (23 de 05 de 2012). *PDCAHOME*. Obtenido de Diferencia entre certificaciòn y acreditaciòn: https://www.pdcahome.com/642/diferencias-certificacion-y-acreditacion/

Gradzien, L., & Hamrol, A. (2016). Calidad de la información en la documentación del proceso de diseño de los sistemas de gestión de calidad. *Revista Internacional de Gestion de la Informacion*, 7.

Gutierez, J. C. (2012). La variaciòn y su significado. *Revista Universidad Eafit ediciòn 101*, 10.

Guzman, M. A. (2006). *Material de referencia y comparaciones.* GENMA.

ICONTEC. (06 de 12 de 2017). NTC-ISO/IEC 17025-2017. BOGOTA.

IDEXX. (11 de 2018). *Colilert - 18*. Obtenido de https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/colilert-18/

International Standards Organization. (17 de 07 de 2014). Calidad del Agua- Enumeración de Escherichia coli y bacterias Coliformes- Parte 2: Método del número mas probable. *NORMA ISO/9308-2*.

ISO. (30 de 12 de 2014). *Blog calidad ISO*. Obtenido de http://blogdecalidadiso.es/historia-de-la-iso/

Lasallista, C. U. (12 de 2013). Manual de politicas de tratamiento de informaciòn y protecciòn de los datos en la Corporacion Universitaria Lasallista. Caldas, Antioquia, Colombia.

Metas y Metrologos Asociados. (01 de 2008). *Metas.com.mx.* Obtenido de http://www.metas.com.mx/guiametas/La-Guia-MetAs-08-01-linealidad.pdf

MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. (22 de 06 de 2007). Resolucion numero 2115. Bogotá, D. C, Cundinamarca, Colombia.

OMS. (2016). Sistema de gestiòn de la calidad en el laboratorio. *Organizacion mundial de la salud*, 250.

Pedrosa, N., & Slotboom, J. (2017). Gestion de calidad MRS de protones in vivo. *Bioquimica analitica*, 18.

Rico, J., & Merchan, Y. (2010). Validación de un método de determinación del polisacárido B residual en vesículas de membrana externa de Neisseria meningitidis. *Scielo analytics*, 5.

Rodriguez, G. (2001). Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. *Revista costarricense de ciencias medicas*.

Universidad Catolica de honduras. (11 de 11 de 2018). *Calidad total*. Obtenido de https://www.docsity.com/es/calidad-total-normas-iso/4270322/

Vinuesa, P. (14 de 10 de 2016). *CCG,UNAM.* Obtenido de https://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/R4biosciences/docs/Tema8_correlacion.pdf

Westgard, J. O. (2015). *Practicas basicas de control de calidad.* Madison: QC Westgard, inc.

Wolk, D. (2017). Statistics for Method Verification of Qualitative Assays in Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Newsletter*, 9.

Y, P., & P, M. (2010). La repetibilidad y reproducibilidad en el aseguramiento de la calidad de los procesos de medición. *TecnologÍa Quimica*, 6.