

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	1 de 12


*República de Colombia*



*Gobernación de Santander*

# MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	2 de 12

## TABLA DE CONTENIDO


1. OBJETIVO.....	4
2. ALCANCE .....	4
3. RESPONSABILIDADES.....	4
4. DEFINICIONES.....	4
5. CONDICIONES GENERALES .....	5
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO.....	5
7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS .....	5
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA .....	5
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA .....	6
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA .....	6
10.1 Equipos .....	6
10.2 Reactivos.....	6
10.3 Materiales.....	6
10.4 Material de referencia.....	6
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO .....	7
12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO.....	9
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	10
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	10
15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS .....	11
16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA .....	11
17. ANEXOS .....	11

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	3 de 12

18. CONTROL DE CAMBIOS ..... 12

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	4 de 12

## 1. OBJETIVO

Dar los lineamientos para determinar la presencia de heterótrofos en muestras de aguas tratadas, y de uso recreativo, recibidas en el Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander; mediante la utilización del kit HPC para Quany Tray, basado en la técnica enzima sustrato -NMP. Standard Métodos 9215E.

## 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 Heterótrofos mediante la técnica de sustrato definido HPC para Quany Tray, basado en la técnica enzima sustrato NMP. Standard Métodos 9215E.

## 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

**Análisis complementarios:** Procedimiento que se efectúa, para las determinaciones físicas, químicas o microbiológicas, no contempladas en el análisis básico que se enuncian en la Resolución 2115 de 2007 y todas aquellas que se identifiquen en el mapa de riesgo.

**Heterótrofo:** Es un organismo que no puede producir su propio alimento, sino que se nutre de otras fuentes de carbono orgánico, principalmente materia vegetal o animal. En la cadena alimentaria, los heterótrofos son consumidores primarios,

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	5 de 12

secundarios y terciarios, pero no productores. las bacterias, que utilizan el carbono orgánico como fuente única de energía y carbono se denominan heterótrofas

**Sustrato Definido Enzimático:** El kit HPC para la prueba Quanty Tray utiliza sustrato de enzimas múltiples, para la metodología IDEXX, la cual detecta microorganismos heterótrofos viables por medio de la evaluación de la presencia de enzimas múltiples, que se sabe se encuentra en estos microorganismos y se produce fluorescencia azul cuando son metabolizadas por bacterias presentes en el agua

## 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 25 °C, protegido de la luz.
- Utilice agua estéril no tamponada para la dilución
- Para los análisis siga los procedimientos actualizados.
- La muestra de agua se refrigera hasta su procesamiento

## 6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

El kit HPC para Quanty Tray, se utiliza para cuantificación de microorganismos heterótrofos en 100 ml de agua, Se basa en un sustrato con enzimas múltiples metabolizadas por los microorganismos heterótrofos presentes en el agua. La prueba detecta 1NMP/100 ml de muestra, se lee resultados luego de 44 a 72 horas de incubación.


## 7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Las muestras cloradas deben tratarse con tiosulfato de sodio antes de la prueba, si el cloro no se neutraliza se considera una muestra invalida.

## 8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN 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.
- Consultar el Manual de procedimientos para remisión, transporte, almacenamiento y conservación de muestras. unidad de vigilancia de factores de riesgo del ambiente y el consumo. MI-GS-MA-58.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	6 de 12

- Una vez recibida en el Laboratorio de Salud Pública, se da un número consecutivo.

## 9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

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

## 10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

### 10.1 Equipos

- Cabina de seguridad biológica
- Sellador IDEXX Quanti-Tray Sealer Plus
- Incubadora de 36 +/- 2°Celsius.
- Lámpara de luz UV de 6 vatios.

### 10.2 Reactivos

- Reactivo HPC para Quanty Tray
- Agua estéril

### 10.3 Materiales

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

### 10.4 Material de referencia

- Cepas de referencia: Pseudomona aeruginosa ATCC 27853, para control positivo del método.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	7 de 12

## 11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO



1. Tener siempre presentes las normas de bioseguridad necesarias para realizar el procedimiento de análisis.
2. Sacar las muestras de agua, de la nevera y colocarlas en el mesón de trabajo.
3. Alistar los reactivos y materiales de uso para la realización del ensayo.
4. 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.
5. Encender la cabina de seguridad biológica, desinfectar con etanol al 70%.
6. Medir en un recipiente estéril 100 mL de muestra de agua tratada y/o aguas de uso recreativo.
7. Si se diluye la muestra, multiplicar el valor del NMP por el factor de dilución para obtener el resultado.
8. Añadir el contenido de un vial del kit HPC para Quanty Tray al recipiente que contiene la muestra de agua.

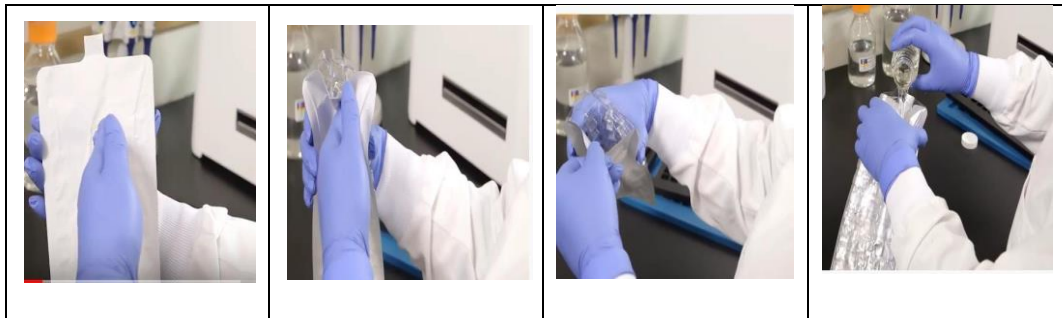


Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	8 de 12

9. Agitar suavemente el recipiente que contiene la mezcla en sentido de las manecillas del reloj hasta disolver.

10. Verter la mezcla de muestra y reactivo en una bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000; con la mano izquierda con los pozos hacia la palma de la mano, añade la muestra, golpee suavemente el extremo inferior de la bolsa para sacar las burbujas



11. La mezcla de la muestra con el reactivo HPC para Quanty Tray se ve de color rosado pálido.



12. En caso de tener más de una muestra, seguir con cada una de ellas el procedimiento descrito anteriormente.

13. Encender el sellador Quanty Tray Sealer.

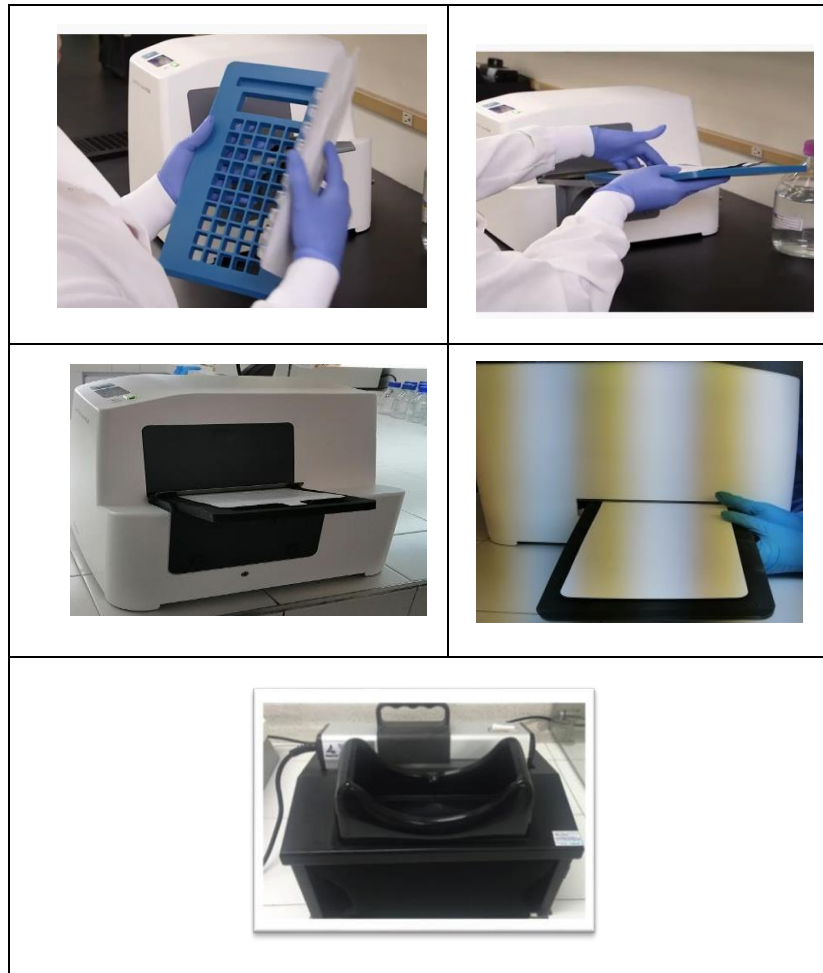
14. Sellar en IDEXX Quanti-tray Sealer Plus (Colocar la bandeja Quanti-tray/2000 sobre la plantilla de caucho. Los pozos de la bolsa deben coincidir con los orificios de la plantillay la parte superior de la bolsa dirigida hacia arriba. Selle y retire la bolsa por la parte posterior del sellador

15. Colocar la bandeja previamente sellada en incubadora a  $36 \pm 2$  °C por 44 horas. Los resultados son válidos hasta 72 horas

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas



	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	9 de 12



16. Transcurrido el tiempo cuente los pozos fluorescentes de color azul (positivo para microorganismos heterótrofos), lea los resultados en la cámara UV. Los resultados negativos no hay fluorescencia.

## 12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO


- Control de esterilidad/ Negativo: Agregar a un frasco estéril, 100 mL de agua estéril, disolver un vial de HPC para Quany Tray. Seguir el procedimiento mencionado anteriormente.

Lectura: No debe tener crecimiento, lo que quiere decir que la bolsa y el HPC para Quany Tray están estériles, libres de contaminación.

- Control Positivo: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, inocule la cepa de referencia *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, disolver un vial de HPC para Quany Tray. Seguir el procedimiento mencionado anteriormente.

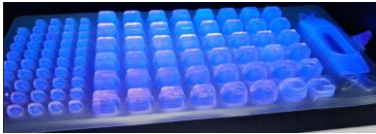
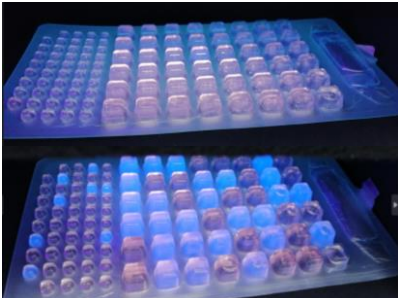
Lectura: Debe tener crecimiento. Resultado positivo pozos con fluorescencia azul.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	10 de 12

### 13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Leer los resultados de acuerdo con el cuadro de interpretación de resultados tabla IDEXX Quany Tray/2000 NMPN

ASPECTO	RESULTADO
Fluorescencia azul 	Positivo para organismos heterótrofos
Sin fluorescencia azul. 	Negativo para organismos heterótrofos

Observar 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.

#### Reporte de resultados.

TÉCNICA USADA	Valores aceptados de Heterótrofos
Sustrato definido HPC para Quany Tray	100 microorganismos en 100 cm <sup>3</sup>


### 14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Para muestras de vigilancia de calidad de agua potable, se reportarán en la herramienta SIVICAP.

Para aguas de uso recreativo se informan resultados en Informe de análisis de calidad del agua para uso recreativo y estructuras similares MI-GS-RG-167.

Para muestras de agua de diagnóstico, se informa en el formato de Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Consumo Humano - MI-GS.RG.293.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	11 de 12

## 15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

Resolución 2115 de 2007. PARAGRAFO 1. Como prueba complementaria se recomienda realizar la determinación de microorganismos mesófilos, cuyo valor máximo aceptable será de 100 UFC en 100 cm<sup>3</sup>

Las bacterias Heterotróficas están presentes en todos los cuerpos de agua y constituyen un grupo de bacterias ambientales de amplia distribución, son indicadoras de la eficacia de los procesos de tratamiento, principalmente de la desinfección (descontaminación).

## 16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

- Decreto 1575 del 9 de mayo de 2007 “Por el cual se establece el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano”.
- Resolución 2115 del 22 de junio de 2007 “Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano”.
- Resolución 811 del 5 de marzo de 2008 “Por medio de la cual se definen los lineamientos a partir de los cuales la autoridad sanitaria y las personas prestadoras, concertadamente definirán en su área de influencia los lugares y puntos de muestreo para el control y la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano en la red de distribución”. Conformado por nueve (9) artículo.
- 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 “
- Standard Methods versión 23 de 2017
- NTC-ISO/IEC 17025 de 2017. Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

## 17. ANEXOS

- Acta de toma de muestra de agua. MI-GS-RG-110.
- Registro rechazo de muestras de agua .MI-GS-RG-165

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas

	<b>MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE HETERÓTROFOS EN AGUA</b> <b>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-65
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	04/05/2023
		PÁGINA	12 de 12

- Informe de Análisis de la Calidad del Agua para uso recreativo y estructuras similares. MI-GS-RG-167
- Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Consumo Humano. MI-GS-RG-293

## 18. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	04/05/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita <b>Líder Grupo LDSP</b>  German Eduardo Marín Cárdenas <b>Director de Salud Integral</b>  Diego Sánchez Báez <b>Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad</b>  César Ernesto Sánchez Aranda <b>Director de Planeación y Mejoramiento en Salud</b>	Javier Alonso Villamizar Suarez <b>Secretario de Salud de Santander</b>

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Vianey Portilla	Vianey Portilla	Alejandra Galvis Vargas