

Guía técnica para detección de SARS-COV-2 y virus de la hepatitis A en aguas residuales de las ciudades de Bucaramanga, Cúcuta y Valledupar como estrategia predictiva de brotes

Technical guide for the detection of SARS-COV-2 and hepatitis A virus in wastewater from the cities of Bucaramanga, Cúcuta and Valledupar as a predictive strategy for outbreaks

 Estefany Belén Martínez-Fuentes¹,  Juan Camilo Acevedo-Paéz²,  Jhoalmis Sierra-Castrillo³,
 Diego Alberto Rincón-Yañez⁴,  Jorge Alexander Silva-Sayago⁵,  María Cristina Vasquez⁶
 ^{1,2,3,4}Universidad de Santander, Cúcuta - Colombia
 ^{5,6}Universidad de Santander, Bucaramanga - Colombia

Recibido: 17 de agosto de 2025.

Aceptado: 15 de diciembre de 2025.

Publicado: 01 de enero de 2026.

Resumen- El presente estudio tiene como objetivo formular una guía técnica para la detección de SARS-CoV-2 y del virus de la hepatitis A (HAV) en aguas residuales, con el fin de unificar criterios para el monitoreo epidemiológico en Colombia. Mediante tres fundamentos principales: el marco normativo vigente, la experiencia del equipo investigador y los documentos científicos disponible. El estudio se desarrolló bajo un diseño descriptivo de carácter longitudinal, basado en un modelo experimental previamente mencionado en documentos de Hata, con adaptaciones del protocolo Berlín-Charité actualmente empleado por el Instituto Nacional de Salud. Para ello, se realizaron muestreos en redes de alcantarillado y plantas de tratamiento en Cúcuta, Bucaramanga y Valledupar. Las muestras fueron sometidas a procesos de laboratorio como concentración viral y análisis molecular mediante RT-qPCR, técnica frecuentemente utilizada para la detección de virus en matrices ambientales.

A partir de la revisión normativa, metodológica y técnica realizada durante el estudio, se identificó la importancia de disponer de procedimientos estandarizados que integren las etapas de muestreo, medición de caudal, procesamiento y análisis de muestras. En este contexto, la guía técnica desarrollada reúne criterios operativos y analíticos orientados a la vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales para SARS-CoV-2 y HAV. Su aplicación resulta pertinente para el contexto colombiano, considerando la circulación de hepatitis A y los antecedentes derivados de la pandemia por COVID-19. La estandarización de estos procedimientos puede favorecer la comparabilidad de los resultados obtenidos entre diferentes puntos de monitoreo y apoyar los procesos de seguimiento epidemiológico. Actualmente, la validación experimental del protocolo continúa en desarrollo, etapa que permitirá evaluar su desempeño y realizar los ajustes requeridos para su implementación.

Palabras clave: SARS-CoV-2, hepatitis A, COVID-19, vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales, estandarización.

Abstract— The objective of this study is to develop technical guidelines for the detection of SARS-CoV-2 and the hepatitis A virus (HAV) in wastewater, with the aim of standardizing criterion for epidemiological monitoring in Colombia. This is based on three main foundations: the current regulatory framework, the research team's experience, and available scientific literature. The study was conducted using a longitudinal descriptive design, based on an experimental model previously described in documents by Hata, with adaptations of the Berlin-Charité protocol currently used by the National Institute of Health. To this end, sampling was conducted in sewer networks and wastewater treatment plants in Cúcuta, Bucaramanga, and Valledupar. The samples underwent laboratory processes such as viral concentration and molecular analysis via RT-qPCR, a technique frequently used for the detection of viruses in environmental matrices.

Based on the regulatory, methodological, and technical review conducted during the study, the importance of having standardized procedures that integrate the stages of sampling, flow measurement, sample processing, and analysis was identified. In this context, the technical guide developed brings together operational and analytical criteria aimed at wastewater-based epidemiological surveillance for SARS-CoV-2 and HAV. Its application is relevant to the Colombian context, given the circulation of hepatitis A and the circumstances arising from the COVID-19 pandemic. Standardizing these procedures can enhance the comparability of results obtained across different monitoring sites and support epidemiological surveillance efforts. Currently, experimental validation of the protocol is ongoing, a phase that will allow for the evaluation of its performance and the implementation of necessary adjustments for its deployment.

Keywords: SARS-CoV-2, hepatitis A, COVID-19, wastewater-based epidemiological surveillance, standardization.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: emartinezfuentes@outlook.com (Estefany Belen Martinez Fuentes).

La revisión por pares es responsabilidad de la Universidad de Santander.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Como citar este artículo: E. B. Martínez-Fuentes, J. C. Acevedo-Paéz, J. Sierra-Castrillo, D. A. Rincón-Yañez, J. A. Silva-Sayago y M. C. Vasquez, "Guía técnica para detección de SARS-COV-2 y virus de la hepatitis A en aguas residuales de las ciudades de Bucaramanga, Cúcuta y Valledupar como estrategia predictiva de brotes", Aibi revista de investigación, administración e ingeniería, vol. 14, no. 1, pp. 01-14 2025, doi: [10.15649/2346030X.5892](https://doi.org/10.15649/2346030X.5892)

I. INTRODUCCIÓN

El estudio de los virus como agentes etiológicos de enfermedades humanas constituye un eje fundamental en salud pública, debido a su capacidad de transmisión, adaptabilidad biológica y el impacto que generan en los sistemas sanitarios. En los últimos años, dos patógenos han adquirido particular relevancia para la vigilancia epidemiológica: el coronavirus SARS-CoV-2, asociado con la pandemia de COVID-19, y el virus de la hepatitis A (VHA), responsable de una de las infecciones entéricas más frecuentes a nivel mundial [1], [2].

A escala internacional, la vigilancia y el control de enfermedades transmisibles siguen actividades fundamentales para la salud pública [1]. En Colombia, la hepatitis A (HAV) se considera una enfermedad endemica intermedia [1] [3]. A nivel nacional, en 2019 en Cúcuta se registraron una incidencia de 7,5 por cada 100.000 habitantes [2]. Asimismo, la pandemia por COVID-19 generó un impacto sanitario en el país. Según los reportes de mayo de 2023, se habían confirmado 6.366.774 casos y 142.741 fallecimientos. Para este periodo, se reportaron 296.330 casos en Santander, 125.332 en Norte de Santander y 109.512 en Cesar, cifras que reflejan el impacto de la pandemia en los departamentos incluidos en el estudio [4]. Respecto a la mortalidad, estos departamentos ocuparon el quinto (8.395 fallecidos), séptimo (5.198 fallecidos) y decimoquinto (2.697 fallecidos) [2]. Bajo este contexto, se requieren herramientas que permitan detectar de manera temprana la circulación de virus en la comunidad. En este sentido el análisis de agua residual representa una alternativa para fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica y aportar información útil para las decisiones en salud pública.

La epidemiología basada en aguas residuales (WBE, por sus siglas en inglés) [5] [6] se ha utilizado como una herramienta para el seguimiento de patógenos excretados por la población a través de sistemas de alcantarillado, mediante recolección periódica de muestras y el uso de técnicas de concentración viral y detección molecular como RT-qPCR [7], [8]. Estudios [7] [8] han reportado resultados favorables en la identificación de la circulación de la circulación de virus y en el seguimiento de tendencias epidemiológicas a partir de las aguas residuales [7], [8]. Sin embargo, factores como la dilución de las muestras, la degradación del material genético y las variaciones en la carga viral pueden influir en los resultados obtenidos, por lo que resulta necesario establecer procedimientos estandarizados que favorezcan la comparabilidad de la información.

Con base en los antecedentes, la guía técnica se desarrolló en tres etapas: (i) revisión de la literatura y del marco normativo aplicable (NTC-ISO 5667 y lineamientos nacionales [9], IDEAM [2]), (ii) documentación y estandarización de los protocolos de muestreo y detección molecular (concentración viral, extracción de ARN y RT-qPCR para SARS-CoV-2 y VHA [10]), y (iii) elaboración del documento guía, integrando los criterios técnicos identificados durante la revisión documental y el análisis metodológico realizado por el equipo investigador. El resultado corresponde a una propuesta técnica que reúne lineamientos para la toma de muestras, el procesamiento analítico y la interpretación de resultados en estudios de vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales.

Esta propuesta responde a la necesidad existente en Colombia de contar con protocolos unificados que garanticen la trazabilidad de los procesos, la armonización metodológica entre laboratorios y la integración efectiva con los sistemas de vigilancia. En este sentido, la guía contribuye a fortalecer los procesos de muestreo y análisis, mejorar la interpretación de los datos y facilitar la implementación de estrategias de monitoreo para virus de interés en salud pública.

Con base en lo anterior, el estudio se orienta a responder las siguientes preguntas de investigación:

¿Es viable técnica y analíticamente implementar un protocolo estandarizado de WBE para la detección y cuantificación de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales urbanas en ciudades de Colombia?

¿Cuál es la utilidad del protocolo de WBE como herramienta complementaria para la detección y seguimiento de virus en comparación con los sistemas de vigilancia epidemiológica convencional?

II. MARCO TEÓRICO

En Colombia se desarrollaron un protocolo orientado a la consolidación de una red nacional de monitoreo del recurso hídrico, en el cual se establecen procedimientos estandarizados para la recolección, análisis y gestión de muestras de agua. El documento define parámetros físicos, químicos y biológicos, así como lineamientos metodológicos que garantizan la calidad, trazabilidad y comparabilidad de los datos. La metodología propuesta se basa en la selección de puntos estratégicos de muestreo en cuencas hidrográficas, combinando técnicas in situ y análisis de laboratorio para asegurar la representatividad de las muestras. Adicionalmente, incorpora criterios rigurosos para la gestión y validación de datos [11].

Este protocolo sirve como referencia metodológica para el presente estudio, al proporcionar criterios técnicos para la toma de muestras, el análisis de parámetros y la gestión de la información asociada a estudios de calidad del agua. Los procedimientos descritos en dicho documento aportaron elementos para la organización y estructuración de las actividades de monitoreo consideradas en esta propuesta.

Un estudio descriptivo transversal en el sistema de tratamiento El Salguero (Valledupar), en el cual se recolectaron muestras de agua residual para análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Se evaluaron variables como pH, temperatura, DBO, DQO, sólidos suspendidos y metales pesados, junto con la caracterización bacteriana mediante diluciones seriadas en medios de cultivo. Los resultados evidenciaron la presencia de microorganismos con actividad enzimática relevante para la degradación de materia orgánica [12], [13].

Desde el enfoque metodológico, este estudio aporta criterios para la selección de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, así como para la estructuración de protocolos de muestreo en sistemas de tratamiento, los cuales son adaptados en el presente trabajo para la caracterización de aguas residuales en el contexto de vigilancia viral.

Han desarrollado un método de concentración de virus entéricos mediante filtración y ultrafiltración tangencial, logrando reducir volúmenes de muestra de 20 L a 6 mL. La validación del método se realizó utilizando controles positivos con Poliovirus Sabin tipo 1, y la detección se efectuó mediante cultivo celular y RT-PCR convencional [14]. Los resultados demostraron la eficiencia del método para recuperar virus incluso en bajas concentraciones, así como su reproducibilidad y rapidez [15].

La información reportada permitió identificar aspectos relevantes para la selección de métodos de concentración viral en muestras de agua, particularmente en lo relacionado con la recuperación de virus y la validación de los procedimientos analíticos empleados.

En un sistema piloto de tratamiento de aguas residuales se evaluó la presencia de virus entéricos mediante técnicas de RT-PCR [16] incluyendo hepatitis A, hepatitis E, enterovirus y calicivirus. Los análisis realizados mostraron la persistencia de estos virus entre la entrada y la salida del sistema de tratamiento, lo que sugiere una capacidad limitada de remoción bajo las condiciones evaluadas. También se reportó la utilidad de los colifagos como indicadores de contaminación viral [17].

Los resultados obtenidos fueron considerados durante la definición de los procedimientos de detección incluidos en la guía técnica, principalmente para la selección de marcadores moleculares y la interpretación de los resultados generados en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Adicionalmente, una revisión de literatura sobre la detección de SARS-CoV-2 y otros coronavirus en aguas residuales evaluó su uso como herramienta de vigilancia epidemiológica. En los estudios analizados se reportó la detección de ARN viral en diferentes matrices ambientales, entre ellas aguas residuales crudas, aguas tratadas y lodos, observándose además una relación con el comportamiento de los casos de COVID-19. Sin embargo, los autores señalaron que la información disponible no permitió demostrar de forma definitiva la presencia de virus infecciosos en dichas matrices [18].

La información recopilada en esta revisión respalda el uso de la epidemiología basada en aguas residuales (WBE) como una herramienta complementaria para el seguimiento de enfermedades infecciosas. En particular, la cuantificación de ARN viral se considera un indicador indirecto de la circulación de patógenos en la población, criterio que fue tenido en cuenta para la estructuración metodológica del presente estudio orientado a la detección y cuantificación de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales [18].

III. METODOLOGÍA

El estudio se desarrolló mediante un diseño observacional de tipo longitudinal, orientado a la construcción y estandarización de un protocolo para vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales (WBE). Las actividades se concentraron en puntos estratégicos ubicados en las ciudades de Cúcuta, Bucaramanga y Valledupar durante el periodo comprendido entre abril y diciembre de 2025. Los sitios de interés incluyeron redes de alcantarillado y plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), seleccionados considerando criterios de representatividad hidráulica, cobertura poblacional y condiciones operativas para el muestreo.

Como primera actividad se revisó información científica relacionada con la detección de SARS-CoV-2 y del virus de la hepatitis A (HAV) en aguas residuales. Esta consulta permitió recopilar antecedentes sobre metodologías de análisis, desempeño de las técnicas utilizadas y criterios de aseguramiento de la calidad reportados en otros estudios. De manera complementaria, se revisaron documentos normativos y lineamientos técnicos, entre ellos la NTC-ISO 5667 (partes 1, 3, 6 y 14) [9] y directrices del IDEAM [2], los cuales sirvieron de base para definir las actividades de muestreo, preservación y manejo de muestras.

Con la información recopilada se establecieron los procedimientos para la recolección, conservación, transporte y análisis de las muestras. Se contempló el uso de muestreo puntual y compuesto, seleccionando cada estrategia según las condiciones del punto de monitoreo y las características del sistema evaluado. La preservación y el transporte se realizaron de acuerdo con la NTC-ISO 5667-3, manteniendo las muestras refrigeradas a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ hasta su procesamiento en laboratorio.

Las actividades de laboratorio incluyeron concentración viral, extracción y purificación de ARN y detección molecular mediante RT-qPCR [12] [19], [20]. Para cada virus se definieron genes diana y controles de calidad destinados a verificar el adecuado funcionamiento del proceso analítico. También se tuvieron en cuenta aspectos relacionados con la recuperación viral, la presencia de inhibidores y la repetibilidad de los resultados. Los datos obtenidos se registraron mediante valores de umbral de ciclo (Ct) y, cuando fue posible, mediante estimaciones de concentración génica.

Adicionalmente, se realizó una prueba piloto de muestreo en puntos seleccionados de las ciudades participantes. Esta actividad permitió identificar aspectos prácticos relacionados con la logística de campo, el transporte, la recepción y el procesamiento de las muestras, información que fue considerada durante la elaboración de la guía técnica.

Para una etapa posterior se diseñó una encuesta estandarizada (Anexo 1), dirigida a laboratorios de salud pública interesados en la aplicación de la guía. El instrumento incluye aspectos relacionados con claridad, completitud, disponibilidad de recursos, logística, aseguramiento de la calidad, factibilidad de implementación e intención de adopción. Su aplicación se plantea como una actividad futura para evaluar el uso de la guía en escenarios reales de vigilancia epidemiológica.

IV. RESULTADOS ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

1. *Evaluar las técnicas existentes para el procedimiento de muestreo para detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales.*

a. Revisar la literatura técnica y normativa disponible sobre métodos de muestreo en aguas residuales

Se revisó la documentación técnica y normativa disponible relacionada con el monitoreo de aguas residuales. A partir de esta información se definieron criterios para la selección de puntos de muestreo, la toma y conservación de muestras, el transporte hacia laboratorio y los requisitos de calidad necesarios para asegurar resultados confiables durante el desarrollo del estudio. Se analizaron los documentos de la serie NTC-ISO

Como resultado de esta revisión, se identificó que la serie NTC-ISO 5667 constituye el marco normativo más completo para el diseño de programas de muestreo, la preservación y manipulación de muestras, el control de calidad y la toma de muestras en diferentes matrices acuáticas. La Tabla I resume las partes analizadas de la norma y su alcance técnico.

Posteriormente, se evaluó la aplicabilidad de cada documento normativo frente a los requerimientos específicos de la vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales (WBE). Este análisis permitió seleccionar aquellas partes de la norma directamente relacionadas con el diseño del protocolo metodológico propuesto, priorizando los criterios asociados con planificación del muestreo, preservación de muestras, control de calidad y procedimientos para aguas residuales y cuerpos de agua superficiales.

TABLA I
PARTES DE LA NTC ISO 5667 GESTIÓN AMBIENTAL Y CALIDAD DEL AGUA

Número y enfoque	Estado	Resumen
Parte 1:2010: Diseño de programas y técnicas de muestreo.	Vigente	Proporciona los lineamientos esenciales para estructurar programas de toma de muestra y seleccionar las técnicas apropiadas para diferentes tipos de agua, incluidos lodos, efluentes y sedimentos. Su contenido establece los fundamentos para planear y ejecutar procesos de muestreo en cualquier contexto hídrico.
Parte 3:2004 Preservación y manejo de las muestras.	Vigente	Describe las recomendaciones generales para asegurar que las muestras de agua se conserven y transporten en condiciones adecuadas, preservando sus características originales. Excluye los procedimientos para muestras microbiológicas.
Parte 6:2014 Muestreo de ríos y arroyos.	Vigente	Presenta los criterios para diseñar y aplicar protocolos de toma de muestra en ríos y arroyos, abarcando tanto las técnicas de recolección como el manejo de los especímenes para su posterior estudio físico y químico.
Parte 10:2020 Muestreo de aguas residuales.	Vigente	Detalla los procedimientos recomendados para planear el muestreo y recolectar muestras de aguas residuales domésticas e industriales en sus diferentes formas, tanto tratadas como sin tratar.
Parte 14:2014 control de la calidad del muestreo y manipulación de aguas ambientales.	Vigente	Presenta técnicas y medidas de aseguramiento y control de calidad aplicadas al muestreo manual de aguas superficiales, subterráneas, residuales y marinas, incluyendo identificación de fuentes de error y pautas de manejo.

Nota. INCONTEC. ISO 5667 Técnicas generales de muestreo.

Tras analizar la información consolidada en la Tabla I, se determinó que solo algunas partes de la serie ISO 5667 se ajustan directamente al alcance del presente estudio. Estas se sintetizan en la Tabla II, seleccionadas en función de su pertinencia conceptual y operativa frente a los objetivos. Su elección responde a que cubren aspectos centrales como diseño de programas de muestreo, preservación de muestras, control de calidad y lineamientos aplicables a cuerpos de agua superficiales.

La NTC-ISO 5667-1 fue tomada como base para definir la planificación y las estrategias de muestreo. La NTC-ISO 5667-3 se empleó para establecer las condiciones de preservación, almacenamiento y transporte de las muestras. Asimismo, la NTC-ISO 5667-6 aportó lineamientos para la selección de los puntos de muestreo y su evaluación, mientras que la NTC-ISO 5667-14 fue considerada para las actividades de aseguramiento y control de calidad desarrolladas durante el trabajo de campo y los análisis de laboratorio, con el fin de minimizar posibles errores en la toma y manipulación de las muestras.

Adicionalmente, se consultó la guía del IDEAM para el monitoreo de vertimientos, la cual sirvió como apoyo para adaptar los procedimientos al contexto colombiano. A partir de este documento se tuvieron en cuenta criterios para la planificación de las campañas de muestreo, el registro y trazabilidad de la información y la gestión de los datos obtenidos durante el estudio.

La información recopilada a partir de estos documentos sirvió como soporte para la elaboración de la guía técnica, permitiendo definir procedimientos uniformes para el muestreo, la preservación, el transporte y el control de calidad en actividades de vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales.

b. Revisar la literatura científica y técnica disponible sobre análisis y detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales

Con el propósito de seleccionar las metodologías analíticas más apropiadas para la guía técnica, se revisaron publicaciones científicas relacionadas con la detección de SARS-CoV-2 y del virus de la hepatitis A (HAV) en aguas residuales. La búsqueda incluyó diferentes técnicas moleculares empleadas para la identificación de material genético viral, entre ellas RT-qPCR, PCR convencional, PCR digital (ddPCR) y amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP). La comparación se enfocó en aspectos como sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y factibilidad de implementación en laboratorios de vigilancia epidemiológica.

De acuerdo con [21], se comparó el desempeño de las técnicas ddPCR, qPCR y LAMP utilizando como referencia un ensayo de PCR autorizado mediante la Emergency Use Authorization (EUA). Los autores observaron que la ddPCR alcanzó una sensibilidad superior a las demás metodologías evaluadas; sin embargo, la qPCR y la técnica LAMP mostraron niveles de especificidad más elevados. En términos generales, las pruebas basadas en amplificación de ácidos nucleicos demostraron un desempeño analítico favorable y una mayor capacidad de detección frente a otros enfoques diagnósticos utilizados en contextos clínicos.

La evidencia consultada indica que la RT-qPCR continúa siendo una de las metodologías más utilizadas para la identificación de SARS-CoV-2, razón por la cual organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) la consideran una técnica de referencia para la detección del virus.

Adicionalmente, los estudios revisados señalan que el rendimiento analítico de estas metodologías puede verse influenciado por variables asociadas al tipo de muestra, la concentración viral presente y los procedimientos de extracción y purificación de ARN empleados durante el procesamiento[21].

TABLA II
COMPARACIÓN DEL DESEMPEÑO ANALÍTICO (SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD) DE LAMP, dPCR Y qPCR

Parámetro	LAMP	dPCR	qPCR
Sensibilidad – Modelo Reitsma	83,3% (76,9-88,2)	94,1% (88,9-96,9)	92,7% (88,3-95,6)
Sensibilidad – Estimación Latent-Class	86,2% (20,7-99,9)	95,8% (54,9-100,0)	93,4% (60,9-99,9)
Especificidad – Modelo Reitsma	96,3% (93,8-97,8)	78,5% (57,4-90,8)	92,9% (87,2-96,2)
Especificidad – Estimación Latent-Class	94,3% (49,1-100,0)	73,8% (0,9-100,0)	93,1% (47,1-100,0)

Fuente: [21].

Los antecedentes disponibles permitieron identificar que las técnicas moleculares aplicadas al análisis de aguas residuales pueden ser utilizadas como una herramienta complementaria para la vigilancia epidemiológica. Diversos estudios han reportado su aplicación en la detección de SARS-CoV-2 y otros virus de interés sanitario, demostrando su utilidad para el seguimiento de la circulación viral en la población. [12].

De manera complementaria, [4] reportó la detección de virus entéricos mediante RT-PCR en tiempo real en el 9,7 % (7/72) de las muestras analizadas, mientras la PCR semianidada, identificó únicamente 1,4 % (1/72), lo que confirma la mayor sensibilidad de la qRT-PCR frente a métodos convencionales. En el caso del virus de la hepatitis A (VHA), se evidenció su presencia en todos los sitios evaluados, con una frecuencia global del 43 % (31/72), distribuyéndose en 35,3 % en agua de río y 37,3 % en agua de presa, confirmando la utilidad de las herramientas moleculares para el seguimiento de este tipo de patógenos en matrices acuosas.

A partir de la información recopilada durante la revisión bibliográfica y de la experiencia técnica del equipo investigador, se definió la RT-qPCR como metodología de referencia para la guía técnica. Su selección respondió a la amplia utilización de esta técnica en estudios de vigilancia epidemiológica, su disponibilidad en laboratorios de salud pública y su desempeño satisfactorio en términos de sensibilidad, especificidad y reproducibilidad para la detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales.

2. Optimizar el protocolo de concentración y extracción viral de especímenes de aguas residuales

a. Selección y definición del método de muestreo para detección SARS-CoV-2 y HAV

Los procedimientos de muestreo fueron establecidos considerando los requisitos normativos aplicables y las condiciones operativas presentes en las ciudades incluidas en el estudio. Como primera actividad, se identificaron posibles puntos de monitoreo en sistemas de alcantarillado, plantas de tratamiento de aguas residuales y otras descargas de interés epidemiológico. La selección final se realizó en conjunto con las entidades responsables de la operación de estos sistemas, teniendo en cuenta aspectos como la ubicación, la población atendida, la facilidad de acceso, las características del caudal y la representatividad hidráulica de cada sitio.

Para el registro de la información obtenida en campo se elaboró un formato estandarizado que incluyó datos de localización, características operativas del punto de muestreo y observaciones técnicas relevantes para la ejecución y seguimiento de las campañas de monitoreo.



Fig. 1: Sitios de muestreo.

La selección de la estrategia de muestreo se realizó con base en la ISO 5667-1:2010 [13], la cual describe diferentes modalidades de recolección, entre ellas muestras puntuales, periódicas, continuas, seriadas y compuestas. Cada alternativa fue revisada según su representatividad, facilidad de aplicación y utilidad para actividades de vigilancia epidemiológica en aguas residuales.

Las muestras puntuales permiten conocer las condiciones presentes en el momento de la toma y pueden utilizarse en evaluaciones preliminares o durante eventos específicos. Por su parte, las muestras compuestas reúnen varias alícuotas obtenidas durante un periodo determinado, permitiendo representar mejor las variaciones que pueden presentarse a lo largo del tiempo. La norma también contempla esquemas de muestreo asociados al tiempo, al volumen y al flujo, así como el uso de muestras de gran volumen cuando se requiere identificar contaminantes presentes en concentraciones bajas.

De acuerdo con las características de los virus analizados y las condiciones del estudio, la guía técnica adoptó el muestreo puntual y el muestreo compuesto como las principales estrategias de recolección. La selección de cada modalidad depende de las condiciones operativas del sitio de monitoreo, la disponibilidad de equipos y los objetivos definidos para cada campaña.

La medición de caudal se incorporó como información complementaria para el análisis de los resultados, siguiendo los procedimientos institucionales y las recomendaciones técnicas aplicables al monitoreo de aguas residuales. Los datos obtenidos se registran en formatos establecidos para facilitar su seguimiento y trazabilidad.

La preservación y el transporte de las muestras se realizaron siguiendo los criterios de la ISO 5667-3, buscando conservar las características de la muestra desde su recolección hasta el análisis en laboratorio. Para estas actividades se utilizaron recipientes plásticos herméticos de un litro, fabricados con materiales adecuados para el almacenamiento de muestras ambientales.



Fig. 2: Recipiente.

Durante la toma de muestras se registran parámetros de campo como pH, temperatura del agua, temperatura ambiente y conductividad. Posteriormente, las muestras se identifican mediante formatos de cadena de custodia y rótulos previamente definidos, con el fin de mantener el registro de cada muestra durante su transporte y procesamiento en laboratorio.

La conservación de las muestras se realiza bajo refrigeración a $4^{\circ}\text{C} \pm 2$, en concordancia con los lineamientos de la ISO 5667-3 y los procedimientos internos del proyecto. Asimismo, las muestras son protegidas de la exposición directa a la luz y de cambios bruscos de temperatura, con el propósito de minimizar alteraciones físicas, químicas o biológicas que puedan afectar la calidad de los resultados.

Finalmente, las muestras son transportadas al laboratorio bajo condiciones controladas y almacenadas temporalmente hasta el inicio de los procedimientos de concentración viral y análisis molecular establecidos en la guía técnica.

b. Determinar métodos análisis de identificación de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales

Análisis fisicoquímicos

La definición de los parámetros fisicoquímicos incluidos en la guía técnica se fundamentó en los lineamientos establecidos por la norma ISO 5667-3, la cual proporciona criterios para la preservación, manejo y almacenamiento de muestras destinadas a análisis ambientales. Con base en estas recomendaciones, se seleccionaron los parámetros considerados relevantes para el control de calidad del muestreo y la caracterización de la matriz de agua residual. Los requisitos asociados al volumen de muestra, tipo de recipiente, preservación y tiempo máximo de almacenamiento fueron consolidados en el instructivo I-TM-01 como parte de la estandarización metodológica propuesta.

Para seleccionar el método de concentración viral

La selección del procedimiento de concentración viral se realizó mediante revisión de la literatura científica relacionada con la recuperación de virus entéricos y SARS-CoV-2 en aguas residuales. Estudios reportados en [2] emplean procesos de floculación inducida por aluminio para la recuperación de SARS-CoV-2, mientras que investigaciones citadas en [8] describen la técnica de adsorción-elución recomendada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para la detección de virus entéricos, incluido el virus de la hepatitis A.

A partir de la comparación de estas metodologías, se definió como procedimiento de referencia la técnica de adsorción-elución utilizando policloruro de aluminio (PAC), debido a su capacidad para favorecer la formación de flóculos que facilitan la recuperación simultánea de partículas virales presentes en la matriz de agua residual. Esta metodología presentó ventajas operativas asociadas a su aplicabilidad en condiciones de laboratorio convencionales y a su uso documentado en estudios de vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales. [21] en [8].

Como parte del aseguramiento de la calidad del proceso de concentración, se incorporó un control viral interno. Diversos autores citados en [22], han utilizado virus sustitutos como hepatitis murina, coronavirus bovino y bacteriófagos para estimar la eficiencia de recuperación. Entre ellos, el bacteriófago Pseudomonas W6 ha demostrado estabilidad y facilidad de cultivo, por lo que fue seleccionado como control interno para verificar el desempeño del procedimiento de concentración y evaluar la recuperación viral obtenida durante el procesamiento de las muestras [22].

Técnicas de extracción y purificación de ácido nucleico

La selección del método de extracción de ARN se fundamentó en estudios que reportan altos niveles de recuperación y pureza mediante tecnologías basadas en perlas magnéticas. Sistemas automatizados como MagNA Pure 96 y diferentes kits comerciales de Qiagen han sido ampliamente utilizados para la extracción de ARN viral en muestras clínicas y ambientales [23] [24].

Con base en estos antecedentes, se adoptó el protocolo descrito en el Nucleic Acid Extraction Kit User Manual, Version 2, utilizando el procedimiento Manual Extraction Standard Workflow [25]. Esta metodología permite obtener ARN de alta calidad y minimizar la presencia de inhibidores que puedan afectar el desempeño de los ensayos moleculares posteriores.

Adicionalmente, se incorporó un control comercial de extracción (Internal RNA Extraction Control-Primer Design), con el propósito de verificar la integridad del ARN recuperado y detectar posibles interferencias durante el proceso de extracción y amplificación [25].

Detección molecular de SARS-CoV-2

La identificación del material genético de SARS-CoV-2 se definió mediante la técnica de RT-qPCR, considerada actualmente el método de referencia para la detección de ARN viral [25]. La selección de esta metodología se sustentó en su elevada sensibilidad analítica, especificidad y amplia implementación en programas de vigilancia epidemiológica.

Se adoptó el protocolo Berlín-Charité descrito en [23] y [26], el cual contempla la amplificación de regiones específicas de los genes E, N y RdRp del genoma viral. Diversos estudios han reportado que el gen E presenta uno de los mejores desempeños analíticos para la detección inicial de SARS-CoV-2 [23].

La metodología incorpora una sonda marcada con fluoróforo FAM para la detección del gen E y utiliza el gen RNase P humano como control interno del proceso, marcado con fluoróforo VIC en [23], [27]. Cada corrida analítica incluye controles positivos, controles negativos y control de extracción, con el fin de verificar la confiabilidad de los resultados y detectar posibles eventos de contaminación cruzada.

Detección molecular del virus de la hepatitis A (HAV)

La detección del virus de la hepatitis A se estableció mediante RT-qPCR utilizando los cebadores y sondas reportados en [19]. Esta técnica incorpora una etapa inicial de transcripción inversa para la obtención de ADN complementario (ADNc), seguida de la amplificación específica de regiones conservadas del genoma viral [28].

La metodología seleccionada amplifica un fragmento de la región no codificante 5', ampliamente utilizada para la identificación molecular de HAV debido a su estabilidad genética y alta conservación entre cepas virales [19], [29].

Los ensayos se realizarán utilizando el kit Luna Universal One-Step RT-qPCR y el sistema QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System [29]. La cuantificación se efectuará mediante curvas estándar construidas a partir de diluciones seriadas de ARN sintético comercial. Cada corrida incluirá controles positivos, controles negativos y controles de extracción, permitiendo verificar la validez de los resultados obtenidos y asegurar el cumplimiento de los criterios de control de calidad establecidos para la guía técnica [29].

3. Construir guía técnica de detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales

a. Definir los elementos estructurales y de contenido de la guía técnica

La estructura de la guía técnica se definió a partir del análisis de los lineamientos establecidos en las normas ISO 5667 partes 1, 3, 6 y 14, seleccionadas por su pertinencia para el diseño de programas de muestreo, preservación de muestras, monitoreo de cuerpos de agua y aseguramiento de la calidad. Con base en la revisión normativa, los resultados obtenidos durante las etapas previas del estudio y los requerimientos operativos identificados para la vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales, se estableció la estructura general del documento guía.

La guía técnica fue estructurada a partir de las necesidades identificadas durante la revisión normativa y bibliográfica realizada en el estudio. El documento incluye apartados relacionados con el alcance de la guía, conceptos básicos, requisitos normativos y actividades necesarias para la detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales. Entre estas actividades se describen la toma de muestras, la medición de caudal, las condiciones de conservación y transporte, los análisis fisicoquímicos y las etapas de laboratorio asociadas a la concentración viral, extracción de ARN y detección molecular.

La distribución de los contenidos se definió buscando que el usuario pueda seguir cada etapa del proceso en el mismo orden en que se desarrolla durante una campaña de monitoreo. Esto facilita la consulta de los procedimientos y favorece que diferentes laboratorios trabajen bajo criterios similares durante la ejecución de las actividades descritas en la guía.

Para la presentación del documento también se elaboró una plantilla institucional ajustada a los lineamientos de la universidad patrocinadora. Durante su construcción se acordó la ubicación de logotipos, espacios para el registro fotográfico y algunos elementos visuales relacionados con los virus incluidos en el estudio.

b. Recomendación de criterios de aceptabilidad para interpretación de los resultados

La evaluación de los resultados obtenidos mediante RT-qPCR se basó en los valores de Ct generados durante cada corrida analítica. Estos valores fueron calculados a partir de curvas de calibración obtenidas mediante diluciones seriadas de controles con concentración conocida, lo que permitió estimar la presencia del material genético viral en las muestras analizadas.

Para la interpretación de los resultados se tomó como referencia un valor de Ct igual o inferior a 35. Este criterio fue seleccionado después de revisar diferentes documentos técnicos y publicaciones relacionadas con la detección molecular de virus en matrices ambientales. Los valores obtenidos permiten diferenciar muestras con presencia detectable de material genético viral respecto a aquellas que se encuentran por debajo de la capacidad de detección del método. Adicionalmente, la información generada puede servir como apoyo para el seguimiento de la circulación viral en la población asociada a cada punto de monitoreo [30], [31].

Los criterios definidos para la identificación de HAV se presentan en la Tabla III.

TABLA III
INTERPRETACIÓN DE RESULTADO HAV

Gen E	Resultado de Ensayo
≤ 35	Positivo HAV
> 35	Negativo HAV
ND	Invalido

En cada corrida analítica se incluirán controles positivos, negativos y de extracción para comprobar que el ensayo se desarrolla adecuadamente y para identificar posibles eventos de contaminación durante el procesamiento de las muestras.

Adicionalmente, algunos estudios han reportado que los valores de Ct pueden utilizarse como un indicador indirecto de la cantidad de material genético detectado. Según lo descrito en [32], ciertos lineamientos de vigilancia consideran que valores comprendidos entre 31 y 35 podrían relacionarse con cargas virales bajas. Sin embargo, esta interpretación debe analizarse con precaución, debido a que puede verse influenciada por factores como el equipo empleado, los reactivos utilizados y los criterios de validación establecidos por cada laboratorio.

De manera similar, estudios que evalúan ensayos dúplex para SARS-CoV-2 han evidenciado que las principales diferencias diagnósticas se presentan en muestras con valores de Ct superiores a 34, las cuales generalmente corresponden a bajas concentraciones del virus [31].

Con base en el protocolo Berlín-Charité adoptado por el equipo investigador, se definieron los criterios de interpretación para SARS-CoV-2 mostrados en la Tabla V. Dichos criterios consideran la amplificación del gen E como marcador de detección viral y el gen RNase P humano como control interno de calidad para verificar la adecuada extracción y amplificación del material genético [33].

Con base en el protocolo Berlín-Charité adoptado por el equipo investigador, se definieron los criterios de interpretación para SARS-CoV-2 mostrados en la Tabla IV.

TABLA IV
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE COVID-19

#	Gen E	Gen Rnasa	Resultado de Ensayo
1	≤ 35	≤ 30	Positivo Covid – 19
2	≤ 35	ND	Positivo Covid – 19
3	ND	≤ 30	Negativo Covid -19
4	ND	ND	Invalido

ND: No detectado.

Cada corrida de RT-qPCR incluirá dos controles positivos, dos controles negativos y un control de extracción, con el fin de garantizar el aseguramiento interno de la calidad y verificar la ausencia de contaminación cruzada durante el proceso analítico.

Los resultados obtenidos mediante esta metodología podrán emplearse como una herramienta de apoyo para la toma de decisiones en salud pública. El monitoreo de aguas residuales genera información que ayuda a conocer el comportamiento de los virus en una comunidad. A partir de estos resultados es posible observar variaciones en la carga genética detectada y contar con elementos de apoyo para el seguimiento de las medidas sanitarias aplicadas en cada territorio [34]. En consecuencia, la interpretación estandarizada de los resultados constituye un elemento esencial para fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica y contribuir a la detección temprana de posibles brotes de SARS-CoV-2 y HAV.

c. Validar y socializar la guía técnica

Durante el desarrollo del estudio se llevó a cabo una prueba piloto de muestreo puntual en los sitios seleccionados, contando con acompañamiento técnico en dos puntos ubicados en la ciudad de Cúcuta. Esta actividad permitió poner en práctica los procedimientos definidos para las actividades de campo y laboratorio, así como identificar los requerimientos logísticos asociados al transporte, recepción y procesamiento de las muestras (ver Apéndice 6. Ficha técnica de visita a campo).

Las observaciones obtenidas durante esta experiencia fueron consideradas para la revisión de aspectos relacionados con la selección de puntos de muestreo, cadena de custodia, rotulación, conservación, transporte y recepción de muestras, fortaleciendo la consistencia de los procedimientos incluidos en la guía.

Con el fin de contar con un mecanismo de evaluación del documento, se diseñó una encuesta estructurada dirigida a coordinadores, jefaturas y personal técnico de laboratorios de salud pública. El instrumento contempla criterios relacionados con claridad, pertinencia, completitud, factibilidad de implementación y utilidad de los procedimientos descritos. La encuesta permitirá conocer la opinión del personal que participe en la revisión de la guía. Los comentarios y recomendaciones obtenidos podrán utilizarse para ajustar algunos procedimientos y fortalecer futuras versiones del documento.

También se plantea realizar jornadas de socialización con entidades que desarrollan actividades de vigilancia epidemiológica y monitoreo ambiental. Estas jornadas permitirán presentar el contenido de la guía, explicar los procedimientos propuestos y promover su uso como apoyo para la detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales.

V. CONCLUSIONES

La consulta de documentos técnicos, normativos y publicaciones científicas permitió reunir la información necesaria para la elaboración de la guía. La revisión realizada mostró la existencia de referentes nacionales e internacionales aplicables al monitoreo de aguas residuales, así como el uso extendido de la RT-qPCR para la detección de SARS-CoV-2 y HAV debido a su desempeño analítico y disponibilidad en laboratorios de salud pública.

La información recopilada durante el estudio sirvió para organizar los procedimientos incluidos en la guía técnica. Estos abarcan actividades relacionadas con la selección de puntos de muestreo, recolección de muestras, medición de caudal, conservación, transporte, concentración viral, extracción de ARN y detección molecular, integrando las diferentes etapas requeridas para el monitoreo de virus en aguas residuales.

Las actividades preliminares desarrolladas en campo aportaron información práctica sobre las condiciones de muestreo y el manejo de las muestras. La experiencia obtenida permitió reconocer aspectos logísticos que deben considerarse durante la ejecución de campañas de monitoreo y durante el procesamiento de las muestras en laboratorio.

Uno de los productos obtenidos fue una guía técnica para la detección de SARS-CoV-2 y HAV en aguas residuales. El documento reúne recomendaciones, procedimientos y consideraciones operativas que pueden servir de referencia para entidades interesadas en implementar actividades de monitoreo con fines de vigilancia epidemiológica.

La guía propuesta ofrece una herramienta de consulta para laboratorios, autoridades sanitarias e instituciones relacionadas con el monitoreo ambiental. Su contenido busca facilitar la aplicación de procedimientos homogéneos y apoyar la generación de información útil para el seguimiento de eventos de interés en salud pública.

El trabajo realizado también permitió integrar conocimientos relacionados con normatividad técnica, gestión de calidad, muestreo ambiental y biología molecular. La información recopilada durante el proyecto puede servir como punto de partida para futuras actividades de validación, implementación y desarrollo de programas de vigilancia epidemiológica ambiental en Colombia.

VI. RECOMENDACIONES

Se considera importante realizar actividades de capacitación y divulgación sobre el contenido de la guía técnica, dirigidas a laboratorios, entidades ambientales, instituciones académicas y autoridades sanitarias interesadas en la vigilancia epidemiológica basada en aguas residuales. Esto facilitaría la comprensión de los procedimientos propuestos y favorecería su aplicación en futuros programas de monitoreo.

También resulta conveniente poner en práctica la guía en diferentes ciudades y escenarios operativos, con el fin de conocer su comportamiento bajo distintas condiciones de muestreo, transporte y análisis. La experiencia obtenida durante estas aplicaciones podrá aportar información útil para realizar ajustes y fortalecer algunos procedimientos incluidos en el documento.

Como proyección futura, podría ampliarse el uso de la metodología para la detección de otros agentes presentes en aguas residuales. Además de virus de interés sanitario, sería posible considerar microorganismos emergentes o compuestos asociados al consumo de sustancias psicoactivas, generando información complementaria para actividades de vigilancia ambiental y salud pública [35].

Otro aspecto que merece ser estudiado es el uso de tecnologías que permitan obtener resultados en menor tiempo. La incorporación de estas herramientas podría complementar los métodos actualmente utilizados y facilitar el seguimiento oportuno de eventos de interés sanitario.

Finalmente, se propone consolidar los resultados obtenidos mediante un boletín epidemiológico que reúna la información generada durante las actividades de monitoreo. Este mecanismo permitiría consultar la evolución de los resultados a lo largo del tiempo y disponer de información organizada para apoyar las actividades de seguimiento realizadas por las entidades competentes.

VII. AGRADECIMIENTOS O FINANCIAMIENTO

Expreso mi agradecimiento a la Universidad patrocinadora por el acompañamiento recibido durante el desarrollo de este estudio, así como por la formación académica y las oportunidades que hicieron posible la ejecución de este trabajo.

De manera particular, se agradece a los tutores Oscar José Cáceres Rincón y Juan Camilo Acevedo por su orientación, disposición y aporte técnico durante las diferentes etapas del proyecto, contribuyendo significativamente a la estructuración metodológica y al fortalecimiento de los resultados obtenidos.

Asimismo, se reconoce el apoyo del equipo investigador del estudio "Detección de SARS-CoV-2 y Virus de la Hepatitis A en aguas residuales de Bucaramanga, Cúcuta y Valledupar como estrategia predictiva de brotes, estudio multicéntrico (CIF0300-23)", por su colaboración, intercambio de conocimientos y participación en las actividades desarrolladas.

Finalmente, se agradece a M.A.P.G. Ingeniería Civil S.A.S. por el apoyo institucional brindado y por facilitar las condiciones necesarias para la participación en reuniones técnicas, actividades de coordinación y visitas de campo asociadas al desarrollo de la investigación.

VIII. REFERENCIAS

- [1] World Health Organization (WHO), «declares the ongoing monkeypox outbreak a public health emergency of international concern,» Internacional, 2022. doi: [10.1016/j.ijisu.2022.106850](https://doi.org/10.1016/j.ijisu.2022.106850).
- [2] W. Randazzo y et al, «Metropolitan wastewater analysis for COVID-19 epidemiological surveillance,» Int. J. Hyg. Environ. Health, vol. 230, n° 113621, 2020. Doi: [10.1016/j.ijheh.2020.113621](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113621).
- [3] Ministerio de Salud, «Situación epidemiológica de Hepatitis A,» 2019.
- [4] Ministerio de Salud de Colombia, «Situación COVID-19 Colombia,» 2023.
- [5] M. Hellmér, N. Paxéus, L. Magnus, L. Enache, B. Arnholm, A. Johansson y T. Bergström, «Detection of Pathogenic Viruses in Sewage Provided Early Warnings of Hepatitis A Virus and Norovirus Outbreaks,» Applied and Environmental Microbiology, vol. 80(21), p. 6771–6781, 2014. doi: [10.1128/AEM.01981-14](https://doi.org/10.1128/AEM.01981-14).
- [6] Zhai, Y., & Wu, C. (Eds.). (2026). Routledge International Handbook of the COVID-19 Pandemic in China (1st ed.). Routledge. <https://doi.org/10.4324/9781003632757>.
- [7] A. Hata, Y. H. Hara, Y. Meuchi, S. Imai y R. Honda, «Detection of SARS-CoV-2 in wastewater in Japan during a COVID-19 outbreak,» Sci. Total Environ., vol. 758, p. 143578, 2021. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.143578](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143578).
- [8] I. Ouadani y et al, «Detection and molecular characterization of HAV in Tunisian wastewater,» Appl. Environ. Microbiol., vol. 82, n° 3834–3845, p. 13, 2016. doi: [10.1128/AEM.00619-16](https://doi.org/10.1128/AEM.00619-16).
- [9] S. Hernández y L. Mendoza, «Los métodos mixtos,» 2008.
- [10] Instituto Nacional de Salud, «Protocolo de Vigilancia de Hepatitis A,» INS, Colombia, 2022.
- [11] L. Vlack, y H. Van, «Elements of Materials Science and Engineering,» Addison-Wesley, 1990.
- [12] Prevention, Centers for Disease Control and, «Developing a Wastewater Surveillance Sampling Strategy,» 2022. [En línea].
- [13] Organización Internacional de Normalización (ISO), «ISO 5667-1,» Water quality, 2004.
- [14] D. Chen y . Z. Lohwasser, «Friction Stir Welding,» Univ. Waikato, 2009.
- [15] D. Peláez, D. Martínez Vargas, M. Escalante Mora, M. Palacios Vivero y L. Contreras Gómez, «Infección simultánea por el virus de la hepatitis E y de otras hepatitis virales en Colombia y su caracterización genotípica,» Instituto Nacional de Salud Biomedica, vol. 36, pp. 69-78. doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2957>.
- [16] E. Reber, «Oxygen absorption in the earth's atmosphere,» Aerospace Corp, Tech. Rep, 1988.
- [17] R. Romero, A. Galindo, O. Díaz Suárez, Z. Rivero, M. Bracho, M. Soler y M. Suárez, «Detección de virus entéricos en un sistema piloto de tratamiento de aguas residuales municipales,» Kasmera, pp. 52-65, 2014. doi: <https://produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/kasmera/article/view/8654>.
- [18] S. R. Cruz Cruz, C. L. Marlene y M. Ovilla Muñoz, «Revisión rápida: monitoreo de la presencia e infectividad del virus SARS-CoV-2 y otros coronavirus en agua residuales,» Salud Pública de México, 2020. doi: <https://doi.org/10.21149/11783>.
- [19] V. N. Okoh y A. I. Chigor, «Quantitative RT-PCR detection of hepatitis A virus, rotaviruses and enteroviruses...,» nt. J. Environ. Res. Public Health, vol. 9, n° 4017–403, p. 11, 2012. doi: [10.3390/ijerph9114017](https://doi.org/10.3390/ijerph9114017).
- [20] A. Serrano Cumplido, «Application of Ct values in COVID-19,» Semergen, vol. 47, n° 337–341, p. 5, 2021. doi: [10.1016/j.semerg.2021.05.003](https://doi.org/10.1016/j.semerg.2021.05.003).
- [21] C. Mendoza y B. D. Restrepo, «Evaluación de Bacterias con Posible Potencial Biorremediador Presentes en el Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales El Salguero de Valledupar en el Año 2019,» Universidad de santander, vol. 8, p. 75, 2020. doi: <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/5891>.
- [22] N. Pino y et al, «Detection of SARS-CoV-2 in wastewater is influenced by sampling time and target analyzed,» J. Water Health, vol. 19, pp. 775-784, 2021. doi: [10.2166/wh.2021.133](https://doi.org/10.2166/wh.2021.133).
- [23] V. M. Corman, O. Landt, M. Kaiser, R. Molenkamp, A. Meijer, D. K. Chu, T. Bleicker, S. Brünink, J. Schneider, M. L. Schmidt, D. G. Mulders, B. L. Haagmans, V. B. vander, B. S. van den y L. Wijsman, «Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR,» Euro Surveill, p. 25, 2020. doi: [10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045).
- [24] A. Abutaleb and S. Kottitil, «Hepatitis A,» Gastroenterology Clinics of North America, vol. 49, no. 2, pp. 191–199, Mar. 2020, doi: [10.1016/j.gtc.2020.01.002](https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.01.002).
- [25] Panamerican health organization-PAHO/world health organization-WHO., «Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019,» PAHO/WHO, Washington D.C., 2020.
- [26] C. A. Ortega Pérez, N. Rigoberto Rivera, J. J. Vindell y M. Y. Ayala, «"Evaluation of the relationship between the cycle,» Revista Minerva, 2024. doi: <https://doi.org/10.5377/revminerva.v7i4.19264>.
- [27] Biosynex, «BIOSYNEX AMPLIQUICK SARS-CoV-2,».
- [28] I. Lo Castro, C. Espul, V. de Paula, N. Altabert, J. Gonzalez, B. Lago y L. Villar, «High prevalence of hepatitis A and E viruses in environmental and clinical samples from West Argentina,» Braz J Infect Dis., 2023. doi: [10.1016/j.bjid.2022.102738](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102738).
- [29] J. Wu, «Technical framework for wastewater-based epidemiology of SARS-CoV-2,» Sci. Total Environ, vol. 791, 2021. doi: [10.1016/j.scitotenv.2021.148271](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148271).
- [30] f. Araf, F. Akter, Y. Tang, Y. Dong y R. Fatemi, «Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines,» Journal of Medical Virology, n° 1825–1832, p. 94, 2022. doi: [10.1002/jmv.27588](https://doi.org/10.1002/jmv.27588).
- [31] K. Palacio Rua, J. F. García Correa, W. Aguilar Jiménez, C. Afanador Ayala, M. T. Rugeles y A. F. Zuluaga, «The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information,» Elsevier, 2020. doi: [10.1016/j.eimc.2022.04.014](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2022.04.014).
- [32] M. Fatima, «Guidelines in wastewater-based epidemiology of SARS-CoV-2,» 2021. doi: <https://doi.org/10.48550/arXiv.2401.01367>.

- [33] G. Islam, A. Gedge, J. L. Lara, A. Kirkwood y D. Simmons, «Pasteurization , storage conditions and viral concentration methods in fl uence RT-qPCR detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater.,» Science of the Total Environment, p. 821, 2022. . doi: [10.1016/j.scitotenv.2022.153228](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153228).
- [34] C. Fernández, J. Navajas, O. Gestal, R. M. Delgado , M. F. Bolúmar , C. R. Herruzo y M. L. Serra , «Medicina preventiva y salud pública.,» Piédrola Gil., vol. 12, p. 1162, 2016.
- [35] Organización Panamericana de la Salud, «Lineamientos para vigilancia ambiental,» 2021. [En línea].

IX. ANEXOS

Anexo 1.

TABLA VI
PARTES DE LA NTC ISO 5667 GESTIÓN AMBIENTAL Y CALIDAD DEL AGUA

Número y enfoque	Estado	Resumen
Parte 1:2010: Diseño de programas y técnicas de muestreo	Vigente	Proporciona los lineamientos esenciales para estructurar programas de toma de muestra y seleccionar las técnicas apropiadas para diferentes tipos de agua, incluidos lodos, efluentes y sedimentos. Su contenido establece los fundamentos para planear y ejecutar procesos de muestreo en cualquier contexto hídrico.
Parte 3:2004 Preservación y manejo de las muestras.	Vigente	Describe las recomendaciones generales para asegurar que las muestras de agua se conserven y transporten en condiciones adecuadas, preservando sus características originales. Excluye los procedimientos para muestras microbiológicas.
Parte 4:2016 Muestreo en lagos naturales y artificiales	Vigente	Incluye orientaciones para preparar y desarrollar programas de muestreo en lagos naturales y artificiales, tanto en aguas abiertas como en zonas con hielo. También contempla situaciones con o sin presencia de vegetación acuática.
Parte 5:2008 Muestreo de agua potable, de instalaciones y sistemas de tubería.	Reaprobada	Especifica los principios aplicables al muestreo de agua para consumo humano, ya sea en su estado original o tratada. También cubre el muestreo en procesos productivos en los que el agua pueda influir en la inocuidad de los alimentos finales.
Parte 6:2014 Muestreo de ríos y arroyos	Vigente	Presenta los criterios para diseñar y aplicar protocolos de toma de muestra en ríos y arroyos, abarcando tanto las técnicas de recolección como el manejo de los especímenes para su posterior estudio físico y químico.
Parte 7:1996 Muestreo de agua y vapor en calderas.	Reaprobada	Ofrece procedimientos y ejemplos de equipos para muestreo de agua y vapor en calderas, con el fin de obtener resultados representativos para análisis químicos del sistema evaluado.
Parte 8:1993 Muestreo de deposiciones húmedas.	Vigente	Orienta sobre la planificación del muestreo y la selección de equipos adecuados para analizar deposiciones húmedas. No abarca el estudio de lluvias, nieblas u otras formas de precipitación diferentes
Parte 9:2018 Muestreo de aguas marinas.	Reaprobada	Proporciona una guía para muestreos en aguas marinas, desde zonas de marea hasta mar abierto. Incluye principios para la manipulación y conservación de muestras, excepto las de propósito microbiológico.
Parte 10:2020 Muestreo de aguas residuales	Vigente	Detalla los procedimientos recomendados para planear el muestreo y recolectar muestras de aguas residuales domésticas e industriales en sus diferentes formas, tanto tratadas como sin tratar.
Parte 11:2021 Muestreo de aguas subterráneas.	Vigente	Establece las consideraciones necesarias para tomar muestras de aguas subterráneas saturada o no saturada, y orienta sobre su uso para evaluar calidad, contaminación y gestión de las fuentes hídricas.
Parte 12:2017 Guía para el muestreo de sedimentos de fondo de ríos, lagos y estuarios.	Vigente	Define los procedimientos para recolectar sedimentos no consolidados de ríos, estuarios y lagos, permitiendo analizar sus particularidades físicas, químicas, biológicas y microbiológicas. También incluye guías para obtener testigos de sedimentos
Parte 13:2011 Guía para el muestreo de lodos	Vigente	Ofrece instrucciones para muestrear lodos provenientes de plantas de tratamiento y procesos industriales, así como lodos con características similares. También orienta sobre técnicas de muestreo.
Parte 14:2014 control de la calidad del muestreo y manipulación de aguas ambientales	Vigente	Presenta técnicas y medidas de aseguramiento y control de calidad aplicadas al muestreo manual de aguas superficiales, subterráneas, residuales y marinas, incluyendo identificación de fuentes de error y pautas de manejo.
Parte 15:2009 Conservación y manipulación de muestras de lodos y sedimentos	Vigente	Indica cómo preservar, manipular y almacenar muestras de lodos, sedimentos y materiales en suspensión para análisis físicos, químicos, biológicos o radioquímicos en el laboratorio.
Parte 16:2017 Análisis biológico de muestras	Vigente	Proporciona orientaciones para el muestreo, pretratamiento y evaluación de especímenes ambientales destinadas a pruebas biológicas, considerando posibles interferencias en los ensayos.
Parte 17:2008 Muestreo de sólidos en suspensión a granel	Vigente	Aborda la toma de muestras de sólidos suspendidos en ríos y arroyos, aunque también puede aplicarse a lagos y embalses. Se centra en obtener muestras para estudios de calidad del agua dulce.

Parte 18:2003 Muestreo de agua subterránea en sitios contaminados.	Vigente	Ofrece pautas para la toma de muestras de aguas subterráneas en áreas potencialmente contaminadas, considerando los factores necesarios para analizar su calidad y nivel de afectación.
Parte 19:2005 Muestreo de sedimentos marinos.	Reaprobada	Orienta el proceso de muestreo de sedimentos marinos, incluyendo la planificación, selección de dispositivos, registro de observaciones y procedimientos para empacar, almacenar y transportarlos ítems de ensayo.
Parte 20:2008 Uso de los datos para la toma de decisiones	Vigente	Expone principios y métodos para utilizar datos de muestreo en la toma de decisiones sobre calidad del agua, especialmente en la verificación de umbrales, clasificación y evaluaciones de cumplimiento.
Parte 21:2010 Muestreo de agua potable distribuida por camiones cisterna o por medios distintos de las tuberías de distribución	Vigente	Define los lineamientos para la toma de muestra de agua potable distribuida mediante transporte cisterna u otros diferentes a redes de tuberías, especialmente cuando el agua se usa para consumo humano.
Parte 22:2010 Diseño y la instalación de puntos de control de las aguas subterráneas	Vigente	Incluye directrices para diseñar e instalar puntos de control de calidad de aguas subterráneas, considerando su representatividad, los materiales utilizados y la protección de la integridad de las muestras.
Parte 23:2011 Muestreo pasivo en aguas superficiales	Vigente	Describe los procedimientos para realizar muestreos pasivos en aguas superficiales y determinar concentraciones promedio de compuestos orgánicos, organometálicos e inorgánicos, incluidos metales.
Parte 24:2016 Auditoría del muestreo de la calidad del agua	Vigente	Establece un protocolo para auditar las prácticas de muestreo de calidad del agua, evaluando la conformidad entre los procedimientos ejecutados en campo y los establecidos en el manual de toma de muestra.
Parte 26:2022 Muestreo de los parámetros del sistema oceánico de dióxido de carbono.	Vigente	Especifica cómo recolectar muestras discretas de agua de mar para el estudio de carbono inorgánico disuelto, alcalinidad, pH y fugacidad de CO ₂ mediante muestreadores tipo Niskin u otros dispositivos similares.
NTC 667:2019 Método de ensayo para determinar la contracción química de la pasta de cemento hidráulico.	Vigente	Define el método de ensayo para medir la contracción química en pastas de cemento hidráulico mediante técnicas volumétricas o de densidad, siguiendo los lineamientos internacionales del Comité OTC de la OMC.

Nota. INCONTEC. ISO 5667 Técnicas generales de muestreo.

Anexo 2.

Encuesta estandarizada sobre la guía WBE

Objetivo

Evaluar claridad, completitud y factibilidad de implementar la guía WBE en laboratorios de salud pública de Cesar, Santander y Norte de Santander, diferenciando percepciones de coordinadores y técnicos de biología/microbiología molecular,

Aplicación

Autoadministrada (digital), Tiempo: 8–12 min,
Escala Likert (1–5):

1. Totalmente en desacuerdo
2. En desacuerdo
3. Ni de acuerdo ni en desacuerdo
4. De acuerdo
5. Totalmente de acuerdo
6. No aplica

A, Metadatos

A1, Ciudad: ____ Departamento: ____

A. Nombre Completo:

A2, Rol (marque uno): ☐ Coordinación/Jefatura ☐ Técnico(a) de biología/microbiología molecular

A3, Formación académica principal: ____ Posgrado: ☐ MSc ☐ PhD ☐ Postdoc ☐ Ningun

Lógica:

- Si A3=Coordinación → contestar B1 + C + D
- Si A3=Técnico(a) → contestar B2 + C + D

B1, Módulo Coordinación/Jefatura (gestión, permisos, recursos)

Recursos e infraestructura

R1, Cadena de frío 0–6 °C para transporte ≤6 h garantizada, (Sí/No)

R2, Freezer –80 °C disponible y operativo, (Sí/No)

R3, Termociclador RT-qPCR operativo y reactivos asegurados por ≥3 meses, (1–5; NA)

R4, Presupuesto identificado para implementar la WBE, (Sí/No)

Gobernanza y articulación

G1, Respaldo formal de la autoridad sanitaria para WBE, (1–5)

G2, Acuerdos (o facilidad para lograrlos) con acueducto/alcantarillado para acceso a PTAR/redes/ríos, (1–5)

Logística y seguridad

L1, Puntos de muestreo propuestos accesibles y seguros, (1–5)

L2, Capacidad para muestreo compuesto semanal (12–24 h), (1–5)

Intención y horizonte

I1, Probabilidad de implementar la guía en 6 meses, (0–10)

I2, Horizonte estimado: ☐ <3 m ☐ 3–6 m ☐ 7–12 m ☐ >12 m ☐ No planeado

I3, Aceptabilidad institucional para priorizar WBE frente a otras tareas, (1–5)

I4, Suficiencia de personal para implementar la guía, (1–5)

B2, Módulo Técnico(a) (comprensión, operación, QA/QC)

Comprensión de la guía

T1, Entiendo el flujo completo muestreo → concentración → extracción → RT-qPCR → reporte, (1–5)

T2, Las instrucciones de muestreo (puntual/compuesto) me resultan claras, (1–5)

T3, Los criterios de reporte son inequívocos, (1–5)

Recursos y ejecución

T4, Disponemos de insumos y equipos para concentración y extracción, (1–5)

T5, Podemos mantener temperatura y tiempos de transporte/preservación especificados, (1–5)

T6, Podemos procesar duplicados y controles (blancos, proceso, inhibición) de forma rutinaria, (1–5)

Probabilidad de lograrlo con/sin capacitación

T7, Con recursos actuales y sin capacitación adicional, puedo implementar la guía, (1–5)

T8, Con capacitación breve (≤8 h), puedo implementarla, (1–5)

T9, Horas de capacitación necesarias para sentirme preparado: ☐ 0–4 ☐ 5–8 ☐ 9–16 ☐ >16

Intención personal y barreras

T10, Intención personal de aplicar la guía en los próximos 12 meses, (0–10)

T11, Principales barreras técnicas percibidas: ____ (respuesta corta)

C, Dominios transversales (para ambos roles)

Claridad

C1, Instrucciones de muestreo claras y secuenciales, (1–5; NA)

C2, Glosario/definiciones facilita términos técnicos, (1–5; NA)

C3, Figuras/diagramas ayudan a entender el proceso, (1–5; NA)

C4, Formatos (cadena de custodia, ficha de sitio, registro) fáciles de diligenciar, (1–5; NA)

C5, Criterios de reporte explicados sin ambigüedad, (1–5; NA)

C6, Coherencia interna entre secciones de la guía, (1–5; NA)

Compleitud

K1, La guía cubre muestreo, preservación, transporte, concentración, extracción, RT-qPCR y reporte, (1–5; NA)

K2, Define controles de calidad y criterios de aceptación, (1–5; NA)

K3, Incluye requisitos de bioseguridad y evaluación de riesgos, (1–5; NA)

K4, Presenta requisitos mínimos de equipamiento/insumos y alternativas, (1–5; NA)

K5, Provee criterios de decisión (retest, manejo de ND, acciones correctivas), (1–5; NA)

K6, Contiene anexos y plantillas editables suficientes, (1–5; NA)

Factibilidad

F1, Compatible con normatividad/procedimientos vigentes de mi institución, (1–5)

F2, Aceptaría implementarla en 6–12 meses en mi institución, (1–5)

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Metadatos

A1, Ciudad: ____ Departamento: ____

B. Nombre Completo:

A2, Rol (marque uno): ☐ Coordinación/Jefatura ☐ Técnico(a) de biología/microbiología molecular

A3, Formación académica principal: ____ Posgrado: ☐ MSc ☐ PhD ☐ Postdoc ☐ Ningun

Encuesta sobre la Guía Técnica de Vigilancia Basada en Aguas Residuales (WBE)

Título del estudio: Evaluación de claridad, completitud y factibilidad de la guía WBE en laboratorios de salud pública

Institución responsable: XXXXXXXXXXXX, Estudio: *DETECCIÓN DE SARS-CoV-2 Y VIRUS DE LA HEPATITIS A EN AGUAS RESIDUALES DE BUCARAMANGA, CÚCUTA Y VALLEDUPAR COMO ESTRATEGIA PREDICTIVA DE BROTES, ESTUDIO MULTICÉNTRICO* (CIF0300-23)

Investigador(a) principal: – Correo: [email] – Tel.: [teléfono]

Ciudad/País: [Ciudad], Colombia

Versión: v1,0 – Fecha: [dd/mm/aaaa]

Comité de ética: Comité Institucional de Bioética (Acta N.º 015, febrero 2024)

Invitación y propósito

Se le invita a participar en una encuesta en formato digital dirigida a personal de coordinación y técnico de laboratorios/entes sanitarios de Cesar, Santander y Norte de Santander, El propósito es evaluar la claridad, la completitud y la factibilidad de implementación de la guía WBE,

¿En qué consiste su participación?

La encuesta es autoadministrada, toma aproximadamente 8–12 minutos e incluye preguntas tipo Likert (1–5) y abiertas sobre la guía, recursos y capacitación, No se recolectan datos clínicos, no se toman muestras biológicas ni se evalúa su desempeño laboral,

Tratamiento de datos personales

Autorizo de manera previa, expresa e informada el tratamiento de la información conforme a la Ley 1581 de 2012, el Decreto 1377 de 2013 y normas concordantes, Los datos se usarán únicamente con fines académicos y de salud pública relacionados con este estudio (análisis estadístico, informes y publicaciones científicas, Se adoptarán medidas de seguridad administrativas, técnicas y jurídicas para su custodia,

Voluntariedad y retiro

Su participación es voluntaria, Puede no participar o retirarse en cualquier momento sin consecuencias, Si cierra el formulario antes de enviar, no se guardarán sus respuestas,

Costos y compensación

No implica costos ni compensación económica,

Declaración de consentimiento (marque una opción para continuar)

- ☐ ACEPTO participar en la encuesta y autorizo el uso de mis respuestas con fines académicos y de salud pública, según lo descrito,
- ☐ NO ACEPTO participar,