

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 1 de 19 |

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA DE AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO PSEUDALERT

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 2 de 19 |

Tabla de contenido

| | |
|--|----|
| 1. OBJETIVO | 3 |
| 2. ALCANCE | 3 |
| 3. RESPONSABILIDADES | 3 |
| 4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS. | 3 |
| 5. CONDICIONES GENERALES | 4 |
| 6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO. | 5 |
| 7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS. | 5 |
| 8. RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LA MUESTRA..... | 5 |
| 9. CONSERVACION DE LA MUESTRA | 5 |
| 10. EQUIPOS..... | 5 |
| 11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA..... | 6 |
| 12. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO | 6 |
| 13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO. | 10 |
| 14. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS. | 10 |
| 15. EMISION DEL INFORME DE RESULTADOS..... | 11 |
| 16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS..... | 12 |
| 17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA. | 12 |
| 18. CONTROL DE CAMBIOS..... | 13 |
| 19. ANEXOS | 14 |

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 3 de 19 |

1. OBJETIVO

Dar los lineamientos para determinar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de aguas de uso recreativo y estructuras similares, mediante la utilización del kit Pseudalert basado en la técnica sustrato definido, bajo la Norma ISO 16266-2:2018

2. ALCANCE

Este documento se tomará como referencia única en el Laboratorio de Análisis Microbiológico de agua del Laboratorio Departamental de Salud Pública, para realizar la determinación de *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica de sustrato definido Pseudalert por el método de número más probable (NMP).

3. RESPONSABILIDADES

Coordinador LDSP: aprobar el presente documento, supervisar el estricto cumplimiento de lo establecido en el mismo y avalar los resultados que de éste se generen.

Profesional del Laboratorio Microbiológico de Agua, del Laboratorio Departamental de Salud Pública: aplicar las técnicas descritas en el presente manual con estándares de calidad, oportunidad y avalar los resultados que se generen del mismo.

Auxiliar del laboratorio de Agua del laboratorio Departamental de Salud Pública: es responsable de cumplir con lo definido para la ejecución de actividades relacionadas con lavado de material y limpieza de áreas, con el fin de que cumplan con los requerimientos necesarios para la ejecución del ensayo.

4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.

Piscina. Para los efectos de la Ley 1209 de 2008 se entenderá como piscina la estructura artificial destinada a almacenar agua con fines recreativos, deportivos, terapéuticos o simple baño. Incluye además del estanque, las instalaciones anexas, como: vestuarios, sanitarios, lavamanos, duchas, trampolines, plataformas de salto, casa de máquinas, accesorios en general y áreas complementarias.

Ley 1209 de 2008 Atendiendo el número de posibles usuarios se distinguen. **Piscinas particulares.** Son exclusivamente las unifamiliares.

Piscinas de uso colectivo. Son las que no están comprendidas en el literal del presente artículo, independientemente de su titularidad. Se establecen tres categorías de piscinas de uso colectivo.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 4 de 19 |

Piscinas de uso público. Son las destinadas para el uso del público en general sin ninguna restricción.

Piscinas de uso restringido. Son las piscinas destinadas para el uso de un grupo determinado de personas, quienes para su ingreso a ellas requieren cumplir con ciertas condiciones. Entre estas se encuentran las piscinas de clubes, centros vacacionales y recreacionales, condominios, escuelas, entidades, asociaciones, hoteles, moteles y similares.

Piscinas de uso especial. Son las utilizadas para fines distintos al recreativo, deportivo o al esparcimiento, y sus aguas presentan características fisicoquímicas especiales. Entre estas se incluyen las terapéuticas, las termales y las otras que determine la autoridad sanitaria.

Calidad del agua: Es el resultado de comparar las características físicas, químicas y microbiológicas encontradas en el agua, con el contenido de las normas que regulan la materia.

Contramuestra: Toma puntual de agua en los puntos de muestreo concertados, en el proceso de control de la persona prestadora y que se realiza simultánea y representativamente con la Autoridad Sanitaria.

Pseudomona aeruginosa: bacilo Gram negativo perteneciente al género *Pseudomona* y a la familia *Pseudomonadaceae*. Son bacterias aerobias estrictas, móviles, productoras de pigmentos característicos como la pioverdina o la piocianina. Característicamente presentan una gran resistencia a antisépticos y a antibióticos, junto a necesidades nutricionales pequeñas, lo que las convierte en ubicuas. Se encuentran en el medio ambiente a nivel de suelos, aire, polvo y aguas, pero es sobre todo en los ambientes húmedos donde tienen mayor facilidad para proliferar. En el ser humano podemos encontrar *Pseudomona aeruginosa* en la flora intestinal de un 10%-15% de personas. No es habitante habitual de la piel humana, pero se puede encontrar de forma transitoria en la región ano genital, axilas y conducto auditivo externo del 2% de la población sana.

5. CONDICIONES GENERALES

Las condiciones de temperatura del Laboratorio: 15 °C a 25 °C

Almacenar el Kit y los dispositivos Quanti Tray/2000, de 2 °C a 30 °C, protegido de la luz. Para los análisis siga los procedimientos actualizados la muestra de agua se refrigera hasta su procesamiento.

Durante la realización del ensayo la temperatura debe estar comprendida en el intervalo [38,5°C ±0,5°C] sin considerar la incertidumbre de medida ni las características del incubador. En resumen, la estabilidad de la estufa debe de ser ±0,5 °C. Es con este criterio que se desarrolló el método. La incertidumbre no influye mientras la temperatura sea controlada.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 5 de 19 |

6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO.

El kit de análisis Pseudalert utiliza la tecnología de enzimas bacterianas para detectar Pseudomona aeruginosa. Estos microorganismos crecen y se reproducen rápidamente usando el abundante suministro de aminoácido, vitaminas y otros nutrientes presentes en el reactivo Pseudalert, las cepas Pseudomona aeruginosa en crecimiento activo contiene una enzima que escinde el sustrato para producir fluorescencia azul bajo luz ultravioleta, 1ufc/100 ml dentro de las 24 horas hora, hasta en presencia de 2 millones de bacterias heterotróficas por cada 100 ml.

7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS.

- Utilizar solamente agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Para poder realizar las comparaciones a la hora de interpretar los resultados, se puede utilizar como blanco agua estéril incubada con el reactivo Pseudalert (control negativo).
- El kit Pseudalert no se ha validado para ser utilizado con muestras de agua embotellada aromatizada, con agua marina o agua carbonatada.

8. RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LA MUESTRA.

La toma de muestras de agua para análisis microbiológico es responsabilidad de los técnicos de Salud Ambiental o persona que requiera el análisis.

Una vez recibida en el Laboratorio de salud Pública, se da un numero consecutivo, Tanto al frasco que contiene la muestra, como al Acta de toma de muestras.

9. CONSERVACION DE LA MUESTRA

La muestra debe permanecer de 2 °C a 8 °C, antes de su procesamiento

10. EQUIPOS

- Selladora (Quanti-Traysealer) Sealer Plus
- Incubadora de 38 ±0,5°C
- Lámpara de luz UV de 6 vatios.
- Cabina de seguridad biológica

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 6 de 19 |

11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA

11.1 Reactivos

- Reactivo Sustrato Pseudalert
- Agua estéril

11.2 Materiales de referencia certificados

- Cepas de referencia:
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, para control positivo del método. *Klebsiella variicola* ATCC 31488, para control negativo del método.

11.3 Materiales

- Toallas absorbentes
- Probeta estéril
- Frasco de vidrio y/o plástico, previamente estéril
- Marcador permanente
- Dispositivo Quanti-Tray /2000 uno por cada muestra

12. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO



1. Sacar las muestras de agua de uso recreativo, de la nevera y colocarlas en el mesón de trabajo.
2. Alistar los reactivos y materiales de uso para la realización del ensayo.
3. Relacionar las muestras a procesar en el libro de registro de datos primarios, de acuerdo con la numeración dada en la recepción a la muestra.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 7 de 19 |

4. Encender la cabina de seguridad biológica, desinfectar con etanol al 70%.
5. Encender el sellador antes de iniciar el montaje de muestras de agua.
6. Identificar el frasco de vidrio y/o plástico, identificar la bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000, con el código interno, el cual ha sido asignado en la recepción de la muestra.
7. Identificar un frasco de vidrio y/o plástico, identificar una bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000, con el código interno, el cual ha sido asignado en la recepción de la muestra.
8. Medir en el frasco previamente esterilizado, 100 mL el agua a procesar
9. Añadir el contenido de un vial de sustrato definido Pseudalert al frasco que contiene la muestra de agua, mezclar



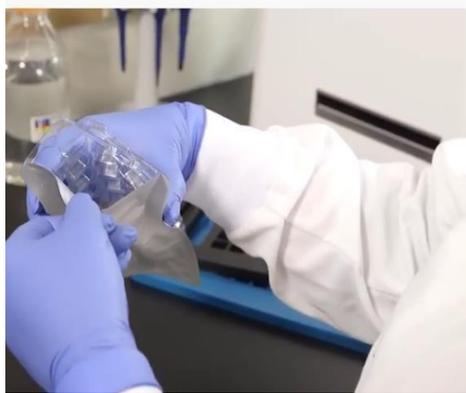
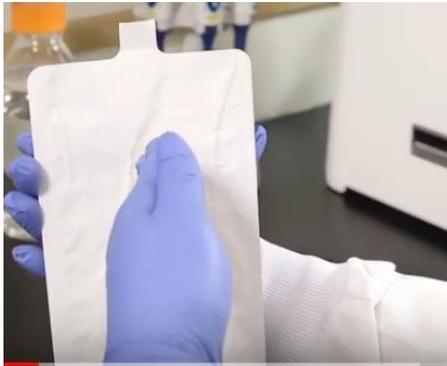
10. Agregue 3 gotas de solución antiespumante al frasco que contiene la muestra de agua.



11. Agitar suavemente la mezcla en sentido de las manecillas del reloj hasta disolver.
12. Verter la mezcla de muestra y reactivo en una bandeja para recuento bacteriano Quantitray/2000; con la mano izquierda con los pozos hacia la palma de la mano, añada la muestra, golpee suavemente el extremo inferior de la bolsa para sacar las burbujas.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 8 de 19 |

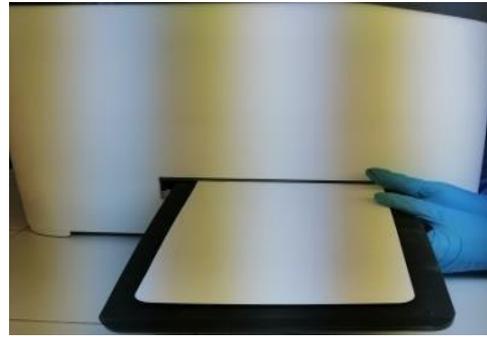


13. Sellar en IDEXX Quanti-tray Sealer Plus (Colocar la bandeja Quanti-tray/2000 sobre la plantilla de caucho. Los pozos de la bolsa deben coincidir con los orificios de la plantilla y la parte superior de la bolsa dirigida hacia arriba. Selle y retire la bolsa por la parte posterior del sellador.



| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 9 de 19 |



14 Colocar la bandeja previamente sellada en incubadora de $38 \pm 0,5^{\circ}$ Celsius por 24 horas.



15. Transcurrido el tiempo cuente los pozos de color azul, verificando que el color sea más fuerte que el control, revise la bolsa en la cámara UV para verificar la fluorescencia (pozos color azul) que confirma la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*



| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 10 de 19 |

13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO.

Con cada nuevo lote de reactivo, verifique su desempeño con el uso de cepas de referencia (Control positivo: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), (control negativo: *Klebsiella variicola* ATCC 31488, (control esterilidad del medio: sustrato definido). Además, este procedimiento se realiza diariamente, con el proceso de muestras de agua.

Para cada lote de bolsas Quany Tray, se realiza un control de calidad: tomar 100 ml de caldo caso o tripticasa soya, sellar la bolsa Quany Tray, incubar y observar si hay turbiedad.

13.1 Control de esterilidad: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, disolver un vial de Pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido Pseudalert mencionado anteriormente. No debe tener crecimiento, lo que quiere decir que la bolsa y el reactivo pseudalert están estériles, libres de contaminación.

13.2 Control Negativo: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, inocule la cepa de referencia *Klebsiella variicola* ATCC 31488, disolver un vial de pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido mencionado anteriormente. No debe tener crecimiento. Resultado negativo para *Pseudomonas aeruginosa*.

13.3 Control Positivo: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, inocule la cepa de referencia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 disolver un vial de pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido mencionado anteriormente. Debe tener crecimiento. Resultado positivo para *Pseudomonas aeruginosa*.

Los resultados deben corresponder a la tabla N°1.

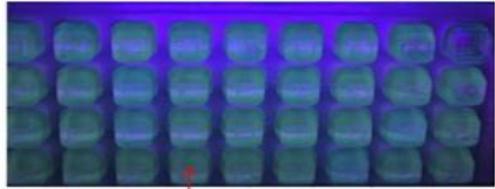
14. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS.

- Leer los resultados de acuerdo con el cuadro de interpretación de resultados tabla N° 1. Para Pseudalert se debe contar el número de pocillos positivos y referirse al cuadro NMP (anexo N° 1), para *Pseudomonas aeruginosa* debe introducir la bandeja dentro de la cabina de la lámpara de luz UV y referirse al cuadro NMP (anexo No 1), esta tabla la proporcionan las bandejas de Quanti-tray/2000.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 11 de 19 |

- Si se hacen diluciones de muestra, multiplicar el valor NMP por el factor de dilución para obtener el resultado cuantitativo apropiado.
- En caso de tener más de una muestra, seguir con cada una de ellas el procedimiento descrito anteriormente.
- Seguir las normas de bioseguridad necesarias para realizar el procedimiento anteriormente descrito.
- Leer la fluorescencia usando una luz UV de 6 vatios, 365-365 nm a distancia de unas 5 pulgadas (13 cm) de la muestra, en un entorno oscuro. Apuntar el haz de luz en dirección contraria a los ojos y hacia la muestra.

| ASPECTO | RESULTADO |
|--|---|
|  |  |
| Positivo para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Con Fluorescencia azul. | Negativo para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Sin fluorescencia azul. |

Interpretación de resultados

15. EMISION DEL INFORME DE RESULTADOS.

Los resultados de Pseudalert son definitivos de 24 - 28 horas. Además, los positivos para *Pseudomonas aeruginosa* antes de las 24 horas y los negativos observados después de las 28 horas también son válidas.

Para muestras de agua de uso recreativo, para vigilancia, diagnóstico, procedentes de los municipios categoría 4, 5, 6 y municipios categoría 1, 2, 3, con Convenio, se reportarán utilizando el formato: Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Uso Recreativo y Estructuras Similares.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 12 de 19 |

16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS.

NO APLICA

17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA.

Decreto 1541 de 1978, con relación a las concesiones y/o la reglamentación del uso de las aguas existentes.

Decreto 1594 de 1984 "Por el cual se reglamenta parcialmente el título I de la ley 9 de 1979, así como el capítulo II del título VI - parte III - libro II y el título III de la parte II

Resolución 414 de abril 12 2002 "Por la cual se adoptan metodologías analíticas alternas para análisis físico químico y bacteriológico de aguas para consumo humano.

Ley 1209 de 14 de Julio de 2008 " Por medio de la cual se establecen normas de seguridad en piscinas".

Resolución 1618 de 2010 "Por la cual se reglamenta parcialmente el Decreto 2171 de 2009" sobre piscinas y estructuras similares de uso colectivo "

Decreto 3930 de 25 de octubre de 2010. "Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9 de 1979, así como el Capítulo 11 del Título VI-Parte 11I- Libro 11 del Decreto - Ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos y se dictan otras disposiciones" Artículo 79. Vigencia y derogatorias. El presente decreto rige a partir de la fecha de su publicación y deroga las disposiciones que le sean contrarias, en especial los artículos 193, 213 a 217 y 231 del Decreto 1541 de 1978 y el Decreto 1594 de 1984, salvo los artículos 20 y 21.

Standard Methods versión 23 de 2017

Resolución 1619 de 2015 "Por la cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de vigilancia en salud pública y de Gestión de calidad."

Resolución 1531 de 2016 "Por la cual se determina el procedimiento y se fijan los criterios para el cumplimiento de los estándares de calidad, en apoyo a la ejecución de acciones de vigilancia en salud pública y vigilancia y control sanitario, en el marco de las competencias del INS, y se dictan otras disposiciones"

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 13 de 19 |

NTC-ISO/IEC 17025 de 2017. Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

<https://www.idexx.com/water/products/pseudalert.html>. The **Pseudalert** Test detects the presence of Pseudomonas aeruginosa in water samples. The test is based on a bacterial enzyme detection technology.

Calidad del agua. Detección y recuento de Pseudomonas aeruginosa. Parte 2: Método del número más probable. (ISO 16266-2:2018)

18. CONTROL DE CAMBIOS.

| CONTROL DE CAMBIOS | | | | |
|--------------------|------------|-------------------------------|---|--|
| VERSIÓN | FECHA | DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO | REVISÓ | APROBÓ |
| 0 | 07/06/2022 | Emisión inicial del documento | Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez | Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander |

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 14 de 19 |

| | | | | |
|---|------------|--|--|--|
| | | | Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud | |
| 1 | 22/08/2023 | Actualización del control de calidad analítico | Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud | Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander |

19. ANEXOS

- Acta de toma de muestra de agua. MI-GS-RG-110.
- Resultados análisis de aguas de uso recreativo y estructuras similares. MI-GS-RG167
- [Muestras rechazadas por incumplimiento de criterios MI-GS-RG-141](#)
- Tabla NMP Pseudalert
- Protocolo de Recuperación de cepas en crioperlas en Microbiología de aguas

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |



**MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE
PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO
RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES.
MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO
DEFINIDO, PSEUDALERT
LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA**

| | |
|---------------------|-------------|
| CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| VERSIÓN | 1 |
| FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| PÁGINA | 15 de 19 |

IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100ml)

| # Large Wells Positive | # Small Wells Positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| 0 | 4.1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.0 | 8.0 | 9.0 | 10.0 | 11.0 | 12.0 | 13.0 | 14.1 | 15.1 | 16.1 | 17.1 | 18.1 | 19.1 | 20.2 | 21.3 | 22.3 | 23.3 | 24.3 |
| 1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.1 | 8.1 | 9.1 | 10.1 | 11.1 | 12.1 | 13.2 | 14.2 | 15.2 | 16.2 | 17.3 | 18.3 | 19.3 | 20.4 | 21.4 | 22.4 | 23.5 | 24.5 | 25.6 |
| 2 | 2.0 | 3.0 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.1 | 8.1 | 9.2 | 10.2 | 11.2 | 12.2 | 13.3 | 14.3 | 15.4 | 16.4 | 17.4 | 18.5 | 19.5 | 20.6 | 21.6 | 22.7 | 23.7 | 24.8 | 25.8 | 26.9 |
| 3 | 3.1 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.2 | 8.2 | 9.2 | 10.3 | 11.3 | 12.4 | 13.4 | 14.5 | 15.5 | 16.5 | 17.5 | 18.6 | 19.7 | 20.8 | 21.8 | 22.9 | 23.9 | 25.0 | 26.1 | 27.1 | 28.2 |
| 4 | 4.1 | 5.2 | 6.2 | 7.2 | 8.3 | 9.3 | 10.4 | 11.4 | 12.5 | 13.5 | 14.6 | 15.6 | 16.7 | 17.8 | 18.8 | 19.9 | 21.0 | 22.0 | 23.1 | 24.2 | 25.3 | 26.3 | 27.4 | 28.5 | 29.6 |
| 5 | 5.2 | 6.3 | 7.3 | 8.4 | 9.4 | 10.5 | 11.5 | 12.6 | 13.7 | 14.7 | 15.8 | 16.9 | 17.9 | 19.0 | 20.1 | 21.2 | 22.2 | 23.3 | 24.4 | 25.5 | 26.6 | 27.7 | 28.8 | 29.9 | 31.0 |
| 6 | 6.3 | 7.4 | 8.4 | 9.5 | 10.6 | 11.6 | 12.7 | 13.8 | 14.9 | 16.0 | 17.0 | 18.1 | 19.2 | 20.3 | 21.4 | 22.5 | 23.6 | 24.7 | 25.8 | 26.9 | 28.0 | 29.1 | 30.2 | 31.3 | 32.4 |
| 7 | 7.5 | 8.5 | 9.6 | 10.7 | 11.8 | 12.8 | 13.9 | 15.0 | 16.1 | 17.2 | 18.3 | 19.4 | 20.5 | 21.6 | 22.7 | 23.8 | 24.9 | 26.0 | 27.1 | 28.2 | 29.4 | 30.5 | 31.6 | 32.8 | 33.9 |
| 8 | 8.6 | 9.7 | 10.8 | 11.9 | 13.0 | 14.1 | 15.2 | 16.3 | 17.4 | 18.5 | 19.6 | 20.7 | 21.8 | 22.9 | 24.1 | 25.2 | 26.3 | 27.4 | 28.6 | 29.7 | 30.8 | 32.0 | 33.1 | 34.3 | 35.4 |
| 9 | 9.8 | 10.9 | 12.0 | 13.1 | 14.2 | 15.3 | 16.4 | 17.6 | 18.7 | 19.8 | 20.9 | 22.0 | 23.2 | 24.3 | 25.4 | 26.6 | 27.7 | 28.9 | 30.0 | 31.2 | 32.3 | 33.5 | 34.6 | 35.8 | 37.0 |
| 10 | 11.0 | 12.1 | 13.2 | 14.4 | 15.5 | 16.6 | 17.7 | 18.9 | 20.0 | 21.1 | 22.3 | 23.4 | 24.6 | 25.7 | 26.9 | 28.0 | 29.2 | 30.3 | 31.5 | 32.7 | 33.8 | 35.0 | 36.2 | 37.4 | 38.6 |
| 11 | 12.2 | 13.4 | 14.5 | 15.6 | 16.8 | 17.9 | 19.1 | 20.2 | 21.4 | 22.5 | 23.7 | 24.8 | 26.0 | 27.2 | 28.3 | 29.5 | 30.7 | 31.9 | 33.0 | 34.2 | 35.4 | 36.6 | 37.8 | 39.0 | 40.2 |
| 12 | 13.5 | 14.6 | 15.8 | 16.9 | 18.1 | 19.3 | 20.4 | 21.6 | 22.8 | 23.9 | 25.1 | 26.3 | 27.5 | 28.6 | 29.8 | 31.0 | 32.2 | 33.4 | 34.6 | 35.8 | 37.0 | 38.2 | 39.5 | 40.7 | 41.9 |
| 13 | 14.8 | 16.0 | 17.1 | 18.3 | 19.5 | 20.6 | 21.8 | 23.0 | 24.2 | 25.4 | 26.6 | 27.8 | 29.0 | 30.2 | 31.4 | 32.6 | 33.8 | 35.0 | 36.2 | 37.5 | 38.7 | 39.9 | 41.2 | 42.4 | 43.6 |
| 14 | 16.1 | 17.3 | 18.5 | 19.7 | 20.9 | 22.1 | 23.3 | 24.5 | 25.7 | 26.9 | 28.1 | 29.3 | 30.5 | 31.7 | 33.0 | 34.2 | 35.4 | 36.7 | 37.9 | 39.1 | 40.4 | 41.6 | 42.9 | 44.2 | 45.4 |
| 15 | 17.5 | 18.7 | 19.9 | 21.1 | 22.3 | 23.5 | 24.7 | 25.9 | 27.2 | 28.4 | 29.6 | 30.9 | 32.1 | 33.3 | 34.6 | 35.8 | 37.1 | 38.4 | 39.6 | 40.9 | 42.2 | 43.4 | 44.7 | 46.0 | 47.3 |
| 16 | 18.9 | 20.1 | 21.3 | 22.6 | 23.8 | 25.0 | 26.3 | 27.5 | 28.7 | 30.0 | 31.2 | 32.5 | 33.7 | 35.0 | 36.3 | 37.5 | 38.8 | 40.1 | 41.4 | 42.7 | 44.0 | 45.3 | 46.6 | 47.9 | 49.2 |
| 17 | 20.3 | 21.6 | 22.8 | 24.1 | 25.3 | 26.6 | 27.8 | 29.1 | 30.3 | 31.6 | 32.9 | 34.1 | 35.4 | 36.7 | 38.0 | 39.3 | 40.6 | 41.9 | 43.2 | 44.5 | 45.9 | 47.2 | 48.5 | 49.8 | 51.1 |
| 18 | 21.7 | 23.0 | 24.3 | 25.6 | 26.9 | 28.1 | 29.4 | 30.7 | 32.0 | 33.3 | 34.6 | 35.9 | 37.2 | 38.5 | 39.8 | 41.1 | 42.4 | 43.8 | 45.1 | 46.5 | 47.8 | 49.2 | 50.5 | 51.9 | 53.2 |
| 19 | 23.3 | 24.6 | 25.9 | 27.2 | 28.5 | 29.8 | 31.1 | 32.4 | 33.7 | 35.0 | 36.3 | 37.6 | 39.0 | 40.3 | 41.6 | 43.0 | 44.3 | 45.7 | 47.1 | 48.4 | 49.8 | 51.2 | 52.6 | 54.0 | 55.4 |
| 20 | 24.9 | 26.2 | 27.5 | 28.8 | 30.1 | 31.5 | 32.8 | 34.1 | 35.4 | 36.8 | 38.1 | 39.5 | 40.8 | 42.2 | 43.6 | 44.9 | 46.3 | 47.7 | 49.1 | 50.5 | 51.9 | 53.3 | 54.7 | 56.1 | 57.5 |
| 21 | 26.5 | 27.9 | 29.2 | 30.5 | 31.8 | 33.2 | 34.5 | 35.9 | 37.3 | 38.6 | 40.0 | 41.4 | 42.8 | 44.1 | 45.5 | 46.9 | 48.4 | 49.8 | 51.2 | 52.6 | 54.1 | 55.5 | 56.9 | 58.4 | 59.8 |
| 22 | 28.2 | 29.5 | 30.9 | 32.3 | 33.6 | 35.0 | 36.4 | 37.7 | 39.1 | 40.5 | 41.9 | 43.3 | 44.8 | 46.2 | 47.6 | 49.0 | 50.5 | 51.9 | 53.4 | 54.8 | 56.3 | 57.8 | 59.3 | 60.8 | 62.3 |
| 23 | 29.9 | 31.3 | 32.7 | 34.1 | 35.5 | 36.9 | 38.3 | 39.7 | 41.1 | 42.5 | 43.9 | 45.4 | 46.8 | 48.3 | 49.7 | 51.2 | 52.7 | 54.2 | 55.6 | 57.1 | 58.6 | 60.2 | 61.7 | 63.2 | 64.7 |
| 24 | 31.7 | 33.1 | 34.5 | 35.9 | 37.3 | 38.8 | 40.2 | 41.7 | 43.1 | 44.6 | 46.0 | 47.5 | 49.0 | 50.5 | 52.0 | 53.5 | 55.0 | 56.5 | 58.0 | 59.5 | 61.1 | 62.6 | 64.2 | 65.7 | 67.3 |
| 25 | 33.6 | 35.0 | 36.4 | 37.9 | 39.3 | 40.8 | 42.2 | 43.7 | 45.2 | 46.7 | 48.2 | 49.7 | 51.2 | 52.7 | 54.3 | 55.8 | 57.3 | 58.9 | 60.5 | 62.0 | 63.6 | 65.2 | 66.8 | 68.4 | 70.0 |
| 26 | 35.5 | 36.9 | 38.4 | 39.9 | 41.4 | 42.8 | 44.3 | 45.9 | 47.4 | 48.9 | 50.4 | 52.0 | 53.5 | 55.1 | 56.7 | 58.2 | 59.8 | 61.4 | 63.0 | 64.7 | 66.3 | 67.9 | 69.6 | 71.2 | 72.9 |
| 27 | 37.4 | 38.9 | 40.4 | 42.0 | 43.5 | 45.0 | 46.5 | 48.1 | 49.6 | 51.2 | 52.8 | 54.4 | 56.0 | 57.6 | 59.2 | 60.8 | 62.4 | 64.1 | 65.7 | 67.4 | 69.1 | 70.8 | 72.5 | 74.2 | 75.9 |
| 28 | 39.5 | 41.0 | 42.6 | 44.1 | 45.7 | 47.3 | 48.9 | 50.4 | 52.0 | 53.6 | 55.2 | 56.9 | 58.5 | 60.2 | 61.8 | 63.5 | 65.2 | 66.9 | 68.6 | 70.3 | 72.0 | 73.7 | 75.5 | 77.3 | 79.0 |
| 29 | 41.7 | 43.2 | 44.8 | 46.4 | 48.0 | 49.6 | 51.2 | 52.8 | 54.5 | 56.1 | 57.8 | 59.5 | 61.2 | 62.9 | 64.6 | 66.3 | 68.0 | 69.8 | 71.5 | 73.3 | 75.1 | 76.9 | 78.7 | 80.5 | 82.4 |
| 30 | 43.9 | 45.5 | 47.1 | 48.7 | 50.4 | 52.0 | 53.7 | 55.4 | 57.1 | 58.8 | 60.5 | 62.2 | 64.0 | 65.7 | 67.5 | 69.3 | 71.0 | 72.9 | 74.7 | 76.5 | 78.3 | 80.2 | 82.1 | 84.0 | 85.9 |
| 31 | 46.2 | 47.9 | 49.5 | 51.2 | 52.9 | 54.6 | 56.3 | 58.1 | 59.8 | 61.6 | 63.3 | 65.1 | 66.9 | 68.7 | 70.5 | 72.4 | 74.2 | 76.1 | 78.0 | 79.9 | 81.8 | 83.7 | 85.7 | 87.6 | 89.6 |
| 32 | 48.7 | 50.4 | 52.1 | 53.8 | 55.6 | 57.3 | 59.1 | 60.9 | 62.7 | 64.5 | 66.3 | 68.2 | 70.0 | 71.9 | 73.8 | 75.7 | 77.6 | 79.5 | 81.5 | 83.5 | 85.4 | 87.5 | 89.5 | 91.5 | 93.6 |
| 33 | 51.2 | 53.0 | 54.8 | 56.5 | 58.3 | 60.2 | 62.0 | 63.8 | 65.7 | 67.6 | 69.5 | 71.4 | 73.3 | 75.2 | 77.2 | 79.2 | 81.2 | 83.2 | 85.2 | 87.3 | 89.3 | 91.4 | 93.5 | 95.6 | 97.7 |
| 34 | 53.9 | 55.7 | 57.6 | 59.4 | 61.3 | 63.1 | 65.0 | 67.0 | 68.9 | 70.8 | 72.8 | 74.8 | 76.8 | 78.8 | 80.8 | 82.9 | 85.0 | 87.1 | 89.2 | 91.4 | 93.5 | 95.7 | 97.9 | 100.2 | 102.4 |
| 35 | 56.6 | 58.6 | 60.5 | 62.4 | 64.4 | 66.3 | 68.3 | 70.3 | 72.3 | 74.3 | 76.3 | 78.4 | 80.5 | 82.6 | 84.7 | 86.9 | 89.1 | 91.3 | 93.5 | 95.7 | 98.0 | 100.3 | 102.6 | 105.0 | 107.3 |
| 36 | 59.4 | 61.4 | 63.4 | 65.4 | 67.4 | 69.4 | 71.4 | 73.5 | 75.5 | 77.6 | 79.6 | 81.7 | 83.8 | 85.9 | 88.0 | 90.1 | 92.2 | 94.3 | 96.4 | 98.6 | 100.8 | 103.0 | 105.3 | 107.6 | 110.0 |
| 37 | 62.2 | 64.3 | 66.3 | 68.4 | 70.4 | 72.5 | 74.6 | 76.7 | 78.8 | 80.9 | 83.0 | 85.1 | 87.2 | 89.3 | 91.4 | 93.5 | 95.6 | 97.7 | 100.0 | 102.1 | 104.3 | 106.5 | 108.7 | 111.0 | 113.3 |
| 38 | 65.1 | 67.2 | 69.3 | 71.4 | 73.5 | 75.6 | 77.7 | 79.8 | 81.9 | 84.0 | 86.1 | 88.2 | 90.3 | 92.4 | 94.5 | 96.6 | 98.7 | 100.9 | 103.0 | 105.2 | 107.4 | 109.6 | 111.8 | 114.1 | 116.4 |
| 39 | 68.0 | 70.1 | 72.2 | 74.3 | 76.4 | 78.5 | 80.6 | 82.7 | 84.8 | 86.9 | 89.0 | 91.1 | 93.2 | 95.3 | 97.4 | 99.5 | 101.6 | 103.8 | 106.0 | 108.2 | 110.4 | 112.6 | 114.8 | 117.1 | 119.4 |
| 40 | 71.0 | 73.1 | 75.2 | 77.3 | 79.4 | 81.5 | 83.6 | 85.7 | 87.8 | 89.9 | 92.0 | 94.1 | 96.2 | 98.3 | 100.4 | 102.5 | 104.6 | 106.7 | 108.9 | 111.0 | 113.2 | 115.4 | 117.6 | 119.8 | 122.1 |
| 41 | 74.0 | 76.1 | 78.2 | 80.3 | 82.4 | 84.5 | 86.6 | 88.7 | 90.8 | 92.9 | 95.0 | 97.1 | 99.2 | 101.3 | 103.4 | 105.5 | 107.6 | 109.7 | 111.9 | 114.0 | 116.2 | 118.4 | 120.6 | 122.8 | 125.1 |
| 42 | 77.0 | 79.1 | 81.2 | 83.3 | 85.4 | 87.5 | 89.6 | 91.7 | 93.8 | 95.9 | 98.0 | 100.1 | 102.2 | 104.3 | 106.4 | 108.5 | 110.6 | 112.7 | 114.9 | 117.0 | 119.2 | 121.4 | 123.6 | 125.8 | 128.1 |
| 43 | 80.0 | 82.1 | 84.2 | 86.3 | 88.4 | 90.5 | 92.6 | 94.7 | 96.8 | 98.9 | 101.0 | 103.1 | 105.2 | 107.3 | 109.4 | 111.5 | 113.6 | 115.7 | 117.9 | 120.0 | 122.2 | 124.4 | 126.6 | 128.8 | 131.1 |
| 44 | 83.0 | 85.1 | 87.2 | 89.3 | 91.4 | 93.5 | 95.6 | 97.7 | 99.8 | 101.9 | 104.0 | 106.1 | 108.2 | 110.3 | 112.4 | 114.5 | 116.6 | 118.7 | 120.9 | 123.0 | 125.2 | 127.4 | 129.6 | 131.8 | 134.1 |
| 45 | 86.0 | 88.1 | 90.2 | 92.3 | 94.4 | 96.5 | 98.6 | 100.7 | 102.8 | 104.9 | 107.0 | 109.1 | 111.2 | 113.3 | 115.4 | 117.5 | 119.6 | 121.7 | 123.9 | 126.0 | 128.2 | 130.4 | 132.6 | 134.8 | 137.1 |
| 46 | 89.0 | 91.1 | 93.2 | 95.3 | 97.4 | 99.5 | 101.6 | 103.7 | 105.8 | 107.9 | 110.0 | 112.1 | 114.2 | 116.3 | 118.4 | 120.5 | 122.6 | 124.7 | 126.9 | 129.0 | 131.2 | 133.4 | 135.6 | 137.8 | 140.1 |
| 47 | 92.0 | 94.1 | 96.2 | 98.3 | 100.4 | 102.5 | 104.6 | 106.7 | 108.8 | 110.9 | 113.0 | 115.1 | 117.2 | 119.3 | 121.4 | 123.5 | 125.6 | 127.7 | 129.9 | 132.0 | 134.2 | 136.4 | 138.6 | 140.8 | 143.1 |
| 48 | 95.0 | 97.1 | 99.2 | 101.3 | 103.4 | 105.5 | 107.6 | 109.7 | 111.8 | 113.9 | 116.0 | 118.1 | 120.2 | 122.3 | 124.4 | 126.5 | 128.6 | 130.7 | 132.9 | 135.0 | 137.2 | 139 | | | |

**MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE
 PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO
 RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES.
 MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO
 DEFINIDO, PSEUDALERT
 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA**

| | |
|---------------------|-------------|
| CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| VERSIÓN | 1 |
| FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| PÁGINA | 16 de 19 |

IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100ml)
 # Small Wells Positive

| # Large Wells Positive | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 0 | 25.3 | 26.4 | 27.4 | 28.4 | 29.5 | 30.5 | 31.5 | 32.5 | 33.5 | 34.7 | 35.7 | 36.8 | 37.8 | 38.9 | 40.0 | 41.0 | 42.1 | 43.1 | 44.2 | 45.3 | 46.3 | 47.4 | 48.5 | 49.5 |
| 1 | 26.6 | 27.7 | 28.7 | 29.8 | 30.8 | 31.9 | 32.9 | 34.0 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.2 | 39.3 | 40.4 | 41.4 | 42.5 | 43.5 | 44.7 | 45.7 | 46.8 | 47.9 | 49.0 | 50.1 | 51.2 |
| 2 | 27.9 | 29.0 | 30.0 | 31.1 | 32.2 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.5 | 38.6 | 39.7 | 40.8 | 41.9 | 43.0 | 44.0 | 45.1 | 46.2 | 47.3 | 48.4 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.8 |
| 3 | 29.3 | 30.4 | 31.4 | 32.5 | 33.5 | 34.7 | 35.8 | 36.8 | 37.9 | 39.0 | 40.1 | 41.2 | 42.3 | 43.4 | 44.5 | 45.5 | 46.7 | 47.8 | 48.9 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.4 | 54.5 |
| 4 | 30.7 | 31.8 | 32.8 | 33.9 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.3 | 39.4 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 43.9 | 45.0 | 46.1 | 47.3 | 48.3 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.9 | 54.0 | 55.1 | 56.3 |
| 5 | 32.1 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.6 | 38.7 | 39.9 | 41.0 | 42.1 | 43.2 | 44.4 | 45.5 | 46.6 | 47.7 | 48.9 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.6 | 55.8 | 56.9 | 58.1 |
| 6 | 33.5 | 34.7 | 35.8 | 36.9 | 38.0 | 39.2 | 40.3 | 41.4 | 42.6 | 43.7 | 44.8 | 46.0 | 47.1 | 48.3 | 49.4 | 50.6 | 51.7 | 52.9 | 54.1 | 55.2 | 56.4 | 57.6 | 58.7 | 59.9 |
| 7 | 35.0 | 36.2 | 37.3 | 38.4 | 39.6 | 40.7 | 41.9 | 43.0 | 44.2 | 45.3 | 46.5 | 47.7 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.7 | 55.9 | 57.1 | 58.3 | 59.4 | 60.6 | 61.8 |
| 8 | 36.6 | 37.7 | 38.9 | 40.0 | 41.2 | 42.3 | 43.5 | 44.7 | 45.9 | 47.0 | 48.2 | 49.4 | 50.6 | 51.8 | 53.0 | 54.1 | 55.3 | 56.5 | 57.7 | 59.0 | 60.2 | 61.4 | 62.6 | 63.8 |
| 9 | 38.1 | 39.3 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 44.0 | 45.2 | 46.4 | 47.6 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.4 | 53.6 | 54.8 | 56.0 | 57.2 | 58.4 | 59.7 | 60.9 | 62.1 | 63.4 | 64.6 | 65.8 |
| 10 | 39.7 | 40.9 | 42.1 | 43.3 | 44.5 | 45.7 | 46.9 | 48.1 | 49.3 | 50.5 | 51.8 | 53.0 | 54.2 | 55.5 | 56.7 | 57.9 | 59.2 | 60.4 | 61.7 | 62.9 | 64.2 | 65.4 | 66.7 | 67.9 |
| 11 | 41.4 | 42.6 | 43.8 | 45.0 | 46.3 | 47.5 | 48.7 | 49.9 | 51.2 | 52.4 | 53.7 | 54.9 | 56.1 | 57.4 | 58.6 | 59.9 | 61.2 | 62.4 | 63.7 | 65.0 | 66.3 | 67.5 | 68.8 | 70.1 |
| 12 | 43.1 | 44.3 | 45.6 | 46.8 | 48.1 | 49.3 | 50.6 | 51.8 | 53.1 | 54.3 | 55.6 | 56.8 | 58.1 | 59.4 | 60.7 | 62.0 | 63.2 | 64.5 | 65.8 | 67.1 | 68.4 | 69.7 | 71.0 | 72.4 |
| 13 | 44.9 | 46.1 | 47.4 | 48.6 | 49.9 | 51.2 | 52.5 | 53.7 | 55.0 | 56.3 | 57.6 | 58.9 | 60.2 | 61.5 | 62.8 | 64.1 | 65.4 | 66.7 | 68.0 | 69.3 | 70.7 | 72.0 | 73.3 | 74.7 |
| 14 | 46.7 | 48.0 | 49.3 | 50.5 | 51.8 | 53.1 | 54.4 | 55.7 | 57.0 | 58.3 | 59.6 | 60.9 | 62.2 | 63.5 | 64.8 | 66.1 | 67.4 | 68.7 | 70.0 | 71.3 | 72.6 | 73.9 | 75.2 | 76.7 |
| 15 | 48.5 | 49.8 | 51.2 | 52.5 | 53.8 | 55.1 | 56.4 | 57.7 | 59.0 | 60.4 | 61.8 | 63.1 | 64.5 | 65.8 | 67.2 | 68.5 | 69.9 | 71.3 | 72.6 | 74.0 | 75.4 | 76.8 | 78.2 | 79.6 |
| 16 | 50.5 | 51.8 | 53.2 | 54.5 | 55.8 | 57.2 | 58.5 | 59.9 | 61.2 | 62.6 | 64.0 | 65.3 | 66.7 | 68.1 | 69.5 | 70.9 | 72.3 | 73.7 | 75.1 | 76.5 | 77.9 | 79.3 | 80.8 | 82.2 |
| 17 | 52.5 | 53.9 | 55.2 | 56.6 | 58.0 | 59.3 | 60.7 | 62.1 | 63.5 | 64.9 | 66.3 | 67.7 | 69.1 | 70.5 | 71.9 | 73.3 | 74.8 | 76.2 | 77.6 | 79.1 | 80.5 | 82.0 | 83.5 | 84.9 |
| 18 | 54.6 | 56.0 | 57.4 | 58.8 | 60.2 | 61.6 | 63.0 | 64.4 | 65.8 | 67.2 | 68.6 | 70.1 | 71.5 | 73.0 | 74.4 | 75.9 | 77.3 | 78.8 | 80.3 | 81.8 | 83.3 | 84.8 | 86.3 | 87.8 |
| 19 | 56.8 | 58.2 | 59.6 | 61.0 | 62.4 | 63.9 | 65.3 | 66.8 | 68.2 | 69.7 | 71.1 | 72.6 | 74.1 | 75.5 | 77.0 | 78.5 | 80.0 | 81.5 | 83.1 | 84.6 | 86.1 | 87.6 | 89.2 | 90.7 |
| 20 | 59.0 | 60.4 | 61.9 | 63.3 | 64.8 | 66.3 | 67.7 | 69.2 | 70.7 | 72.2 | 73.7 | 75.2 | 76.7 | 78.2 | 79.8 | 81.3 | 82.8 | 84.4 | 85.9 | 87.5 | 89.1 | 90.7 | 92.3 | 93.8 |
| 21 | 61.3 | 62.8 | 64.3 | 65.8 | 67.3 | 68.8 | 70.3 | 71.8 | 73.3 | 74.9 | 76.4 | 77.9 | 79.5 | 81.1 | 82.6 | 84.2 | 85.8 | 87.4 | 89.0 | 90.6 | 92.3 | 93.9 | 95.5 | 97.1 |
| 22 | 63.8 | 65.3 | 66.8 | 68.3 | 69.8 | 71.4 | 72.9 | 74.5 | 76.1 | 77.6 | 79.2 | 80.8 | 82.4 | 84.0 | 85.6 | 87.2 | 88.9 | 90.5 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.1 | 98.8 | 100.5 |
| 23 | 66.3 | 67.8 | 69.4 | 71.0 | 72.5 | 74.1 | 75.7 | 77.3 | 78.9 | 80.5 | 82.2 | 83.8 | 85.4 | 87.1 | 88.7 | 90.4 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.2 | 99.0 | 100.6 | 102.4 | 104.1 |
| 24 | 68.9 | 70.5 | 72.1 | 73.7 | 75.3 | 77.0 | 78.6 | 80.3 | 81.9 | 83.6 | 85.2 | 86.9 | 88.6 | 90.3 | 92.0 | 93.8 | 95.5 | 97.3 | 99.0 | 100.7 | 102.5 | 104.3 | 106.1 | 107.9 |
| 25 | 71.7 | 73.3 | 75.0 | 76.6 | 78.3 | 80.0 | 81.7 | 83.3 | 85.1 | 86.8 | 88.5 | 90.2 | 92.0 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.1 | 100.9 | 102.7 | 104.5 | 106.3 | 108.2 | 110.0 | 111.9 |
| 26 | 74.6 | 76.3 | 78.0 | 79.7 | 81.4 | 83.1 | 84.8 | 86.5 | 88.4 | 90.1 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.2 | 101.0 | 102.9 | 104.7 | 106.6 | 108.5 | 110.4 | 112.3 | 114.2 | 116.2 |
| 27 | 77.6 | 79.4 | 81.1 | 82.9 | 84.8 | 86.6 | 88.4 | 90.2 | 92.0 | 93.9 | 95.7 | 97.6 | 99.4 | 101.3 | 103.1 | 105.0 | 106.9 | 108.8 | 110.8 | 112.7 | 114.7 | 116.7 | 118.7 | 120.7 |
| 28 | 80.6 | 82.5 | 84.4 | 86.3 | 88.1 | 89.9 | 91.8 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.4 | 101.3 | 103.3 | 105.2 | 107.2 | 109.2 | 111.2 | 113.2 | 115.2 | 117.3 | 119.3 | 121.4 | 123.5 | 125.6 |
| 29 | 84.2 | 86.1 | 87.9 | 89.8 | 91.7 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.5 | 101.5 | 103.5 | 105.5 | 107.5 | 109.5 | 111.5 | 113.5 | 115.5 | 117.5 | 120.0 | 122.1 | 124.2 | 126.4 | 128.6 | 130.8 |
| 30 | 87.8 | 89.7 | 91.7 | 93.6 | 95.6 | 97.6 | 99.6 | 101.6 | 103.7 | 105.7 | 107.8 | 109.8 | 112.0 | 114.2 | 116.3 | 118.5 | 120.6 | 122.8 | 125.1 | 127.3 | 129.5 | 131.8 | 134.1 | 136.4 |
| 31 | 91.8 | 93.8 | 95.8 | 97.7 | 99.7 | 101.8 | 103.9 | 106.0 | 108.2 | 110.3 | 112.5 | 114.7 | 116.9 | 119.1 | 121.4 | 123.6 | 125.9 | 128.2 | 130.5 | 132.9 | 135.3 | 137.7 | 140.1 | 142.5 |
| 32 | 95.7 | 97.8 | 99.9 | 102.0 | 104.2 | 106.3 | 108.5 | 110.7 | 113.0 | 115.2 | 117.5 | 119.8 | 122.1 | 124.5 | 126.8 | 129.2 | 131.6 | 134.0 | 136.5 | 139.0 | 141.5 | 144.0 | 146.5 | 149.1 |
| 33 | 100.0 | 102.2 | 104.4 | 106.6 | 108.9 | 111.2 | 113.5 | 115.8 | 118.2 | 120.5 | 122.9 | 125.4 | 127.8 | 130.3 | 132.8 | 135.3 | 137.8 | 140.4 | 143.0 | 145.6 | 148.3 | 150.9 | 153.7 | 156.4 |
| 34 | 104.7 | 107.0 | 109.3 | 111.7 | 114.0 | 116.4 | 118.9 | 121.3 | 123.8 | 126.3 | 128.8 | 131.4 | 134.0 | 136.6 | 139.2 | 141.9 | 144.6 | 147.4 | 150.1 | 152.9 | 155.7 | 158.6 | 161.5 | 164.4 |
| 35 | 109.7 | 112.2 | 114.6 | 117.1 | 119.6 | 122.2 | 124.7 | 127.3 | 129.9 | 132.6 | 135.3 | 138.0 | 140.8 | 143.6 | 146.4 | 149.2 | 152.1 | 155.0 | 158.0 | 161.0 | 164.0 | 167.1 | 170.2 | 173.3 |
| 36 | 115.2 | 117.8 | 120.4 | 123.0 | 125.7 | 128.4 | 131.1 | 133.9 | 136.7 | 139.5 | 142.4 | 145.3 | 148.3 | 151.3 | 154.3 | 157.3 | 160.5 | 163.6 | 166.8 | 170.0 | 173.3 | 176.6 | 179.9 | 183.3 |
| 37 | 121.3 | 124.0 | 126.8 | 129.6 | 132.4 | 135.3 | 138.2 | 141.2 | 144.2 | 147.3 | 150.3 | 153.5 | 156.7 | 159.9 | 163.1 | 166.5 | 169.8 | 173.2 | 176.7 | 180.2 | 183.7 | 187.3 | 191.0 | 194.7 |
| 38 | 127.9 | 130.8 | 133.8 | 136.8 | 139.9 | 143.0 | 146.2 | 149.4 | 152.6 | 155.9 | 159.2 | 162.6 | 166.0 | 169.4 | 173.0 | 176.4 | 180.0 | 183.6 | 187.3 | 191.0 | 194.7 | 198.5 | 202.3 | 207.7 |
| 39 | 135.3 | 138.5 | 141.7 | 145.0 | 148.3 | 151.7 | 155.1 | 158.6 | 162.1 | 165.7 | 169.4 | 173.1 | 176.9 | 180.7 | 184.7 | 188.7 | 192.7 | 196.8 | 201.0 | 205.3 | 209.6 | 214.0 | 218.5 | 223.0 |
| 40 | 143.7 | 147.1 | 150.6 | 154.2 | 157.8 | 161.5 | 165.3 | 169.1 | 173.0 | 177.0 | 181.1 | 185.2 | 189.4 | 193.7 | 198.1 | 202.5 | 207.1 | 211.7 | 216.4 | 221.1 | 226.0 | 231.0 | 236.0 | 241.1 |
| 41 | 153.2 | 157.0 | 160.9 | 164.8 | 168.9 | 173.0 | 177.2 | 181.5 | 185.8 | 190.3 | 194.8 | 199.5 | 204.2 | 209.1 | 214.0 | 219.1 | 224.2 | 229.4 | 234.6 | 240.0 | 245.5 | 251.1 | 257.2 | 263.1 |
| 42 | 164.3 | 168.6 | 172.9 | 177.3 | 181.9 | 186.5 | 191.3 | 196.1 | 201.1 | 206.2 | 211.4 | 216.7 | 222.2 | 227.7 | 233.4 | 239.2 | 245.2 | 251.3 | 257.5 | 263.8 | 270.3 | 276.9 | 283.6 | 290.5 |
| 43 | 177.5 | 182.3 | 187.3 | 192.4 | 197.6 | 202.9 | 208.4 | 214.0 | 219.8 | 225.8 | 231.8 | 238.1 | 244.5 | 251.0 | 257.7 | 264.6 | 271.7 | 278.9 | 286.3 | 293.8 | 301.5 | 309.4 | 317.4 | 325.7 |
| 44 | 193.8 | 199.3 | 205.1 | 211.0 | 217.2 | 223.5 | 230.0 | 236.7 | 243.5 | 250.5 | 257.6 | 264.8 | 272.3 | 280.0 | 287.9 | 295.9 | 304.1 | 312.4 | 320.9 | 329.6 | 338.4 | 347.4 | 356.5 | 372.4 |
| 45 | 214.1 | 220.9 | 227.9 | 235.2 | 242.7 | 250.4 | 258.4 | 266.7 | 275.3 | 284.1 | 293.2 | 302.6 | 312.3 | 322.3 | 332.5 | 343.0 | 353.8 | 364.9 | 376.2 | 387.9 | 399.8 | 412.0 | 424.5 | 437.4 |
| 46 | 241.5 | 250.0 | 258.9 | 268.2 | 277.8 | 287.8 | 298.1 | 308.8 | 319.9 | 331.4 | 343.3 | 355.5 | 368.1 | 381.1 | 394.5 | 408.3 | 422.5 | 437.1 | 452.0 | 467.4 | 483.3 | 499.6 | 516.3 | 533.5 |
| 47 | 280.9 | 292.4 | 304.4 | 316.9 | 330.0 | 343.5 | 357.5 | 372.0 | 387.0 | 402.4 | 418.3 | 434.6 | 451.4 | 472.1 | 490.7 | 509.9 | 529.8 | 550.4 | 571.7 | 593.8 | 616.7 | 640.5 | 665.3 | 691.0 |
| 48 | 344.1 | 360.9 | 378.4 | 396.5 | 415.0 | 435.0 | 455.5 | 476.5 | 498.0 | 521.0 | 544.5 | 569.5 | 596.0 | 624.0 | 653.5 | 684.5 | 716.0 | 748.0 | 781.5 | 826.5 | 873.0 | 919.5 | 966.0 | 1011.2 |
| 49 | 401.1 | 428.4 | 457.2 | 487.5 | 519.4 | 553.0 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 17 de 19 |

Kit de análisis Pseudalert*

Introducción

El kit Pseudalert* detecta la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de agua. El análisis se basa en la detección de una enzima bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* que cataliza la hidrólisis del sustrato presente en el reactivo del kit Pseudalert. Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* crecen y se multiplican con rapidez gracias al gran aporte en aminoácidos, vitaminas y otros nutrientes del reactivo del kit Pseudalert. Las cepas en crecimiento activo de *Pseudomonas aeruginosa* poseen una enzima que hidroliza el sustrato del reactivo y produce una fluorescencia azul cuando se expone a la luz ultravioleta UV. Pseudalert detecta bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en 24 horas a una concentración de 1 UFC en muestras de 100 ml o 250 ml.

Conservación

Almacenar a una temperatura entre 2–30°C protegido de la luz.

Procedimiento de presencia/ausencia (P/A)

1. Añadir el contenido de la dosis Snap adecuadamente predispensada a una muestra de 100 ó 250 ml en un recipiente estéril transparente, no fluorescente.
2. Tapar y agitar el recipiente.
3. Incubar a 38 ± 0,5°C durante 24 horas.
4. Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo.



Procedimiento de enumeración Quanti-Tray* (sólo muestras de 100 ml)

1. Añadir el reactivo a una muestra de 100 ml de agua, en un recipiente estéril.
2. Tapar y agitar el recipiente hasta que el contenido se haya disuelto.
3. Añadir 2 gotas de solución antiespumante de IDEXX* a la mezcla muestra/reactivo.
Nota: IDEXX también comercializa recipientes para muestras de 120 ml que ya contienen antiespumante.²
4. Verter la mezcla muestra/reactivo en una Quanti-Tray o Quanti-Tray*/2000 y sellar utilizando un Quanti-Tray* Sealer.
5. Colocar la bandeja sellada en una estufa de incubación a 38 ± 0,5°C durante 24 horas.
6. Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo. Contar el número de pocillos positivos y referirse a la tabla NMP proporcionada con las bandejas para obtener el número más probable.



Interpretación de resultados

| Apariencia | Resultado |
|-------------------------------------|---|
| Sin fluorescencia azul | Muestra negativa para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Con fluorescencia azul [†] | Muestra positiva para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

[†] Intensidad de la fluorescencia azul superior a la de la fluorescencia del control negativo.

- Observar la fluorescencia azul en un ambiente oscuro y con una luz UV de 6 vatios y 365 nm, mantenida a unos 12 cm de la muestra. Aleje la luz de sus ojos y oriéntela hacia la muestra.
- Para los resultados referirse a la guía de lectura - /+ fluorescencia que se incluye en la caja. Estos colores son los que se ven bajo luz UV.
- Los resultados de Pseudalert son definitivos transcurridas 24–28 horas. Además, los positivos para *Pseudomonas aeruginosa* observados antes de 24 horas y los negativos observados después de 28 horas también son válidos.



Notas sobre el procedimiento

- Utilizar solamente agua estéril, no taponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Para poder realizar las comparaciones a la hora de interpretar los resultados, se puede utilizar como blanco agua estéril incubada con el reactivo Pseudalert (control negativo).
- Es posible que este prospecto no refleje la normativa local de su país. Para realizar pruebas que la cumplan, asegúrese de seguir los procedimientos reglamentarios correspondientes.
- Pseudalert es fundamentalmente una prueba para analizar agua. Las características de rendimiento de Pseudalert no se pueden aplicar a muestras que hayan sido alteradas previamente por algún tipo de enriquecimiento o concentración.
- El kit Pseudalert no se ha validado para ser utilizado con muestras de agua embotellada aromatizada, con agua marina o agua carbonatada.
- Siempre debe aplicarse una técnica aséptica cuando se utilice Pseudalert. El material debe desecharse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- La mezcla de reactivo del kit Pseudalert puede volverse turbio cuando la muestra presenta un alto contenido en minerales (especialmente magnesio y/o calcio).

Procedimientos de control de calidad

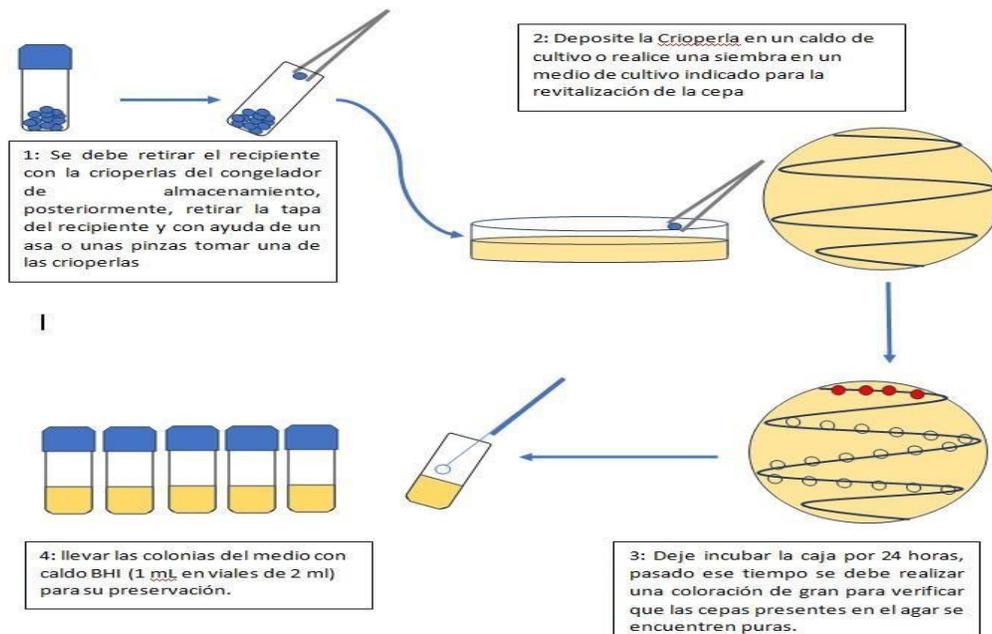
1. Se recomienda uno de los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de Pseudalert:
 - A. IDEXX-QC *Pseudomonas*: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Métodos de control de calidad adicionales:
 - i. Para cada una de las cepas bacterianas de Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC)* (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 o 10145, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525), siembre en estrías el cultivo sobre placas etiquetadas de agar sangre o TSA e incube a 35 ± 0,5°C durante 18 a 24 horas.
 - ii. Para cada cepa bacteriana, recoja una muestra de la colonia con una asa de siembra estéril de 1 µl e inocúlela en un tubo de ensayo marcado que contenga 5 ml de agua desionizada estéril. Cierre la tapa y agite bien.
 - iii. Para cada cepa bacteriana, introduzca una asa de siembra estéril de 1 µl en el tubo de ensayo e inocule con ella un recipiente marcado que contenga 100 o 250 ml de agua desionizada estéril. Las muestras así obtenidas serán sus controles.
2. Siga el procedimiento P/A o el procedimiento de enumeración de Quanti-Tray que se indica más arriba.
3. Los resultados deben coincidir con la tabla de interpretación de resultados que se indica más arriba.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 18 de 19 |

Protocolo de Recuperación de cepas en crioperlas en Microbiología de aguas

1. Para realizar el proceso de recuperación de una cepa preservada en crioperlas, se debe retirar el recipiente con la crioperlas del congelador de almacenamiento, posteriormente, retirar la tapa del recipiente y con ayuda de un asa o unas pinzas tomar una de las crioperlas.
2. Deposite la Crioperla en un medio de cultivo, indicado para la revitalización de la cepa.
3. Deje incubar la caja por 24 horas teniendo en cuenta la temperatura adecuada de incubación para la bacteria que se desea reconstituir, pasado ese tiempo se debe realizar una coloración de Gram para verificar que las cepas presentes en el agar se encuentren puras.
4. Llevar las colonias del medio a Viales con caldo BH (1 mL en viales de 2 mL) para su preservación.
5. Para el control de calidad, tomar un vial con la cepa de trabajo, conservada a -80°C



| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|---|--|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Departamento de Salud Gobernación de Santander</p> | MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE PSEUDOMONA AERUGINOSA EN AGUA DE USO RECREATIVO Y ESTRUCTURAS SIMILARES. MEDIANTE LA TÉCNICA DE SUSTRATO DEFINIDO, PSEUDALERT LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA | CÓDIGO | MI-GS-MA-21 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 22/08/2023 |
| | | PÁGINA | 19 de 19 |

Cepario - congelador a - 80° Celsius

Especificaciones de los microorganismos:

Nombre del microorganismo: *Pseudomona aeruginosa*

Número de catálogo: 0353

Número de lote: 353-272**

Número de referencia: ATCC® 27853™*

Pureza: Pasaje puro de la referencia: 3

Cepa de reserva en pase: 4

Nombre del microorganismo: *Escherichia coli*

Número de catálogo: 0335

Número de lote: 335-235**

Número de referencia: ATCC® 25922™*

Pureza: Pasaje puro de la referencia: 3

Cepa de reserva en pase: 4

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-----------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Vianey Portilla | - | Lenith Acuña |
| 1 | Vianey Portilla | - | Alejandra Galvis Vargas |