

EJERCICIOS INTERLABORATORIOS DE ESTANDARIZACIÓN DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS APLICADOS AL CONTROL DE LOS FANGOS ACTIVOS.

E. Rodríguez ^{1/2} y N. Fernández ^{1/3}

¹ Grupo Bioindicación Sevilla (GBS. gbs@asociaciongbs.com); ² UTE EDAR TABLADA, ² EDAR COPERO

Los laboratorios de análisis, trabajan con métodos estandarizados, que les permiten obtener resultados repetitivos del analito a medir, de forma que se pueda definir la capacidad óptima de medida, entendida ésta como la incertidumbre de medida más pequeña que un laboratorio puede conseguir (ENAC, 1998). Dentro de los procedimientos de calidad de un laboratorio, está por una parte valorar la repetitividad interna y por otra contrastar sus resultados con otros laboratorio. La forma de evaluar este último requerimiento es participando en ejercicios de intercomparación.

Organismos de acreditación y certificación, tanto en el ámbito nacional como internacional, recomiendan la participación en este tipo de ejercicios interlaboratorios, ya que constituyen un medio independiente por el cual se puede evaluar objetivamente y demostrar la fiabilidad y precisión de los datos obtenidos (Pullés *et al.*, 2006, ENAC, 2008).

La participación rutinaria en estos ejercicios de intercomparación permite a los participantes obtener un control de calidad externo, muy valorado por los auditores, reevaluar sus propios métodos, testándolos con otras entidades, optimizar resultados y conocer el rango de incertidumbre, sensibilidad, exactitud, precisión... externas, tanto de la técnica como del operador al compararlo con resultados de otros laboratorios. Los laboratorios que no tienen una referencia externa, pueden trabajar durante largos periodos con sesgos importantes, sin percatarse de este problema. (ENAC, 2008)

La posición de valoración para cada participante, en un ejercicio interlaboratorio, genera confianza y fiabilidad de los resultados frente a clientes internos y externos de la entidad que participa, constituyendo un importante elemento de ayuda a la mejora de la calidad del participante.

Entre de las distintas determinaciones analíticas, los parámetros biológicos son aquellos que presentan mayor dispersión de resultados tanto en las intercomparativas internas, como externas. Hay que tener en cuenta que el componente microbiano puede ser sensibles a factores tales como temperatura, almacenamiento y transporte (Pullés *et al.*, 2006), que alteren el resultado final. Dentro de ellas, los análisis microbiológicos de fangos activos, generan una alta problemática de comparación.

Por una parte, no existe un procedimiento de evaluación estandarizado, como es el caso de otras técnicas analíticas y por otra, la complejidad de trabajar con organismos, en algunos casos de identificación compleja, puede generar alta disparidad de resultados.

En ese sentido, uno de los objetivos principales de GBS se enfoca a la “estandarización” de los análisis microbiológicos en el fango activo, es decir, a la unificación de criterios a la hora de observar y evaluar una muestra de este tipo, mediante la organización de ejercicios de intercomparación entre laboratorios abiertos a todos los profesionales del sector interesados en iniciarse o profundizar en este tipo de análisis. Dichos ejercicios pueden ser calificados tanto como ensayos de aptitud (asesoramiento externo de la competencia de la técnica de cada participante, Sagrado, S. *et al.*, 2005), como ensayos colaborativos (Permiten ajustar un método de referencia en el campo de la microbiología, Sagrado, S. *et al.*, 2005).

La organización de los ejercicios interlaboratorios de fangos activos, con participación de empresas externas a GBS, se lleva realizando desde 2004 y ha permitido contrastar técnicas analíticas, optimizar los protocolos de trabajo y estudiar los comportamientos de los distintos índices bióticos para muestras muy diversas y formar a profesionales altamente cualificados en estas determinaciones (Isac, *et al.*, 2004, 2005, 2006 y 2007; Rodríguez *et al.*, 2008).

ESQUEMA DE ORGANIZACIÓN DE UN EJERCICIO INTERLABORATORIO (G-ENAC-14, 2008)

1. Divulgación del ejercicio de intercomparación (analítica y calendario).
 - Descripción de la planificación del trabajo
 - N° de rondas
 - Rango de trabajo
 - N° de participantes previstos
2. Recepción de solicitudes de participación.
3. Selección de la muestra a analizar. Envío de la muestra y documentación.
 - Tipo de muestra y estabilidad
 - Materiales y transporte
 - Instrucciones de trabajo
4. Recepción de boletines de datos. Análisis de resultados.
 - Estadística utilizada
 - Método de evaluación de los participantes
5. Envío de informe de resultados a los participantes.
6. Reunión final.

DIVULGACIÓN DEL EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN (ANALÍTICA Y CALENDARIO).

Descripción de la planificación del trabajo	Convocatoria anual
Nº de rondas	<p>Dos, generalmente en los meses de Febrero y Mayo</p> <p>El calendario de los ejercicios se comunica con antelación al ejercicio, para que cada participante contraste las fechas con posibles fiestas locales y disponibilidad de su personal en la fecha.</p> <p>Una vez cerradas las fechas, se notifica a cada participante la programación, mediante circular informativa en la que se incluye: dirección de recogida de la muestra, material solicitado, persona de contacto y fechas importantes (fecha recomendada de envío de los materiales solicitados con modalidad retorno/Fecha de envío de la muestra/Fecha de recepción de la muestra por el participante/Fecha de análisis/Protocolo de conservación de muestras si se recibe con anterioridad a la fecha especificada para realizar el análisis (Rodríguez <i>et al.</i> 2004 y 2005)/ Fecha de envío de resultados).</p>
Rango de trabajo	Valoración del IF (Jiménez <i>et al.</i> (2001), Rodríguez <i>et al.</i> 2004)/ Valoración de las bacterias filamentosas (Jenkins <i>et al.</i> (1996, 2004) y Eikelboom (1983, 2006).)/ Valoración de la comunidad protozoaria (Madoni, 1994 y Margalef, 1981)/ Valoración general de la calidad del fango. Los parámetros contrastados en cada ejercicio recogen la mayoría de los matices necesarios en la caracterización del fango.
Nº de participantes previstos	<p>El máximo de participantes admitidos en cada convocatoria es de 30, debido a la alta complejidad generada, al tratar los datos.</p> <p>Para asegurar la confidencialidad, cada participante recibe un código en la entrega de la primera muestra, que tiene carácter permanente a lo largo de todo el circuito de ejercicios interlaboratorio del año y será imprescindible para la identificación de los resultados de cada laboratorio. No se incluirán los resultados que no posean dicho código. No se facilitará información del resto de laboratorios que no sean el propio.</p> <p>De los participantes de la convocatoria 2009, el 75 % han sido empresas municipales de aguas y el 25 % son empresas privadas de aguas. (Figura 1)</p>

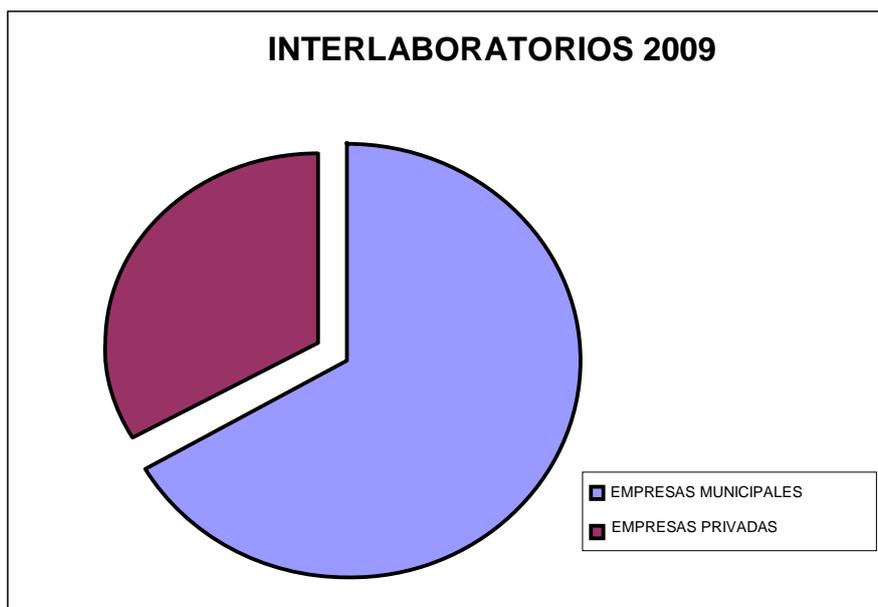


Figura 1: Reparto porcentual entre los participantes del ejercicio interlaboratorio 2009, para empresas municipales y privadas de aguas.

RECEPCIÓN DE SOLICITUDES DE PARTICIPACIÓN.

La participación en estos interlaboratorios es posible mediante convenio GBS-Empresa, sin ser necesario un determinado nivel de experiencia previo.

El participante deberá disponer en sus instalaciones de un microscopio con objetivos de 10X, 40X y 100X así como del material para su uso (portaobjetos, cubreobjetos), probeta de 100/1000 mL, cámara de Fuchs-Rosenthal, reactivos y material necesario para las tinciones Neisser, Gram, test de azufre y PHB.

Las inscripciones se realizan de forma previa a la realización del primer ejercicio interlaboratorios, previsto generalmente para el mes de febrero.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR. ENVÍO DE LA MUESTRA Y DOCUMENTACIÓN.

<p>Tipo de muestra</p>	<p>En cada ronda se analiza una muestra urbana completa y una muestra industrial a la que solo se le determina bacterias filamentosas.</p> <p>En fechas próximas al envío de la muestra, GBS realiza un estudio previo de las muestras de los reactores biológicos, de varias depuradoras de aguas residuales urbanas o con poco aporte industrial, seleccionando aquella más estable y con mayor interés para la intercomparativa.</p> <p>En todo momento se salvaguarda el anonimato del origen de la muestra.</p> <p>La muestra se toma del licor mezcla justo a la salida del reactor biológico, previo a la decantación secundaria depuradora, en el momento de mayor homogenización, con un volumen en torno a 30 litros.</p> <p>La muestra se traslada directamente a las instalaciones de GBS, se homogeneiza y se divide en tantas alícuotas de 1,5 L en frasco de plástico de 2 L de cierre hermético, como participantes haya.</p> <p>Todas las alícuotas dispondrán de aproximadamente un tercio de la capacidad del frasco cámara de aire para evitar la anoxia durante el transporte.</p> <p>En paralelo se selecciona una muestra industrial, de manera similar a lo anteriormente comentado.</p>
<p>Transporte y estabilidad de la muestra.</p>	<p>Cada participante envía a la dirección de recogida, un mensajero con una nevera, donde se incluirá el bote continente de la muestra, unas placas refrigerantes y material de relleno de la muestra para evitar movimientos bruscos.</p> <p>Personal de GBS recibirá al mensajero, incluirá la muestra urbana e industrial, las hojas de trabajo a rellenar y en el caso de la primera entrega, se adjuntará documentación que indique el código de participante.</p> <p>Es importante contar con un servicio de mensajería que garantice la entrega en destino, como muy tarde, al siguiente día de la toma de muestra, para evitar alteraciones en la misma.</p> <p>El bote irá etiquetado con el código de participante, el número del ejercicio y la fecha de envasado.</p> <p>Previo a la distribución de muestras, se realiza un estudio biológico de la muestra, que se compara, posteriormente con los valores obtenidos el día fijado para hacer el análisis por todos los participantes. De esta manera se comprueba la estabilidad de la muestra y su posible efecto sobre los resultados finales.</p>
<p>Instrucciones de trabajo</p>	<p>Se aporta protocolo validado por GBS desde 2004, como referencia de la metodología de análisis a seguir, donde se describe el procedimiento para cada uno de los apartados, así como la preparación de reactivos y uso de materiales necesarios para rellenar los formatos.</p> <p>El protocolo de análisis se actualiza continuamente. Es muy detallado y completo, constituyendo el pilar básico para iniciarse y profundizar en el estudio de análisis de fangos activos</p> <p>A cada participante se le hace entrega de un archivo en Excel, donde rellenará los datos obtenidos, que le permitirá obtener los cálculos automáticamente (Figura 2).</p>

EVALUACIÓN DE LA MICROFAUNA fecha: Código de muestra:

GRUPO	SPP	OBS.	1ºcont	2ºcont	ind/mL	ind/L	% ind/L	% GRUPO FUNC.
Flagelados grandes	Amebas							
	con testa (***)							
C	Carnívoro nad	<i>Litonotus</i>						
		<i>Amphileptus</i>						
		<i>Coleps</i>						
		<i>Sphatidium</i>						
		<i>Hemiophrys</i>						
	Carnívoro suctor	otros						
		<i>Acineta</i>						
		<i>Podophrya</i>						
		<i>Tokophrya</i>						
		otros						
% TOTAL DE CARNÍVOROS								#¡VALOR!
I	Bacter nadador	<i>Colpoda</i>						
		<i>Uronema</i>						
		<i>Tetrahymena</i>						
		<i>Paramecium</i>						
L	Bacter nadador	<i>Colpidium</i>						
		<i>Glaucoma</i>						
		otros						
A	Bacter reptante	<i>Aspidisca</i>						
		<i>Acinertia</i>						
		<i>Euplores</i>						
		<i>Oxtrichia</i>						
		otros						
S	Bacter sésil	<i>Opercularia</i>						
		<i>Epistylis</i>						
		<i>Zoothamnium</i>						
		<i>Carchesium</i>						
		<i>V. convallari</i> complejo						
		<i>V. aquadul.</i> complejo						
		<i>V. campanula</i>						
		otros						
		<i>V. microstom</i> complejo						
		<i>V. infusorium</i> complejo						
MICROMETAZOOS (***)	Rotíferos							
	Gastrotrícos							
	Nematodos							
	Anélidos							
ÍNDICE DE MADONI		Nº total sp			Densidad (Nº ind/L)			
SBI:			bacter: bacterívoro		ÍNDICE SHANON (bit)			
CLASE:								

GRUPO DOMINANTE:
 En este orden : Peq.flag**//Cil.nad.bact.// V. microstoma//Opercularia spp//
 //Cil. Sésiles (>80%)//Cil rept+Cil sésil+testáceas.
 ** >100 en diagonal completa de cámara Fuchs-Rosenthal
 NOTA1 : No se consideran para el Nº total de individuos
 NOTA 2: Si existen organismos distintos a los que aparecen en la tabla; sustituirlos en el listado.

* RECUENTO DE PEQ FLAG	
Si f<10, peq. flag/ml <50000	
Si f>10, peq. flag/ml >50000	

Nivel de pequeños flagelados:

(Cámara F-R)

VALOR NUM	ABUNDANCIA
0	POCOS
1	MEDIO
2	MUCHOS

Nivel de amebas desnudas:

Nivel de Telotrocos:

ORGANISMOS NO INCLUIDOS EN EL SBI; A CONTABILIZAR PARA H: (***)			
ORGANISMOS	ESPECIE	IND/L	DENSIDAD
Heliozoos			
Amebas testáceas			
Rotíferos			

(En el caso de rellenar estas columnas es necesario rehacer los cálculos de H)

Figura 2: Hoja de Excel que realiza los cálculos de densidades y porcentajes de protistas de forma automática.

RECEPCIÓN DE BOLETINES DE DATOS. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

En un plazo máximo fijado a partir de la fecha límite de entrega de resultados (suele ser 15 días hábiles), se envía a cada participante una tabla recopilatoria de los resultados de todos los participantes, junto con todos los indicadores valorados, tal como puede apreciarse en la figura 3.

PARTICIPANTE	1	2	3	4	...	21	22
MACROSCOPIA	30	21	30	25,5		21	30
MICROSCOPIA	43	36	40	34		47	31
INDICE DE FANGOS	73	57	70	59,5		68	61
CATEGORIA DE FILAMENTOS	5	5	5	5		5	4
FILAMENTO DOMINANTE	M. PARVICELLA	M. PARVICELLA	N. LIMICOLA	THIOTHRIX SP		M. parvicella	M. PARVICELLA
FILAMENTO SECUNDARIO	T1701	T1701/h. HYDROSSIS	M. PARVICELLA				H.HYDROSSIS
EFFECTO FLOCCULO	DISGREGACIÓN FLOCCULAR	DISGREGACIÓN FLOCCULAR	ESPONJAMIENTO MODERADO	DISGREGACIÓN FLOCCULAR			
OTROS FILAMENTOS	H. HYDROSSIS, N. LIMICOLA, T1702 Y T 0092	N.LIMICOLA, Y T1851	T0211	T0914			GALO, 1701, T021N, T0041, N. LIMICOLA
NUMERO DE INTERCECCIONES	7,63	7,03		19,47			5,75
m/ml FILAMENTOS	191,67	176,72		489,16			144,47
DENSIDAD (org/l)	4×10^6	$4,22 \times 10^6$	10×10^7	$4,34 \times 10^6$		$3,94 \times 10^6$	$3,04 \times 10^6$
INDICE DE SHANON	2,71	2,48	2,03	2,53			3,22
INDICE DE MADONI	8	8	8	6		9	9
CLASE MADONI	I	I	I	II		I	I
NUMERO DE ESPECIES	10	9	10	10		11	13
GRUPO DOMINANTE	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles	Bact. Sésiles		Bact. Sésiles	Bact. Sésiles

Figura 3: Tabla recopilatoria general de los datos aportados por los 22 participantes de la primera convocatoria de 2009 (Se han eliminado los registros desde el participante 5 al 20)

Con los resultados de los laboratorios se procede al tratamiento técnico y estadístico de los mismos. En cada ejercicio y para cada parámetro se calcula la media y la incertidumbre (parámetro asociado a la medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden atribuirse razonablemente al mesurando (ENAC, 1998)), de cada uno de los índices de bio calidad implicados.

Dada la dispersión natural de los datos biológicos, y más aún de este tipo de análisis que no presentan capacidad de contraste con un patrón, se ha seleccionado para realizar la invalidación de medidas (participantes descartados por diferir de forma importante con el valor medio) el *test de la Q de Dixon*. Dicho test tiene en cuenta la diferencia de los valores máximos y mínimos respecto a la media, inhabilitando aquéllos que superen el valor preestablecido para este estimador. Adicionalmente, como un segundo control a los resultados de este test, hemos definido intervalos de confianza, representados por desviaciones de la media del 20%. Tal como se puede apreciar en la figura 4, al aplicar ambos criterios de forma conjunta, podemos obtener una nube de resultados en torno a un valor central, que permite observar claramente, que participantes deben revisar su metodología al encontrarse sus resultados, fuera de estos rangos.

INDICE DE FANGO (IF)	CATEGORIA	
1	54,5	Regular
2	53	Regular
3	60,5	Bueno
4	53	Regular
5	45,5	Regular
6	43	Regular
7	46	Regular
8	56	Regular
9	45	Regular
10	45	Regular
11	41,5	Regular
12	60	Bueno
13	26	Malo
14	50	Regular
15	54,5	Regular
16	58,5	Regular
17	69	Bueno
19	37,5	Malo
20	41	Regular
21	44,5	Regular
26	48,5	Regular
MEDIA		49,2
VARIANZA		9,43
PARTICIP DESCARTADO		13
MEDIA CORREG		47,9
VAR CORREG		7,99

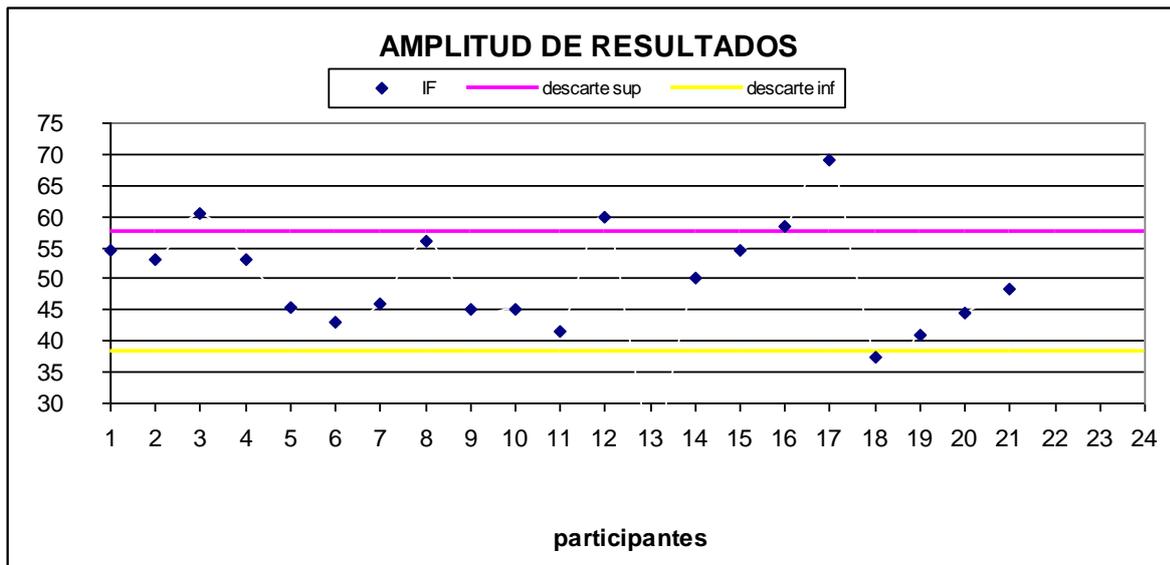
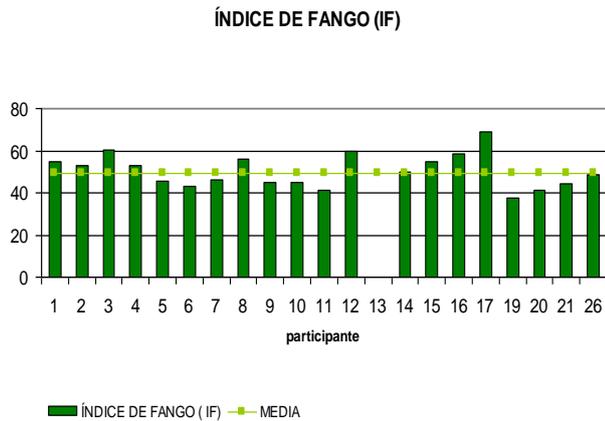


Figura 4: Valoración por parte de los participantes del Índice de Fango (sumatorio de las características macro- y microscópicas), durante el ejercicio de intercomparación de Mayo de 2006, así como la media y varianza calculadas. La aplicación del test estadístico ha descartado el participante 13. Tras aplicar las desviaciones del 20 % de la media, deben revisar su metodología los participantes que quedan fuera de este rango.

Tras analizar los datos aportados y descartados aquellos de mayor dispersión, se obtienen los resultados medios de referencia de la muestra analizada (Figura 5), que permitirá a cada participante evaluar su capacitación.

RESULTADOS MEDIOS ESTIMADOS DE LA MUESTRA	
ÍNDICE DE FANGO	67 (BUENO)
CATEGORÍA BACTERIANA	4 (127 m/mL)
IDENTIFICACIÓN DE FILAMENTOS	Galo
DENSIDAD DE PROTISTAS APROXIMADA	7, 2 (EXP 6)
ÍNDICE DE SHANNON	2,3 bits
ÍNDICE DE MADONI	9
CLASE MADONI	I: Fango estable y bien colonizado
Nº DE ESPECIES ENCONTRADAS	12
GRUPO DOMINANTE	TESTACEAS/ REPTANTES
RENDIMIENTO SEGÚN MADONI	Muy buen funcionamiento
V30 ESTIMADA	145 m/mL
SSLM	1245 mg/L
IVF	120

Figura 5: Resultados medios estimados para la muestra analizada durante el ejercicio de intercomparación de Mayo 2009.

Posteriormente se envía un informe detallado elaborado por GBS y donde colaboran distintos expertos de toda España (D. José Luís Alonso de la Universidad Politécnica de Valencia, D^a Lucía Arregui, D^a Raquel Liébana, D^a Blanca Pérez-Uz y D^a Susana Serrano, de la Universidad Complutense de Madrid y D. Humbert Salvado, de la Universidad de Barcelona), que incluye los resultados, métodos, datos técnicos y estadísticos y gráficos ilustrativos (Figura 6), así como un completo estudio respirométrico de la muestra, realizado por el Sr. Serrano de la empresa SURCIS, según el siguiente índice:

1. Introducción
2. Participantes
3. Resultados
4. Análisis de datos
 - Caracterización macroscópica y microscópica del fango activado (IF)
 - Identificación y cuantificación de bacterias filamentosas
 - Caracterización de la microfauna
 - Otros parámetros de interés
5. Conclusiones
 - Generales
 - Valoración de la muestra

6. Consideraciones para los próximos ejercicios interlaboratorios

7. Agradecimientos

8. Bibliografía

Anexo I: Reportaje fotográfico: Macroscopía y Microscopía - Bacterias filamentosas - Protistas y Metazoos.

Anexo II: Estudio respirométrico de la muestra. Surcis, S.L.,

Anexo III: Viabilidad celular. Fotografías realizadas por el profesor D. José Luís Alonso. Universidad Politécnica de Valencia

Anexo IV: Microscopía electrónica

Anexo V: Estudio biológico. Realizado por D^a Lucía Arregui, D^a Raquel Liébana, D^a Blanca Pérez-Uz y D^a Susana Serrano, Universidad Complutense de Madrid.

Anexo VI: Valoración ecológica de la muestra. Realizado por el profesor D. Humbert Salvado. Universidad de Barcelona

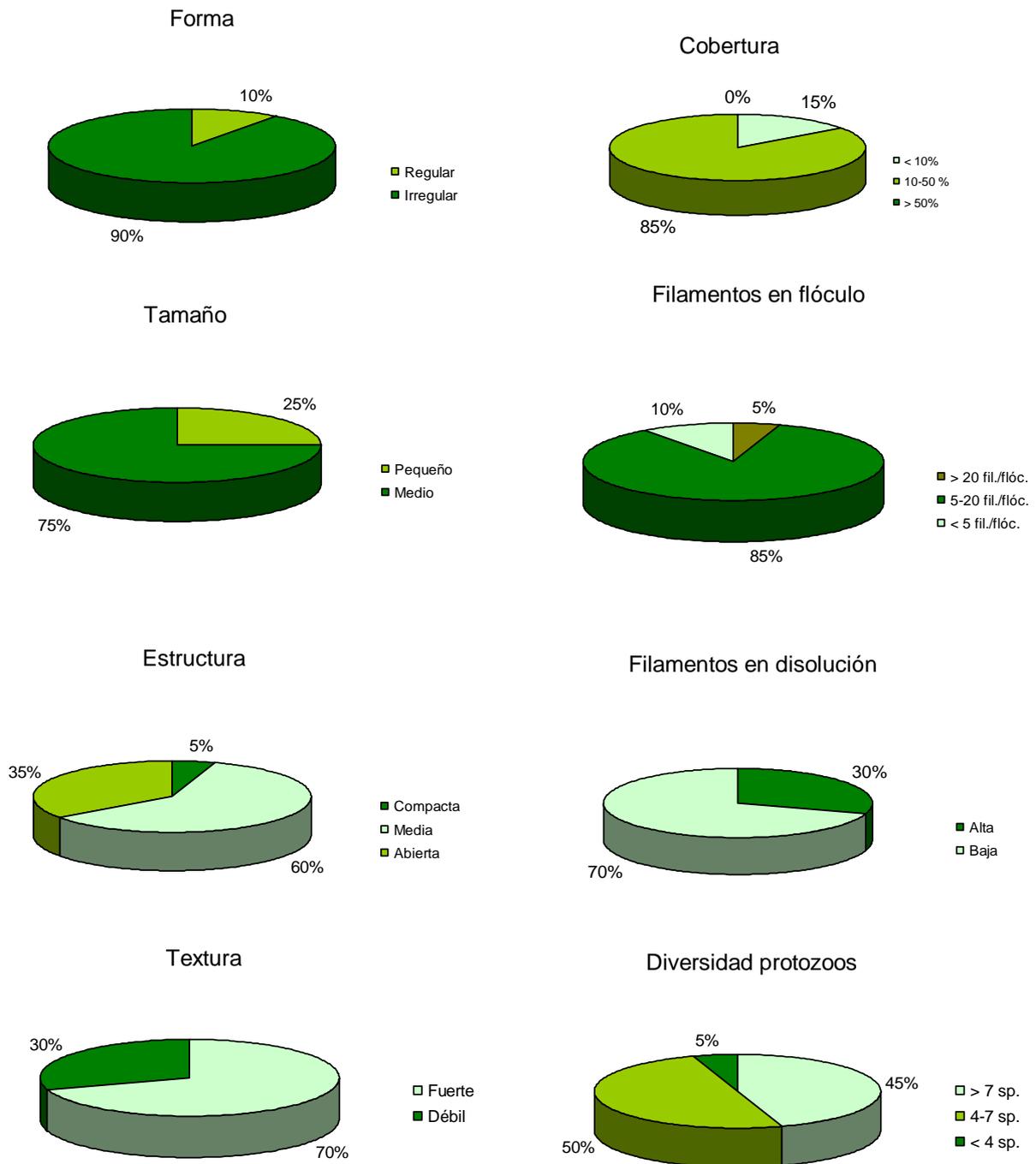


Figura 6: Reparto porcentual de la asignación de características microscópicas de la muestra (forma, tamaño, estructura, textura y cobertura flocular, filamentos en flóculos y en disolución, diversidad de especies) durante el ejercicio intercomparativo de Mayo de 2007.

En dicho informe, se incluyen fotografías, consultas a expertos y apreciaciones particulares sobre el proceso de depuración (dependiendo de los casos), posibles fuentes de error en los resultados, ... haciendo de este documento un material formativo muy útil para el aprendizaje de los técnicos menos expertos, así como un complemento para aquellos que ya han trabajado en esta materia.

REUNIÓN FINAL.

La participación en estos ejercicios ofrece la asistencia a las reuniones finales, normalmente en Octubre, en las que se ofrece un interesante foro de encuentro de profesionales del sector, para debatir las particularidades de las muestras y las incidencias del análisis. Generalmente, se propone la sistemática de los ejercicios para el siguiente año, abierta a comentarios y posibles modificaciones que puedan proponer los participantes.

Es interesante alentar la asistencia a este tipo de reuniones donde se convocan profesionales con inquietudes en el mismo campo. Es aquí donde se plantean las dificultades encontradas en la identificación y recuento de organismos y en general, de cada bloque analítico. Se aclaran dudas, se pueden proponer alternativas complementarias a técnicas usadas, se estudian las observaciones planteadas por los participantes (anónimos) en cada análisis, etc. En definitiva, se gesta la unificación de criterios de los profesionales del análisis aplicado en este tipo de muestras.

Cada participante recibe un certificado que acredite su participación en el circuito. No es competencia del organismo organizador del ejercicio de intercomparación, el estudio individual de cada participante y mucho menos entrar en valoraciones concretas y recomendaciones. La participación en este tipo de ejercicios debe implicar una autoevaluación crítica y personal de cada laboratorio.

CONCLUSIONES

Los ejercicios de intercomparación entre laboratorios son una herramienta básica, sobre todo en análisis de tipo microbiológico, para unificar criterios debido a la alta densidad de microorganismos por mililitro y a la gran dispersión de valores que pueden ocasionar pequeñas diferencias en la metodología de análisis de los fangos activos y rectificar errores sistemáticos de procedimiento. Así pues, estos ejercicios ofrecen la oportunidad de comparar los resultados y métodos con los demás laboratorios participantes.

Por otra parte, ofrecen la oportunidad de afrontar un “problema real” (muestra) con un protocolo validado y comparar los resultados obtenidos con la valoración efectuada, sobre esa misma muestra, por otros profesionales. El histórico de resultados obtenidos por GBS de estas intercomparaciones, pone de manifiesto la posibilidad de obtener datos biológicos repetitivos para la misma muestra, con distintos operadores.

Las sesiones interlaboratorios, ayudan a formar con ojo crítico y evaluador a los profesionales que participan en ellos, lo que les permitirá optimizar los procesos depuradores en sus EDAR. Todos los participantes, adquieren una herramienta de trabajo que les va a permitir obtener información adicional del sistema depurador, a la vez que van adquiriendo soltura en estos análisis, adquiriendo una herramienta clave de competencia frente a clientes externos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a cada una de las empresas y centros a los que pertenecemos, especialmente a EMASESA, por su apoyo y respaldo a nuestro trabajo, así como a los nuevos colaboradores y a todos los participantes por el trabajo desarrollado.

BIBLIOGRAFÍA

Eikelboom, D. (2006). Identification and Control of Filamentous Micro-organisms in Industrial Wastewater Treatment Plants. *Multi-Media Training CD*. IWA Publishing. ISBN: 1843390965.

Eikelboom, D. H. y Van Buijsen, H. J. J. (1983). Microscopic sludge investigation manual, 2nd Edn. TNO Research Institute of Environmental Hygiene, Delft.

ENAC. Expresión de la incertidumbre de medida en las calibraciones. Rev. 1. 1998

ENAC. Guía sobre la participación en programa de intercomparaciones. G-ENAC-14. Rev. 1. Septiembre 2008

Isac, L. (2004). "Resultados y conclusiones obtenidas de los interlaboratorios realizados en el circuito 2003-2004". Comunicación oral en la **Jornada de Transferencia de Tecnología** sobre "Ejercicios interlaboratorios en fangos activos como sistema de control de calidad en la EDAR" (Sevilla, Octubre de 2004).

Isac, L., Rodríguez, E., Fernández, N. y Salas, M.D. (2005). "Informe del circuito interlaboratorio 2005 en fangos activos" **ISBN 978-84-609-7282-8**.

Isac, L., Rodríguez, E., Fernández, N. y Salas, M.D. (2006). "Circuito interlaboratorio 2006 en fangos activados. Aplicación práctica del estudio microbiológico y respirométrico en la EDAR". GBS. **ISBN 978-84-611-2747-1**

Isac, L., Rodríguez, E., Fernández, N. y Salas, M.D. (2007). "Circuito interlaboratorio 2007 en fangos activados. Aplicación práctica del estudio microbiológico y respirométrico en la EDAR". GBS. **ISBN 978-84-612-1345-0**

Jenkins, D., Richard, M. G. y Daigger, G. T. (2004). *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*. Lewis Publishers (Michigan).

Jenkins, D., Richard, M. G. y Daigger, G.T. (1996). Manual on the causes and control of activated sludge *Bulking* and foaming. 2nd Edition. Lewis publishers (Michigan).

Jiménez, C., Fernández, N., de la Horra, J.M., Rodríguez, E., Isac, L., Salas, M.D. y Gómez, E. (2001). "Sistema rápido de estimación de los rendimientos en depuración de una EDAR en función de las características macroscópicas y microscópicas del fango activado". *Tecnología del Agua* **216, 40-44**.

Madoni, P. (1994). A Sludge Biotic Index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Wat. Res.* **28**, 1, 67-75.

Margalef, R. (1981). *Ecología*. Ed. Omega, Barcelona.

Pulles, M. R., Mayarí, R. y Martínez, M. (2006). "Criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según NC-ISO/IEC 17025:00". *CENIC Ciencias Biológicas*, **265, nº 1. 32-36**.

Rodríguez, E., Fernández, N. y Reina, E. (2008). "Circuito interlaboratorio 2008 en fangos activados. Aplicación práctica del estudio microbiológico y respirométrico en la EDAR". GBS. **ISBN 978-84-613-0712-8**

Rodríguez, E., Isac, L., E., Álvarez, M., Zornoza, A., y Fernández, N. (2005). "Tratamiento y conservación de muestras para análisis microbiológicos de fangos activos". *Tecnología del Agua*, **265, 60-70**.

Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N. y Salas, M.D. (2004). "Manual de Trabajo para Análisis Biológicos en Fangos Activados". Jornada de Transferencia de Tecnología sobre "Ejercicios interlaboratorios en fangos activos como sistema de control de calidad en la EDAR" (Sevilla, Octubre de 2004) **I.S.B.N. 978-608-0189-6**.

Sagrado, S., Bonet, E., Medina, M. J. Martín, Y. (2005). "Manual práctico de calidad en los laboratorios. Enfoque Iso 17025". *AENOR*. **ISBN: 84-8143-4403**.