

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



Universidad de El Salvador

Hacia la libertad por la cultura

**“DETECCIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *ESCHERICHIA COLI* EN AGUA
TRATADA DE LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

RICARDO ALBERTO CHICAS CARDOZA

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO 2022.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**“DETECCIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *ESCHERICHIA COLI* EN AGUA
TRATADA DE LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

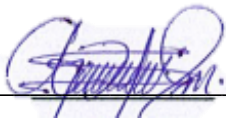
TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

RICARDO ALBERTO CHICAS CARDOZA

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

DOCENTE ASESORA:



LIC. ÁNGELA GUDELIA PORTILLO

ASESORA EXTERNA:



LIC. ANA ELSI ALFARO

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO 2022.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**“DETECCIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *ESCHERICHIA COLI* EN AGUA
TRATADA DE LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

RICARDO ALBERTO CHICAS CARDOZA

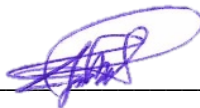
PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

TRIBUNAL EVALUADOR:



LIC. ÁNGELA GUDELIA PORTILLO



M. Sc. JESSICA TATIANA BURGOS SIERRA



LIC. MARLIN YANETH ROMERO MONGE

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO 2022.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR

M. Sc. ROGER ARMANDO ARIÁS ALVARADO

VICERRECTOR ACADEMICO

DR. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA

FISCAL GENERAL

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

SECRETARIO GENERAL

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

DECANO FACULTAD CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA

SECRETARIO FACULTAD CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

LIC. JAIME HUMBERTO SALINAS

DIRECTORA INTERINA DE ESCUELA DE BIOLOGIA

M. Sc. ANA MARTHA ZETINO

SECRETARIO DE ESCUELA DE BIOLOGÍA

M. Sc. OSMIN POCASANGRE

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO 2022.

DEDICATORIA

A Dios, por tantas bendiciones y por permitirme terminar esta etapa de mi vida.

A mis papás, Rosa Emilia Cardoza y Wilfredo Antonio Campos. Por ser mí guía, nunca dejarme solo, ser mi fortaleza, ser el motivo de cada uno de los logros en mi vida, además por ser una inspiración y un modelo a seguir.

A mis hermanos y sobrino, por ser la alegría de cada día en mi vida, ser mi orgullo y motivo de fortaleza en cada momento.

A mis tíos, Georgina Meléndez y Fredy Chicas, por ser una bendición en mi vida, por siempre creer en mí y brindarme todo el apoyo durante estos años.

A todos mis amigos, por estar en todo momento junto a mí, por darme los ánimos cuando más lo necesitaba y sobre todo por acompañarme en esta larga pero inolvidable travesía.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios, como me enseñó mi mamá, él es primero siempre y a él debo todo.

A mis papás que me han hecho la persona que soy hoy en día, han sido el apoyo más grande en mi vida. Gracias por el enorme esfuerzo que hicieron durante años para que pudiera terminar mi carrera universitaria. Son el amor más grande de mi vida.

A mis hermanos, que son una de las partes más importantes en mi vida. Su amor es la inspiración que me permite seguir cada día.

A mis tíos Georgina Meléndez y Fredy Chicas por apoyarme a mí y a mi familia a lo largo de estos años y ser grandes ejemplos de superación.

A mis amigos, que nunca me dejaron solo y que son la familia que yo elegí, les agradezco infinitamente por permitirme compartir a su lado cada momento de mi vida.

Agradezco especialmente a mis asesoras de tesis Lic. Gudelia Portillo y Lic. Elsi Alfaro, por tenerme la paciencia más grande del mundo y por conducir esta investigación conmigo.

Al Laboratorio de Control de Calidad de ANDA, por permitirme realizar mi trabajo de graduación, sobre todo a Lic. Douglas García por permitirme formar parte del laboratorio, no solo para mi trabajo de graduación, sino también formar parte del grandioso equipo de trabajo del laboratorio.

Un agradecimiento muy especial para mis compañeras del área de microbiología, por apoyarme en todo momento y sobre todo por guiarme en todo el proceso de validación. Fue un gran trabajo en equipo.

INDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN	13
II. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo General.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1. Antecedentes.....	16
3.1.1. Situación de la administración histórica del agua en El Salvador	16
3.1.2. Estudios previos.....	16
3.2. Agua	17
3.2.1. Agua potable.....	17
3.2.2. Parámetros normativos del agua potable	18
3.3. Análisis de agua potable	20
3.3.1. Filtración por membrana	20
3.3.2. Tubos múltiples de fermentación	21
3.3.3 Método enzima-sustrato	21
3.4. Microorganismos en estudio.....	24
3.4.1. Coliformes totales.....	24
3.4.2. <i>Escherichia coli</i>	24
3.5. Validación de métodos analíticos cualitativos.....	26
3.5.1. Límite de detección	27
3.5.3. Especificidad	28
3.5.4. Sensibilidad	29
IV. METODOLOGÍA	30

4.1. Fase de campo	30
4.1.1. Ubicación y descripción del área de estudio	30
4.1.2. Muestreo	32
4.2. Fase de laboratorio.....	32
4.2.1. Ubicación y descripción de área de análisis	32
4.3. Validación.....	33
4.3.1. Preparación de placas de reserva	33
4.3.2. Preparación de inóculo de trabajo	33
4.3.3. Diseño experimental de validación.....	34
4.4. Análisis de muestras de agua tratada.....	36
V. RESULTADOS	37
5.1. Validación.....	37
5.1.1. Límite de detección	37
5.1.2. Selectividad	39
5.1.3. Especificidad	41
5.1.4. Sensibilidad	43
5.2. Detección de Coliformes totales y <i>E. coli</i> en agua tratada de la Zona Metropolitana de San Salvador.....	43
5.2.1. Detección de Coliformes totales y <i>E. coli</i>	44
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56
VII. CONCLUSIONES	59
VIII. RECOMENDACIONES	60
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
X. ANEXOS	66

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del Área metropolitana de San Salvador. Fuente: Elaboración personal.....	31
Figura 2. Esquema de realización de inóculo de trabajo de cepa positiva <i>E. coli</i> y experimento de validación. Fuente: Elaboración personal.....	36
Figura 3. Esquema de realización de inóculo de trabajo de cepa negativa <i>S. aureus</i> o <i>E. aerogenes</i> y experimento validación.....	36
Figura 4. Esquema del análisis de muestras de agua tratada.....	37

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> , enero 2018.....	46
Gráfico 2. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> , febrero 2018.....	48
Gráfico 3. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> , marzo 2018.....	50
Gráfico 4. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> , enero-marzo 2018.....	51
Gráfico 5. Resultados de Turbidez, enero-marzo 2018.....	56
Gráfico 6. Resultados de Cloro Residual Libre, enero-marzo 2018.....	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Procesos unitarios posibles a llevar a cabo en función de contaminantes presentes. Fuente: Romero (2010).....	18
Tabla 2. Límites máximos permisibles para la calidad microbiológica.....	19
Tabla 3. Frecuencia del muestreo para certificar la calidad bacteriana del agua potable. Fuente: NSO 13.07.01:08.....	19
Tabla 4. Intervalos entre muestras para análisis bacteriológico. Fuente: NSO 13.07.01:08.....	19
Tabla 5. Métodos normativos para realizar análisis bacteriológicos.....	20
Tabla 6. Limite de detección. Analista A.....	38
Tabla 7. Limite de detección. Analista B.....	38
Tabla 8. Limite de detección. Analista C.....	39
Tabla 9. Limite de detección. Analista D.....	39
Tabla 10. Limite de detección. Analista E.....	39
Tabla 11. Promedio de límites de detección por analista.....	40
Tabla 12. Determinación de selectividad para Coliformes totales y <i>E. coli</i>	40
Tabla 13. Determinación de especificidad para Coliformes totales.....	42
Tabla 14. Determinación de especificidad para <i>E. coli</i>	43
Tabla 15. Determinación de sensibilidad para Coliformes totales y <i>E. coli</i>	44
Tabla 16. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> . enero 2018.....	45
Tabla 17. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> . febrero 2018.....	46
Tabla 18. Resultados de Coliformes totales y <i>E. coli</i> . marzo 2018.....	48
Tabla 19. Resultados de Turbidez y Cloro Residual Libre. enero-marzo 2018.....	52

RESUMEN

El grupo Coliformes totales ha sido durante años el principal indicador de contaminación en aguas para el consumo, por lo que se vuelve necesario buscar metodologías apropiadas para su detección. El método enzima sustrato mediante la técnica presencia/ausencia brinda una alternativa rápida y eficiente para dicho fin, ya que es un método de fácil empleo y que se puede adaptar a diferentes escenarios para su uso, desde su posibilidad de análisis en campo, hasta su posibilidad de ser incubado a temperatura ambiente, cambiando solamente los tiempos de incubación.

En este estudio se realizó la validación del método enzima sustrato para la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli* por la técnica presencia/ausencia en agua tratada. Mediante el tratamiento estadístico de los resultados, se obtuvo un límite de detección de 4 UFC, una tasa de especificidad y sensibilidad del 100% y una selectividad estadísticamente válida para los fines previstos, con lo cual se determinó que el método es apto para el análisis de agua de consumo humano.

Posterior a la validación del método, se realizó el monitoreo y análisis de 140 muestras de agua tratada del Área Metropolitana de San Salvador, para determinar la presencia/ausencia de Coliformes totales y *E. coli*. El monitoreo se realizó durante los meses de enero a marzo de 2018.

Se obtuvo un 98% de Ausencias para Coliformes totales y un 99% de Ausencias para *E. coli*. El 2% de presencias para Coliformes totales corresponde a 3 muestras positivas, encontradas en Ilopango, Mejicanos y en Santa Tecla. El 1% de presencias para *E. coli* corresponde a una muestra positiva detectada en el municipio de Ilopango. Los resultados de Coliformes totales y *E. coli*, obtenidos mediante el método de enzima sustrato, por la técnica presencia/ausencia, han permitido concluir que el agua distribuida al momento del estudio, poseía buena calidad sanitaria y era en su mayoría, apta para el consumo humano.

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo realizar análisis microbiológicos para detección de Coliformes Totales y *Escherichia coli* en el agua de distribución del Área Metropolitana de San Salvador y así determinar su calidad sanitaria, para ello se utilizó el método enzima sustrato, mediante la técnica presencia/ausencia.

El método enzima sustrato, es un método de análisis selectivo que basa su respuesta en la actividad entre sustratos cromogénicos y fluorogénicos y las enzimas producidas por los microorganismos en estudio. Ello ha logrado una elevada sensibilidad y rapidez en detección de microorganismos presentes en el agua. La técnica presencia/ausencia permite el análisis de una sola porción grande (100 mL) de muestra para obtener información cualitativa de la presencia o ausencia de microorganismos que se desea determinar.

Para obtener resultados confiables en la determinación de Coliformes totales y *E. coli* en el agua tratada del Área Metropolitana de San Salvador, se realizó la validación del método, determinando el límite de detección, sensibilidad, especificidad y selectividad. La validación del método dio resultados que demuestran que el método es apto para la detección de Coliformes Totales y *Escherichia coli* en agua tratada. El límite de detección, que es la mínima cantidad de analito que puede ser detectada por el método, fue de 4 UFC, la tasa de sensibilidad y especificidad del 100% y la selectividad estadísticamente válida, cumpliendo así con todos los requisitos de la Política para la Validación y Estimación de la Incertidumbre de Métodos Microbiológicos del Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA 2014).

Se analizaron un total de 140 muestras, durante los meses de enero a marzo de 2018, obteniéndose un 98% de ausencias para Coliformes totales y un 99% de ausencias para *E. coli*. El 1% de presencias para *E. coli* corresponde a una sola muestra positiva detectada durante todo el muestreo.

Con base a los resultados obtenidos y en cumplimiento con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08, en cuanto a parámetros microbiológicos, se determinó que el agua tratada distribuida en el Área Metropolitana de San Salvador durante el tiempo de

muestreo, poseía una buena calidad sanitaria y era en su mayoría, apta para el consumo humano.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Realizar análisis de Coliformes totales y *Escherichia coli* en agua tratada de la zona metropolitana de San Salvador, El Salvador.

2.2. Objetivos específicos

- Validar el método enzima sustrato para la detección de Coliformes totales y *E. coli* por la técnica de Presencia/Ausencia en aguas tratadas.
- Analizar muestras de agua tratada de la zona metropolitana de San Salvador, mediante la técnica Presencia/Ausencia para detección de Coliformes totales y *E. coli*.
- Determinar la calidad sanitaria del agua tratada de la zona metropolitana de San Salvador con base a los resultados obtenidos.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Antecedentes

3.1.1. Situación de la administración histórica del agua en El Salvador

El 13 de Julio de 1949, mediante decreto número 194 del Consejo de Gobierno Revolucionario de la República de El Salvador, se declararon de utilidad pública y de propiedad nacional los mantos de agua potable ubicados en el subsuelo del territorio nacional (Avilés *et al.* 2008).

En sus inicios la administración del suministro de agua potable estaba a cargo de las municipalidades, sin embargo; por recomendación de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se crea en 1961, la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados (ANDA), como una institución autónoma de servicio público con personería jurídica sin fines de lucro, que tiene por objeto proveer y ayudar a proveer a los habitantes de la Republica de “Acueductos” y “Alcantarillados”, mediante la planificación, financiación, ejecución, operación, mantenimiento, administración, y explotación de las obras necesarias o convenientes (Avilés *et al.* 2008).

3.1.2. Estudios previos

Son pocos los estudios realizados acerca de la calidad sanitaria del agua potable en las redes de distribución, específicamente en el Área Metropolitana de San Salvador. En 2004, Contreras y Romero realizaron un estudio donde se tomaron muestras de los municipios de San Bartolo, San Martin y Santa Lucia. En dicha investigación se analizaron Coliformes totales y fecales, obteniendo como resultado que el 13% de las muestras analizadas fueron positivas para Coliformes totales. Además, en Coliformes fecales se obtuvo un promedio de 4.65% de resultados positivos para San Bartolo y un 2.56% para San Martin.

Rivera en 2006, en una publicación realizada por la Fundación Nacional para el Desarrollo (FUNDE) se reporta que, de 329 muestras de agua tratada analizadas, el 45% no cumplían con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria de Agua Potable (NSO).

Para el 2008, según datos reportados por el Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), la zona urbana del país contaba con una cobertura de abastecimiento de agua del 89%, de la cual el 92% cumplía con lo establecido en la NSO de agua potable (Cruz *et al.* 2008).

El Programa de Vigilancia de la Calidad del Agua del MINSAL, reporta para el último trimestre del 2013 que, en la región metropolitana de San Salvador, el 100% de las muestras analizadas en parámetros microbiológicos, cumplían lo establecido en la norma vigente de agua potable (MINSAL 2013).

Posteriormente, Melara (2016), publica una investigación realizada en el municipio de Apopa, departamento de San Salvador, en la cual determinó Coliformes totales, Coliformes fecales, *E. coli*, entre otros. En el agua de distribución de la Colonia Los Naranjos. En total se analizaron 8 muestras en triplicado (24 muestras) durante la época seca y otras 8 muestras en triplicado (24 muestras) en la época lluviosa, de las cuales todas resultaron <1.1 NMP/100 mL en Coliformes totales y *E. coli*, cumpliendo así lo establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08.

3.2. Agua

El agua, el líquido más común de la superficie terrestre, el componente principal en peso de todos los seres vivos, tiene un número de propiedades destacables. Estas propiedades son consecuencia de su estructura molecular y son responsables de la “aptitud” del agua para desempeñar su papel en los sistemas vivos (Curtis *et al.* 2008).

La estructura de la molécula de agua está dada por dos átomos de hidrógeno y un átomo de oxígeno que se mantienen unidos por enlaces covalentes. Es una molécula polar y, en consecuencia, forma enlaces llamados puentes de hidrógeno con otras moléculas. Aunque los enlaces individuales son débiles, se rompen y se vuelven a formar continuamente. La fuerza total de los enlaces que mantienen a las moléculas juntas es muy grande (Curtis *et al.* 2008).

3.2.1. Agua potable

En El Salvador, la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08, define como agua potable aquella apta para el consumo humano y que cumple con los requisitos químicos y microbiológicos establecidos en dicha norma. Además, establece como agua tratada aquella

cuyas características han sido modificadas por medio de procesos físicos, químicos, biológicos o cualquiera de sus combinaciones.

La potabilización del agua suele consistir en la eliminación de compuestos volátiles, seguido de la precipitación de impurezas con floculantes, filtración y finalmente la desinfección con cloro u ozono (Romero 2010).

El tratamiento que recibirá el agua depende de diversos factores, Romero (2010) los clasifica como:

- Componentes o impurezas a eliminar.
- Parámetros de calidad.
- Grado de tratamiento del agua.

En función a sus componentes, el agua puede ser potabilizada por diversos procesos unitarios, los cuales se presentan en la siguiente tabla (Tabla 1)

Tabla 1. Procesos unitarios posibles a llevar a cabo en función de contaminantes presentes.

Fuente: Romero (2010).

TIPO DE CONTAMINANTE	OPERACIÓN UNITARIA
Sólidos gruesos	Desbaste
Partículas coloidales	Coagulación + Floculación + Decantación
Sólidos en suspensión	Filtración
Materia orgánica	Afino con carbón activo
Amoníaco	Cloración al breakpoint
Gérmenes patógenos	Desinfección
Metales no deseados (Fe, Mn)	Precipitación por oxidación
Sólidos disueltos (Cl ⁻ , Na ⁺ , K ⁺)	Osmosis inversa

3.2.2. Parámetros normativos del agua potable

Para que el agua, luego de ser tratada bajo cualquier proceso, sea considerada como potable, debe cumplir con ciertas especificaciones físicas, químicas y biológicas. Dichos requisitos son dictados por las autoridades competentes para cada país. En El Salvador, los requisitos a cumplir están contemplados en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 “Agua, agua potable”. Los requisitos microbiológicos son las siguientes (Tabla 2):

Tabla 2. Límites máximos permisibles para la calidad microbiológica.

Parámetro	Límite máximo permisible		
	Técnicas		
	Filtración por membranas	Tubos múltiples	Placa vertida
Bacterias Coliformes totales	0 UFC/100 mL	<1.1 NMP/100 mL	----
Bacterias Coliformes fecales o termotolerantes	0 UFC/100 mL	<1.1 NMP/100 mL	----
<i>Escherichia coli</i>	0 UFC/100 mL	<1.1 NMP/100 mL	----
Conteo de bacterias heterótrofas y aerobias mesófilas	100 UFC/mL	----	100 UFC/mL
Organismos patógenos	Ausencia		

Los requisitos físico-químicos, límites máximos permisibles para sustancias químicas y otros productos pueden consultarse en el **Anexo 1**.

Otro aspecto normativo es la frecuencia del muestreo para certificar la calidad bacteriana del agua potable. El número de muestras se establece en relación a la población servida (tabla 3), además se establece el intervalo entre muestras (Tabla 4).

Tabla 3. Frecuencia del muestreo para certificar la calidad bacteriana del agua potable.

Fuente: NSO 13.07.01:08.

Tamaño de población (Habitantes)	Número mínimo de muestras/mes
<5,000	1
5,000-100,000	1 muestra/5,000 usuarios
>100,000	1 muestra/10,000 usuarios más 10/muestras adicionales

Tabla 4. Intervalos entre muestras para análisis bacteriológico. Fuente: NSO 13.07.01:08.

Tamaño de población (Habitantes)	Periodo máximo entre muestras consecutivas
<25,000	1 mes
25,001 a 100,000	2 veces al mes
100,001 a 300,000	semanal
>300,000	cada tres días

Además, la Norma Salvadoreña Obligatoria, en su anexo B (normativo), establece los métodos a utilizar para los análisis bacteriológicos (Tabla 5).

Tabla 5. Métodos normativos para realizar análisis bacteriológicos.

<i>Escherichia coli</i>	Tubos múltiples Filtración con membrana 1) P/A
Bacterias heterótrofas y aerobias mesófilas	Filtración con membrana Placa vertida
Coliformes fecales	Tubos múltiples Filtración con membrana 1) P/A
Coliformes totales	Tubos múltiples Filtración con membrana 1) P/A

1) P/A método presencia/ausencia

En general, la Norma Salvadoreña Obligatoria, en sus requisitos microbiológicos, es similar a lo que establece la Organización Mundial para la Salud (OMS) en su Guía para la Calidad de Agua Potable (OMS 2008), que ha servido a países de todo el mundo, como base para la elaboración de reglamentos y normas orientados a garantizar la inocuidad del agua potable.

3.3. Análisis de agua potable

En la actualidad existen diversos métodos para el análisis de aguas, dichos métodos varían según el tipo de matriz a analizar o el tipo de patógeno de interés. Los métodos microbiológicos para análisis de agua potable más utilizados son los siguientes:

3.3.1. Filtración por membrana

El método de filtración por membrana puede ser utilizado para el análisis de volúmenes relativamente grandes de agua y generalmente se obtienen resultados cuantitativos más rápido que en otros métodos (Alfaro & Rojas 2006; APHA- AWWA-WPCF 2012; Carrillo & Lozano 2008).

El método se aplica colocando un filtro estéril sobre la base porosa y cubriéndolo con la unidad de embudo por la cual se filtrará la muestra con vacío parcial, se desmonta el embudo

y se retira el filtro con pinzas estériles para ser colocado sobre una placa petri que contiene el agar seleccionado para el análisis, se invierte la placa petri y se incuba por 22-24 horas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (APHA- AWWA-WPCF 2012).

La forma en la que se aplica el método de filtración por membrana puede variar, puede ser una filtración directa e incubación sobre una placa que contenga el medio o bien usar discos de cartón nutriente que se empapan con el medio. Entre los medios más comúnmente utilizados están: Tergitol TTC, Endo gelose, Agar de Chapman, Hektoen Agar, Levine EMB, Agar verde brillante-bilis, entre otros. Siendo una desventaja del método que los medios de cultivo utilizados generalmente son presuntivos y requieren una prueba confirmatoria (Cano 2003).

3.3.2. Tubos múltiples de fermentación

La técnica de tubos múltiples de fermentación ó técnica de fermentación en tubos múltiples se ha usado durante alrededor de 80 años como principal método de monitoreo de la calidad del agua (Larrea *et al.* 2013). Este método puede arrojar resultados cuantitativos si se aplica la técnica de tubos múltiples, en ese caso el resultado podrá ser determinado por el número más probable (NMP) (APHA- AWWA-WPCF 2012).

El método consiste en inocular una serie de tubos con diluciones decimales de la muestra de agua. La producción de gas, formación de ácido o abundante crecimiento en los tubos después de 48 horas de incubación a 35°C constituyen resultados presumiblemente positivos. Todos los tubos con reacción presumiblemente positiva son inmediatamente sometidos a pruebas de confirmación. La formación de gas en caldo lactosado bilis verde brillante en los tubos de fermentación tras (24-48) horas de incubación a 35°C constituye una prueba de confirmación positiva. La prueba de Coliformes Fecales usando medio *Escherichia coli* (EC), puede aplicarse para determinar Coliformes Totales y Fecales, la producción de gas después de 24 horas de incubación a $44,5^{\circ}\text{C}$ en caldo EC se considera un resultado positivo (Larrea *et al.* 2013; APHA- AWWA-WPCF 2012).

3.3.3 Método enzima-sustrato

En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas basadas en la utilización de sustratos cromogénicos y fluorogénicos que detectan actividades enzimáticas muy específicas. Con la

utilización de estos medios de cultivo se eleva la sensibilidad y la rapidez de detección de los microorganismos en aguas (Rodríguez *et al.* 2003).

Medios sin agentes selectivos agresivos, pero sustratos enzimáticos específicos permiten mejoras significativas en la recuperación e identificación de bacterias diana. En el caso de Coliformes y *E. coli*, tales llamados “métodos de sustrato definidos” fueron introducidos por Edberg *et al.* en 1991 (Köster *et al.* 2003).

Este método se basa en la detección de enzimas específicas, para el caso de los Coliformes totales detecta la presencia de β -D-galactosidasa (GAL). Esta enzima actúa sobre sustratos como el 5-Bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosida (X-GAL), produciendo una coloración azul-verdosa. Otros sustratos utilizados son el o-nitro-fenil- β -D-galactopiranosido (ONPG), el p-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (PNPG), el 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronido (MUG), entre otros. En cambio, en el caso de *E. coli* la detección se basa en la actividad de la β -D-glucuronidasa. Para ello, en medio de cultivo líquido se agregan sustratos como el 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronido (MUG) que es hidrolizado por la enzima específica resultando un producto final fluorescente (metilumbeliferona) al observarlo bajo luz ultravioleta (Emiliani *et al.* 1999).

El método enzima-sustrato puede ser aplicado bajo dos técnicas fundamentales, la técnica de tubos múltiples, por medio de la cual se obtienen resultados de manera cuantitativa y la de técnica presencia/ausencia en la cual se obtienen resultados cualitativos.

3.3.3.1. Tubos múltiples por el método enzima-sustrato

El método consta de una sola etapa que consiste en colocar volúmenes determinados de muestras de agua en una serie de tubos conteniendo medio de cultivo Fluorocult o caldo LMX (Lauril sulfato-MUG-X-GAL) y luego son incubados a (35 ± 0.5) °C durante 24 horas (Cabrera & Hernández 2008).

Después de (18-24) horas de incubación el medio de cultivo refleja un viraje de color a azul verdoso, como indicativo de Coliformes Totales y se observa fluorescencia en presencia de luz UV como indicativo de *Escherichia coli*. Los resultados son calculados a partir de los tubos positivos, utilizando el NMP (APHA- AWWA-WPCF 2012).

Para confirmar la presencia de *E. coli* debe comprobarse la producción de Indol en los tubos que presentan fluorescencia, utilizando el reactivo de Kovacs indol (solución de p-dimetilaminobenzaldehído en alcohol amílico); por medio del desarrollo de un anillo color rosado que indica una reacción positiva (Cabrera & Hernández 2008; APHA- AWWA-WPCF 2012).

Para reportar los resultados en NMP, se consideran los resultados de tubos positivos y se utiliza las tablas de NMP que indican los valores para distintas series de siembras y resultados. En ellas se contemplan límites de confianza del 95 % para cada valor del NMP. El resultado obtenido se reporta en forma NMP/100mL (APHA- AWWA-WPCF 2012).

3.3.3.2. Técnica Presencia/Ausencia

La prueba de presencia/ausencia de Coliformes Totales y *E. coli* es una sencilla modificación del procedimiento de tubos múltiples. La simplificación que se deriva de utilizar una sola porción grande de 100 mL en un frasco de cultivo para obtener información cualitativa sobre la presencia o ausencia de Coliformes, se justifica por la teoría de que no deben presentarse estos microorganismos en una muestra de 100 mL de agua potable. La prueba de presencia/ausencia proporciona además una oportunidad opcional para hacer una detección sistemática posterior del cultivo y aislar otros indicadores como Coliformes fecales, *Aeromonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus faecalis* y *Clostridium spp.* (APHA- AWWA-WPCF 2012; Merck 2008).

El procedimiento consiste en adicionar el contenido de un blíster de medio de cultivo ReadyCult a una muestra de agua de 100 mL, contenida en un frasco estéril no fluorescente. Posteriormente se incuba a $(35 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ por (24 ± 1) hora. Si hay presencia de Coliformes totales el medio de cultivo cambia de color de un amarillo suave a un verde/azul, lo que se interpreta como una prueba positiva para Coliformes totales. Si no existe ningún cambio de color en el medio de cultivo la prueba se interpreta como negativa. Adicionalmente, si la prueba para Coliformes totales ha dado positivo y existe presencia de *E. coli*, el medio de cultivo emite una fluorescencia azul cuando es expuesto a luz ultravioleta (UV) de onda larga (366 nm). Por lo contrario, si la prueba da positivo para Coliformes totales, pero al exponerla a la luz ultravioleta no se obtiene ninguna fluorescencia azul, la prueba se interpreta como negativa para *E. coli* (Merck 2008).

3.4. Microorganismos en estudio

3.4.1. Coliformes totales

Los Coliformes constituyen un grupo heterogéneo de amplia diversidad en términos de género y especie. Todos los Coliformes pertenecen a la familia Enterobacteriaceae (Carrillo & Lozano 2008; Goetz *et al.* 2006; Larrea *et al.* 2013).

Los Coliformes totales se definen como bacterias Gram negativas, de forma bacilar, que fermentan la lactosa a temperatura de (35 a 37) °C y producen ácido y gas (CO₂) en 24 horas. Aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β-galactosidasa. Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Larrea *et al.* 2013; APHA- AWWA-WPCF 2012). Algunos autores como Leclerc y Mossel (1984) citado por Goetz y colaboradores (2006), incluyen los géneros *Serratia* y *Buttiauxella*.

Si bien, las bacterias Coliformes pueden no tener relación directa con la presencia de otros patógenos en aguas potables, el uso de la prueba Coliformes sigue siendo esencial para vigilar la calidad microbiana del agua en los sistemas de abastecimiento. La ausencia de Coliformes Totales en agua de superficie que solamente ha sido desinfectada no significa necesariamente que también haya ausencia de amebas u otros parásitos. Es preciso tener en cuenta que las bacterias Coliformes no provienen solo de las heces de los animales de sangre caliente, sino también de la vegetación y el suelo. Bajo ciertas condiciones, dichas bacterias pueden también persistir en nutrientes que provienen de materiales de construcción no metálicos. Por las razones expuestas, la presencia de algunos microorganismos Coliformes (1-10 UFC/100mL), especialmente en aguas subterráneas que no hayan sido tratadas, puede tener poca importancia desde el punto de vista sanitario, siempre que haya ausencia de organismos Coliformes fecales (Goetz *et al.* 2006, Cázares & Alcantara 2014).

3.4.2. *Escherichia coli*

Originalmente llamada *Bacterium comune*, fue aislada por primera vez en 1985 a partir de heces de niños y descrita por el Dr. Theodor Escherich (En honor al cual fue denominada posteriormente). Más adelante Kauffmann y luego Orskov y Orskov detallarían su

composición antigénica, en tanto que Edwards y Ewing definirían su comportamiento metabólico (Barreto 1997).

Son bacilos estrechos de (1,1 a 1,5) μm de diámetro y de (2 a 6) μm de longitud, se pueden encontrar solos o en parejas, pueden ser móviles a través de flagelos peritricos o inmóviles, anoxigénicos facultativos y poseen metabolismo respiratorio y fermentativo (Carrillo & Lozano 2008).

Miembro de la familia Enterobacteriaceae. Es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa (Rodríguez-Angeles 2002), que forma parte de la microbiota normal del intestino del ser humano y los animales homeotermos, siendo la más abundante de las bacterias anaerobias facultativas intestinales. Se excreta diariamente con las heces (entre 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de heces) y por sus características, es uno de los indicadores de contaminación fecal más utilizados últimamente (Larrea *et al.* 2013).

La clasificación taxonómica de *Escherichia coli* es la siguiente (Romeu 2012):

Phylum: Proteobacteria
Clase: Gammaproteobacteria
Orden: Enterobacteriales
Familia: Enterobacteriaceae
Género: *Escherichia*
Especie: *coli*

Carrillo & Lozano (2008) mencionan que *E. coli* es la única especie dentro de las enterobacterias que posee la enzima β -D-glucuronidasa, que degrada el sustrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucurónico (MUG), formando 4-metilumbeliferona, producto que posee la propiedad de emitir fluorescencia azul/verde cuando se ilumina con luz ultra violeta. Otra característica importante que posee *E. coli* es que resulta positiva en la prueba de indol y por ello, la prueba de indol se convierte en una de las pruebas bioquímicas de confirmación para dicha cepa (Carrillo & Lozano 2008; Larrea *et al.* 2013).

Según Goetz y colaboradores (2006), de todos los miembros de la gran familia de los Coliformes, únicamente *E. coli* posee un origen específicamente fecal, pues están siempre

presentes en grandes cantidades en las heces de los seres vivos de sangre caliente y rara vez se encuentran en agua o suelo que no haya sufrido algún tipo de contaminación fecal. Por tanto, se considera que la detección de éstos como organismos fecales o la presunción de *E. coli* constituye una información suficiente como para estimar la naturaleza fecal de dicha contaminación.

Escherichia coli coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se considera de flora normal, pero hay descritos seis grupos de *E. coli* productora de diarrea (Michelli *et al.* 2016): enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC).

La bacteria se puede aislar e identificar tradicionalmente con base en sus características bioquímicas o serológicas, pero también se pueden estudiar sus mecanismos de patogenicidad mediante ensayos en cultivos celulares o modelos animales y, más recientemente, empleando técnicas de biología molecular que evidencian la presencia de genes involucrados en dichos mecanismos (Rodríguez-Angeles 2002)

3.5. Validación de métodos analíticos cualitativos

Validar es demostrar con un alto grado de confianza, por medio de evidencia documentada que un proceso específico producirá de forma consistente productos que reunirán las características de calidad predefinidas. Este proceso además ofrece evidencia que el método es capaz de servir para su propósito planeado, para tal fin se deben reflejar las condiciones reales del ensayo, esto puede conseguirse usando productos contaminados o productos inoculados con un número conocido de microorganismos (Carrillo & Lozano 2008; ISO-IEC 17025:2005).

Mediante la validación se provee información sobre el desempeño del método, se demuestra la competencia técnica y permite reconocer los requerimientos analíticos del mismo (Redondo Solano 2008).

Al validar un método contaminando artificialmente, el analista debe ser consciente que la inoculación de una matriz con microorganismos contaminantes imita tan solo de una manera superficial la presencia de contaminantes naturales. No obstante, a menudo es la mejor y la única solución disponible. La extensión de la validación necesaria dependerá del método y

su aplicación (Alfaro & Rojas 2006). Si bien el concepto de validación no depende de que éste método sea cuantitativo o cualitativo, en la práctica los parámetros de calidad que caracterizan a los métodos cualitativos son distintos (Ruisánchez *et al.* 2003).

A continuación, se presentan algunos de los parámetros determinados en validación de métodos cualitativos, según lo planteado por Sánchez y colaboradores (2010), Cuesta (2015) y la Política de validación del OSA (OSA 2014):

3.5.1. Límite de detección

El límite de detección será el mínimo de sustrato de una muestra que, bajo condiciones de operación establecidas, sea capaz de generar una respuesta analítica positiva en el método analítico.

El límite de detección del Método se evalúa haciendo diluciones sucesivas de concentraciones conocidas de la sustancia de interés, como mínimo por quintuplicado y determinando la respuesta analítica. El límite de detección será aquella concentración del sustrato a estudiar donde las respuestas analíticas de al menos el 5% de los ensayos sean negativas.

El criterio de aceptación planteado por Cuesta (2015), para determinar el límite de detección son los siguientes:

- ✓ Positivos verdaderos $\geq 95\%$
- ✓ Falsos negativos $\leq 5\%$

3.5.2. Selectividad

La IUPAC define la selectividad como la extensión en la que un método puede utilizarse para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes con un comportamiento similar.

La selectividad se evalúa aplicando la prueba al mismo número de muestras o testigos verdaderos positivos y de testigos verdaderos negativos, investigando el comportamiento del método analítico en dos poblaciones diferentes: testigos positivos verdaderos y testigos negativos verdaderos. Es posible evaluar la selectividad de un método analítico mediante la

estimación de la homogeneidad de poblaciones, es decir, conocer si existe un comportamiento semejante de la característica de interés en las poblaciones estudiadas.

Para determinar si el método analítico estudiado posee una buena selectividad se debe tomar en cuenta la regla de decisión (Sánchez *et al.* 2010):

- ✓ Si Xi^2 calculada $> Xi^2$ de tablas se concluye que bajo las condiciones de trabajo realizadas, el método analítico tiene una selectividad tal que su respuesta analítica permite diferenciar de manera estadísticamente significativa los testigos positivos verdaderos de los testigos negativos verdaderos.
- ✓ Si Xi^2 calculada $\leq Xi^2$ de tablas es imposible concluir que para el nivel de confianza que se ha seleccionado (95%), el método analítico carece de selectividad ya que su respuesta analítica NO permite diferenciar de manera estadísticamente significativa los testigos positivos verdaderos de los testigos negativos verdaderos.

3.5.3. Especificidad

Es la probabilidad de que la respuesta analítica (y por ende la prueba) resulte negativa debido a que en la muestra estudiada no existe físicamente el sustrato o sustancia de interés diagnóstico o se encuentra por debajo de los límites de detección. Para obtener la especificidad de un método analítico cualitativo se utiliza la siguiente fórmula:

$$Especificidad = \frac{D}{D + B}$$

Dónde:

B = Falsos positivos

D = Verdaderos negativos

Sánchez *et al.* (2010), menciona que para que la especificidad de un método analítico sea estadísticamente válida se debe cumplir la siguiente regla de decisión:

- ✓ **Si la especificidad < 0.95 el método analítico no tiene buena especificidad.**
- ✓ **Si la especificidad ≥ 0.95 el método analítico tiene buena especificidad.**

3.5.4. Sensibilidad

Es la probabilidad de que la respuesta analítica (y por ende la prueba) resulte positiva cuando en la muestra estudiada está realmente presente el sustrato de interés diagnóstico en los límites de detección o por arriba de ellos. El cálculo de la sensibilidad está dado por la siguiente fórmula:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{A}{A + C}$$

Dónde:

A = Verdaderos positivos

C = Falsos negativos

Para determinar si el método analítico en validación posee una buena sensibilidad se debe tomar en cuenta las siguientes reglas de decisión (Sánchez *et al* 2010):

- ✓ **Si la Sensibilidad < 95% el método analítico no tiene buena Sensibilidad.**
- ✓ **Si la Sensibilidad \geq 95% el método analítico tiene buena Sensibilidad.**

IV. METODOLOGÍA

4.1. Fase de campo

4.1.1. Ubicación y descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Área Metropolitana de San Salvador (AMSS), la cual forma parte de una unidad administrativa urbana constituida por 14 municipios. El municipio de San Salvador, en su calidad de capital de la Nación, es el centro poblacional y económico más importante de todo el país. El área metropolitana se extiende en una superficie que cubre aproximadamente 600 Km², con cerca de 1.5 millones de habitantes, que representan el 27% de la población total del país (OPAMSS 2017).

El AMSS fue instituida en 1993, a través del Decreto Legislativo No. 732 de la Ley de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Área Metropolitana de San Salvador y de los Municipios Aledaños.

Actualmente el Área Metropolitana de San Salvador (AMSS) está conformada por 14 municipios: Antiguo Cuscatlán y Santa Tecla del Departamento de La Libertad; Apopa, Ayutuxtepeque, Cuscatancingo, Delgado, Ilopango, Mejicanos, Nejapa, San Marcos, San Martín, San Salvador, Soyapango y Tonacatepeque del Departamento de San Salvador (Fig. 1) (OPAMSS 2017).

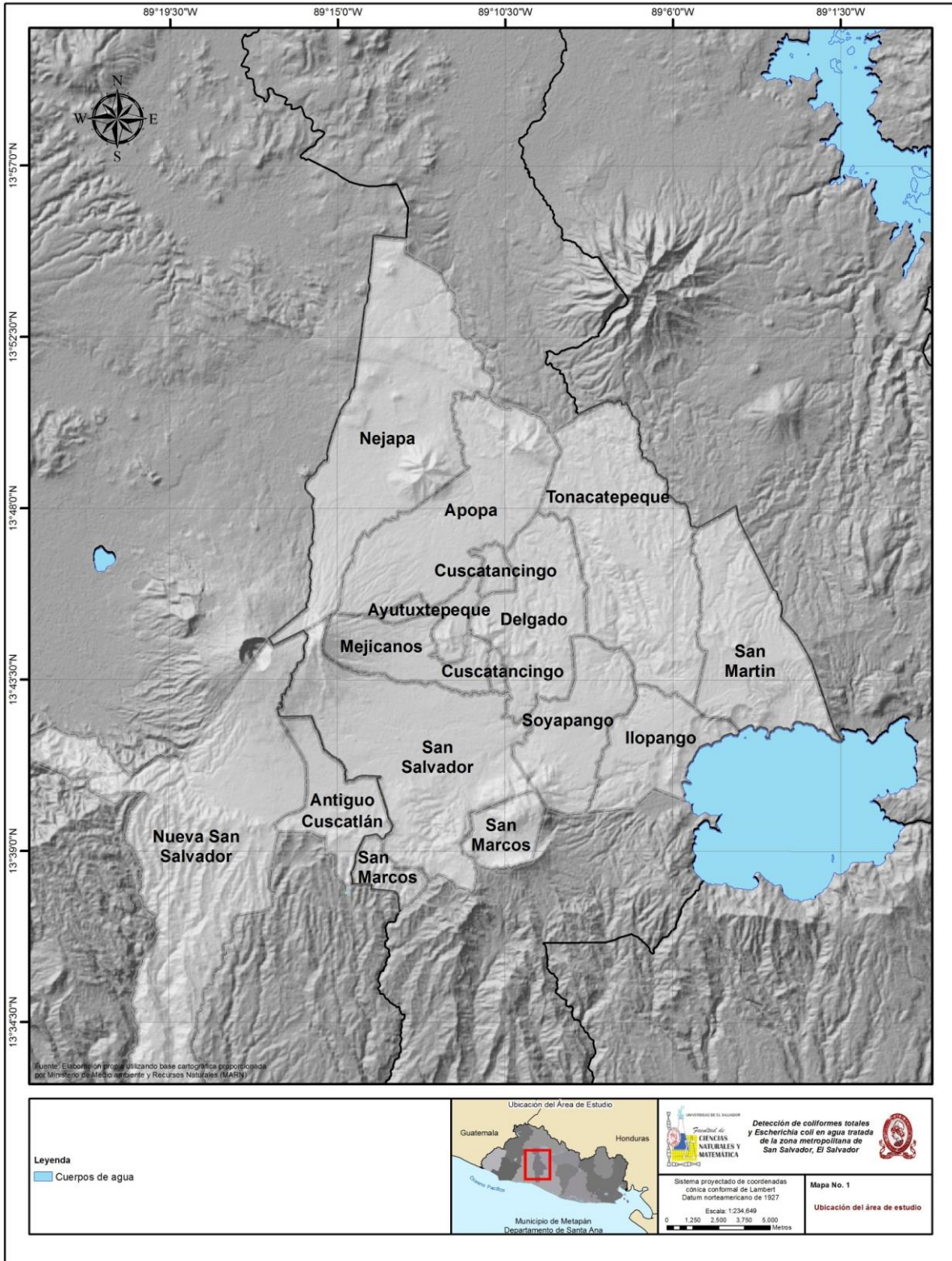


Figura. 1. Mapa del Área metropolitana de San Salvador. Fuente: Elaboración personal.

4.1.2. Muestreo

El muestreo se realizó con apoyo de la Gerencia de Control de Calidad de la Zona Metropolitana de San Salvador y el Laboratorio de Control de Calidad de la Administración Nacional De Acueductos y Alcantarillados (ANDA). El muestreo tuvo una duración de tres meses, de enero a marzo de 2018, realizándose 8 muestreos en los que se recolectaron un total de 140 muestras. El muestreo estuvo a cargo de personal autorizado de ANDA y entregadas al Laboratorio de Control de Calidad para su procesamiento y análisis.

4.1.2.1. Procedimiento de muestreo

Las muestras se tomaron en chorros de casas particulares, casas comunales, centros escolares, iglesias, etc. previa autorización de los dueños. Para la toma de muestras se utilizó frascos de vidrio de 250 mL previamente esterilizados conteniendo 0.25mL de Tiosulfato de Sodio al 3%.

Se desinfectó el chorro aplicando alcohol al 70% con un paño limpio, se abrió el paso de agua dejando caer el agua entre dos a tres minutos aproximadamente, luego se abrió el frasco estéril y se llenó con 225mL de agua, se tapó inmediatamente y se colocó en una hielera a temperatura de preservación no mayor a 8°C hasta su llegada al laboratorio. En el laboratorio se tomó la temperatura de las muestras la cual debía ser menor o igual a la temperatura de la muestra que en su momento de toma (APHA- AWWA-WPCF 2012).

4.2. Fase de laboratorio

4.2.1. Ubicación y descripción de área de análisis

El análisis de muestras se llevó a cabo en El Laboratorio de Control de Calidad de ANDA ubicado en Boulevard del Hipódromo #609, Colonia San Benito, San Salvador, El Salvador.

4.2.1.1. Instalaciones y condiciones ambientales

El Laboratorio de Control de Calidad de ANDA posee diversas áreas, dispuestas para cada tipo de análisis, contando con un área específica para el análisis microbiológico de agua potable, que opera bajo un sistema de calidad acreditado de acuerdo a la norma ISO-IEC 17025:2005. De igual manera, los equipos y reactivos utilizados cumplen con todos los requerimientos de la norma y cuentan con sus respectivos certificados de calibración, mantenimiento y certificados de análisis respectivamente (Anexo 2).

Las condiciones ambientales del área de microbiología que se mantuvieron durante la realización de la investigación fueron las siguientes:

- Temperatura: entre (20 a 25) °C
- Humedad relativa: < 75%
- Carga microbiana del aire: < 15 UFC por placa expuesta durante 15 minutos en un área de 160 cm².
- Superficies: Ausencia de patógenos, determinados mediante hisopados de superficies.

4.3. Validación

Previamente al muestreo, se realizó la validación de la técnica presencia/ausencia que se utilizó en el análisis de las muestras. Para ello se procedió de la siguiente manera:

4.3.1. Preparación de placas de reserva

Las cepas de reserva que fueron utilizadas para realizar el inóculo de trabajo, se prepararon a partir de pellets. Se colocó el pellet en una placa estéril durante 30 minutos para llevarlo a temperatura ambiente. Luego se agregó en 1mL de agua de dilución (sin agitar) y se incubó a (35 ± 2) °C durante 30 minutos. Posteriormente se preparó la primera dilución, colocando el mL en un tubo de 9 mL de agua de dilución (AD). Se realizaron diluciones sucesivas según la cantidad de UFC contenidas en el pellet, hasta que se obtuvo una dilución que contenía un aproximado de entre (30 a 100) UFC/1mL.

En placas descartables estériles se colocó 1mL de la dilución seleccionada, se vertió Agar Tripticasa de Soya (TSA) o Agar CASO y se incubaron a (35 ± 2) °C por 48 horas. Transcurrido el tiempo se contabilizaron las UFC, se registraron y finalmente se guardaron en refrigeración de (2 a 8) °C. Estas placas tenían vigencia de un mes a partir de su elaboración.

4.3.2. Preparación de inóculo de trabajo

Se preparó inóculo de trabajo a partir de placas de reserva. Para ello se llevaron las placas a temperatura ambiente, se tomó una colonia de la superficie del agar con asa microbiológica estéril; se colocó la colonia en un tubo que contenía 9 mL de caldo Tripticasa de soya (TSB) de concentración simple y se incubó por 24 horas a (35 ± 2) °C.

Transcurridas las 24 horas, se transfirió 1mL del tubo de inóculo obtenido, a un frasco de 90 mL de Caldo Trypticase de soya (TSB) de concentración simple y se incubaron durante 24 horas a (35 ± 2) °C.

El frasco obtenido era el inóculo de trabajo, con el cual se realizó la fortificación de la matriz de agua tratada estéril.

4.3.3. Diseño experimental de validación

A partir del inóculo de trabajo, se realizó diluciones seriadas hasta obtener concentraciones bajas (de 5 a 1 UFC) de cepa positiva (*E. coli* ATCC 25922), establecido preliminarmente que las diluciones 10^{-8} y 10^{-9} eran las adecuadas, se procedió de la siguiente manera (Fig. 2):

Se inoculó 0.3 mL cepa positiva de concentración 10^{-8} a 6 frascos conteniendo 100 mL de matriz de agua tratada estéril, luego se inoculó (2, 1.5, 0.5 y 0.2) mL de cepa positiva de concentración 10^{-9} a 6 frascos por concentración, conteniendo 100 mL de matriz de agua tratada estéril.

A partir del inóculo de cepa negativa (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048), se realizaron diluciones seriadas hasta obtener concentraciones altas (>1000 UFC) y se inoculó 0.1 mL de cepa negativa de concentración 10^{-4} a 6 frascos por cepa, conteniendo 100 mL de matriz de agua tratada estéril (fig. 3).

Verificación de inóculo: Para verificar la cantidad de UFC inoculadas en cada concentración, se realizó recuento en placa vertida; para ello se inoculó en dos placas descartables estériles 1 mL de inóculo para cada concentración, luego se vertió Agar Trypticase de Soya (TSA), se homogenizó y se incubó a (35 ± 2) °C por 48 horas.

Aseguramiento de la calidad de los resultados: Para asegurar la validez de los resultados obtenidos, se realizaron diversas actividades entre las que están; blancos de agua reactiva, blancos de agua de dilución, blancos de matriz estéril (verificación de la muestra), blancos de agar tripticase de soya (TSA), blancos de esterilidad de pipetas, control de calidad de los medios de cultivo, evaluación de la productividad de medios de cultivo, prueba del desempeño del diluyente, toma de temperaturas de incubadoras y baño de maría dos veces al día y pruebas bioquímicas a las cepas microbiológicas.

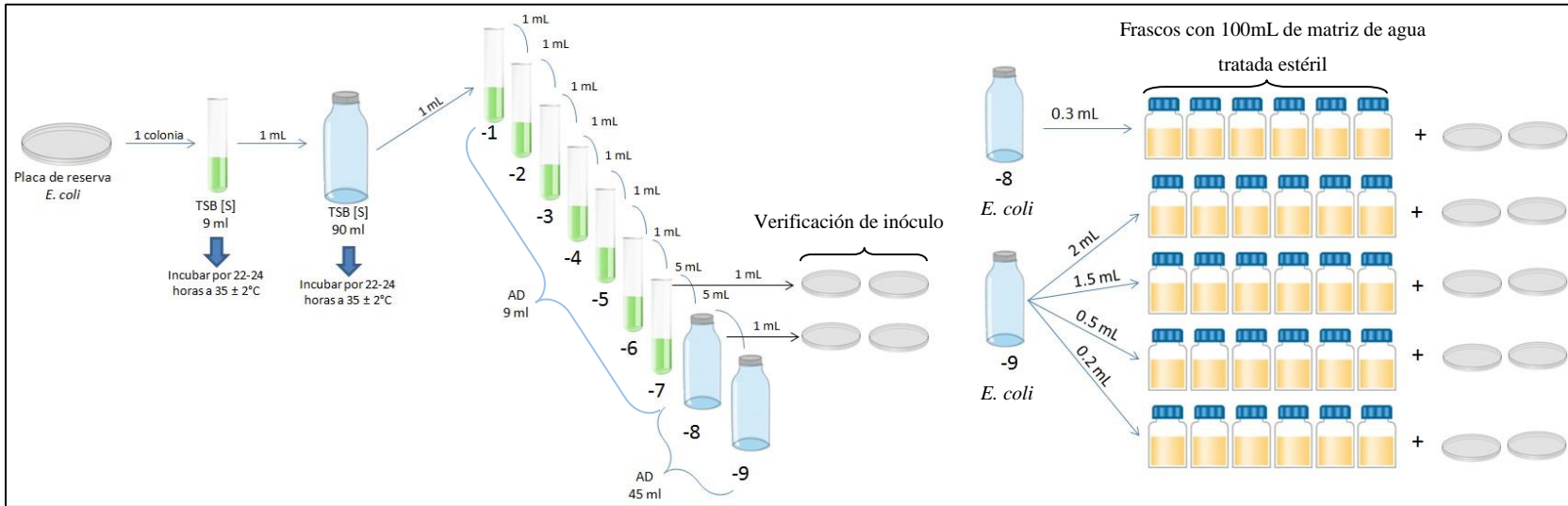


Figura 2. Esquema de realización de inóculo de trabajo de cepa positiva *E. coli* y experimento de validación. Fuente: Elaboración personal.

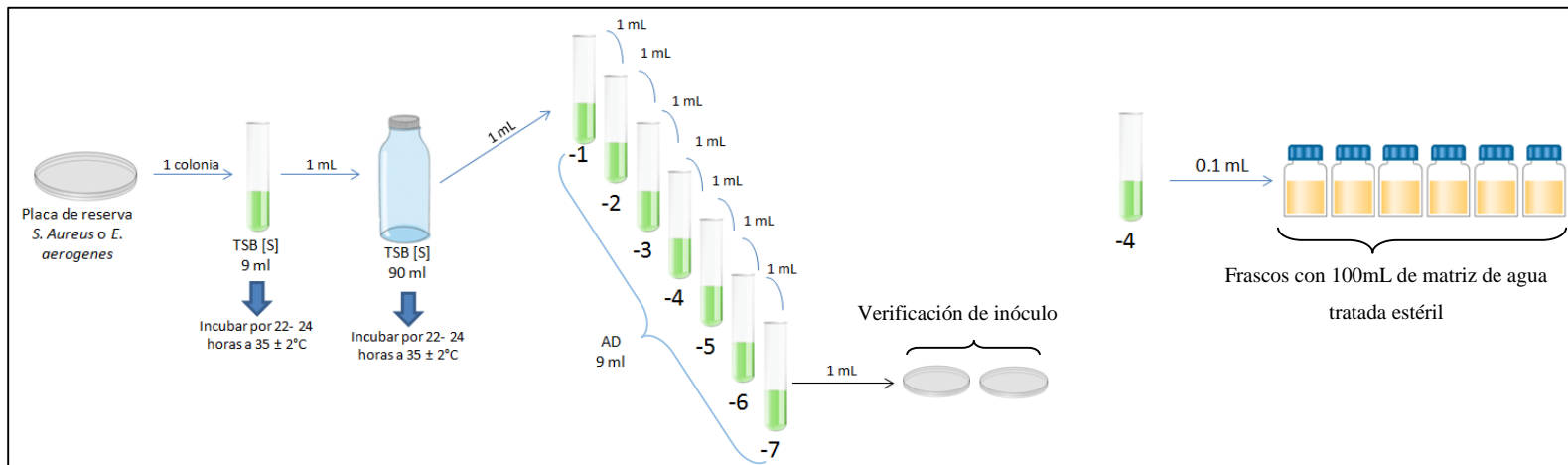


Figura 3. Esquema de realización de inóculo de trabajo de cepa negativa *S. aureus* o *E. aerogenes* y experimento de validación. Fuente: Elaboración personal.

4.4. Análisis de muestras de agua tratada.

Se homogenizó la muestra, se agregó 100 mL de la muestra a un frasco no fluorescente con una capacidad mínima de 120 mL (Opcionalmente se puede utilizar contenedor estéril no fluorescente que es proporcionado comercialmente). Asépticamente se abrió el blíster de medio cromógeno-fluorógeno, se agregó su contenido al frasco conteniendo la muestra y se mezcló cuidadosamente hasta disolver los gránulos. Se incubó por (18-24) horas de (35 a 37)°C (Fig. 4). Adicionalmente se tomó la turbidez de la muestra con un turbidímetro HACH modelo 2100P. Transcurrido el tiempo se leyó los resultados y se registraron en las hojas de trabajo.

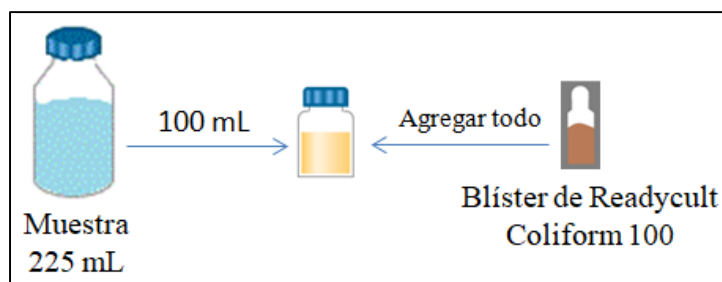


Figura 4. Esquema de análisis de una muestra de agua tratada. Fuente: Elaboración personal.

V. RESULTADOS

5.1. Validación

La validación se realizó determinando el límite de detección, selectividad, especificidad, y sensibilidad, obtenidos a través de la tasa de falsos positivos, falsos negativos, positivos verdaderos y negativos verdaderos de acuerdo a los resultados del experimento de validación, el cual fue realizado por todos los analistas del área de microbiología del Laboratorio de Control de Calidad de ANDA (Anexo 3).

5.1.1. Límite de detección

El límite de detección del método presencia/ausencia se determinó realizando el promedio de los resultados obtenidos por analista (tablas 6-10).

Tabla 6. Límite de detección. Analista A.

Límite de detección											
Dilución	volumen agregado (mL)	Replicas (P/A)						Promedio Presencia (%)	Promedio Ausencia (%)	Método de referencia (UFC/mL)	Analista
		1	2	3	4	5	6				
10^{-8}	0.3	P	P	P	P	P	P	100	0	13	A
10^{-9}	2	P	P	P	P	P	P	100	0	6	
	1.5	P	P	P	P	P	P	100	0	7	
	0.5	P	P	P	P	P	P	100	0	2	
	0.2	P	P	P	A	A	A	50	50	1	
Límite de detección: 2 UFC/100 mL											

Tabla 7. Límite de detección. Analista B.

Límite de detección											
Dilución	volumen agregado (mL)	Replicas (P/A)						Promedio Presencia (%)	Promedio Ausencia (%)	Método de referencia (UFC/mL)	Analista
		1	2	3	4	5	6				
10^{-8}	0.3	P	P	P	P	P	P	100	0	6	B
10^{-9}	2	P	P	P	P	P	P	100	0	8	
	1.5	P	P	P	P	P	P	100	0	4	
	0.5	P	P	P	P	A	A	67	33	3	
	0.2	P	P	P	P	A	A	67	33	2	
Límite de detección: 4 UFC/100 mL											

Tabla 8. Límite de detección. Analista C.

Límite de detección											
Dilución	volumen agregado (mL)	Replicas (P/A)						Promedio Presencia (%)	Promedio Ausencia (%)	Método de referencia (UFC/mL)	Analista
		1	2	3	4	5	6				
10^{-8}	0.3	P	P	P	P	P	P	100	0	7	C
10^{-9}	2	P	P	P	P	P	P	100	0	11	
	1.5	P	P	P	P	P	P	100	0	4	
	0.5	P	P	P	P	P	A	83	17	3	
	0.2	P	P	A	A	A	A	33	67	2	
Límite de detección: 4 UFC/100 mL											

Tabla 9. Límite de detección. Analista D.

Límite de detección											
Dilución	volumen agregado (mL)	Replicas (P/A)						Promedio Presencia (%)	Promedio Ausencia (%)	Método de referencia (UFC/mL)	Analista
		1	2	3	4	5	6				
10^{-8}	0.3	P	P	P	P	P	P	100	0	8	D
10^{-9}	2	P	P	P	P	P	P	100	0	7	
	1.5	P	P	P	P	P	P	100	0	6	
	0.5	P	P	P	P	P	A	83	17	1	
	0.2	P	P	A	A	A	A	33	67	1	
Límite de detección: 6 UFC/100 mL											

Tabla 10. Límite de detección. Analista E.

Límite de detección											
Dilución	volumen agregado (mL)	Replicas (P/A)						Promedio Presencia (%)	Promedio Ausencia (%)	Método de referencia (UFC/mL)	Analista
		1	2	3	4	5	6				
10^{-8}	0.3	P	P	P	P	P	P	100	0	8	E
10^{-9}	2	P	P	P	P	P	P	100	0	10	
	1.5	P	P	P	P	P	P	100	0	4	
	0.5	P	P	P	P	A	A	67	33	2	
	0.2	P	P	P	P	A	A	67	33	2	
Límite de detección: 4 UFC/100 mL											

Tabla 11. Promedio de límites de detección por analista.

N°	Dilución/Vol. adicionado	Resultado UFC/mL	Analista
1	10 ⁻⁹ /0.5mL	2	A
2	10 ⁻⁹ /1.5mL	4	B
3	10 ⁻⁹ /1.5mL	4	C
4	10 ⁻⁹ /1.5mL	6	D
5	10 ⁻⁹ /1.5mL	4	E
Promedio		4	

Como se observa en la tabla 11. El límite de detección de todos los analistas se encontró en el volumen adicionado de 1.5 mL a excepción del analista A que obtuvo su límite de detección en el volumen adicionado de 0.5 mL. Al obtener el promedio de los límites de detección de cada analista, se determinó que el límite de detección de la validación del método es **4 UFC**.

5.1.2. Selectividad

Para determinar la selectividad se tomaron en cuenta los datos obtenidos en la adición de 0.3mL de la dilución 10⁻⁸ de cepa positiva (*E. coli* ATCC 25922) y 0.1mL de dilución 10⁻⁴ de cepas negativas (*S. aureus* ATCC 25923 y *E. aerogenes* ATCC 13048).

Tabla 12. Determinación de selectividad para Coliformes totales y *E. coli*.

Selectividad de Coliformes Totales y <i>E. coli</i>				
Cepa	Dilución	Valor de la característica		Total
		Presente	Ausente	
<i>E. coli</i>	10 ⁻⁸	6	0	6
<i>S. aureus</i>	10 ⁻⁴	0	6	6
Total		6	6	12

La selectividad se determinó utilizando χ^2 , obteniéndose de la siguiente manera:

Selectividad				
Cepa	Dilución	Valor de la característica		Total
		Presente	Ausente	
<i>positiva</i>		A	B	G=A+B
<i>negativa</i>		C	D	H=C+D
Total		E = A + C	F = B + D	I=A+B+C+D

En donde:

- (E) Número de ensayos realizados con testigos positivos verdaderos.
- (A) Número de ensayos positivos con testigos positivos verdaderos.
- (C) Número de ensayos Negativos con testigos positivos verdaderos.
- (F) Número de ensayos realizados con testigos negativos verdaderos.
- (B) Número de ensayos Positivos con testigos negativos verdaderos
- (D) Número de ensayos Negativos con testigos negativos verdaderos.

Determinar:

$$A_{esperado} = \frac{E * G}{I}$$

$$B_{esperado} = \frac{F * G}{I}$$

$$C_{esperado} = \frac{E * H}{I}$$

$$D_{esperado} = \frac{F * H}{I}$$

$$A_{esperado} = \frac{6 * 6}{12} = 3$$

$$B_{esperado} = \frac{6 * 6}{12} = 3$$

$$C_{esperado} = \frac{6 * 6}{12} = 3$$

$$D_{esperado} = \frac{6 * 6}{12} = 3$$

Luego:

$$A^* = A - A_{esperado}$$

$$A^* = 6 - 3 = 3$$

$$B^* = B - B_{esperado}$$

$$B^* = 0 - 3 = -3$$

$$C^* = C - C_{esperado}$$

$$C^* = 0 - 3 = -3$$

$$D^* = D - D_{esperado}$$

$$D^* = 6 - 3 = 3$$

También:

$$\alpha = \frac{(A^*)^2}{A_{esperado}}$$

$$\alpha = \frac{(3)^2}{3} = 3$$

$$\beta = \frac{(B^*)^2}{B_{esperado}}$$

$$\beta = \frac{(-3)^2}{3} = 3$$

$$k = \frac{(C^*)^2}{C_{esperado}}$$

$$k = \frac{(-3)^2}{3} = 3$$

$$\delta = \frac{(D^*)^2}{D_{esperado}}$$

$$\delta = \frac{(3)^2}{3} = 3$$

$$x^2 \text{ calculada} = \alpha + \beta + k + \delta$$

$$x^2 \text{ calculada} = 3 + 3 + 3 + 3$$

$$x^2 \text{ calculada} = 12$$

$$x^2 \text{ de tabla} = 3.841$$

La X^2 calculada es mayor que la X^2 de tablas al 95% de confianza con 1 grado de libertad ($r=1$, $c=1$) (Anexo 4), lo que permite concluir que el método posee una selectividad estadísticamente válida.

5.1.3. Especificidad

Para determinar la especificidad se tomaron en cuenta los datos obtenidos en la adición de 0.3mL de la dilución 10^{-8} de cepa positiva (*E. coli* ATCC 25922) y 0.1mL de dilución 10^{-4} de cepas negativas (*S. aureus* ATCC 25923 y *E. aerogenes* ATCC 13048).

Tabla 13. Determinación de especificidad para Coliformes totales.

<i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>					
Cepas de referencia	Especificidad Coliformes totales		Total	Especificidad	Analista
	Resultado del método a validar				
	positivo	negativo			
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	A
<i>S. aureus</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	B
<i>S. aureus</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	C
<i>S. aureus</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	D
<i>S. aureus</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	E
<i>S. aureus</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		

$$\text{Especificidad} = \frac{D}{D + B}$$

Dónde:

B = Falsos positivos

D = Verdaderos negativos

$$\text{Especificidad Coliformes totales} = \frac{6}{6 + 0} \times 100$$

Tabla 14. Determinación de especificidad para *E. coli*.

<i>E. coli</i> y <i>E. aerogenes</i>					
Cepas de referencia	Especificidad <i>E. coli</i>		Total	Especificidad	Analista
	Resultado del método a validar				
	positivo	negativo			
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	A
<i>E. aerogenes</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	B
<i>E. aerogenes</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	C
<i>E. aerogenes</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	D
<i>E. aerogenes</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	E
<i>E. aerogenes</i>	0	6	6		
Total	6	6	12		

$$\text{Especificidad } E. coli = \frac{6}{6 + 0} \times 100$$

La especificidad obtenida para Coliformes totales y *E. coli* fue de 100%, considerada una especificidad estadísticamente válida.

5.1.4. Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad se tomaron en cuenta los datos obtenidos en la adición de 0.3mL de la dilución 10^{-8} de cepa positiva (*E. coli* ATCC 25922).

Tabla 15. Determinación de sensibilidad para Coliformes totales y *E. coli*.

Cepas de referencia	Sensibilidad Coliformes totales y <i>E. coli</i>		Total	Sensibilidad	Analistas
	Resultado del método a validar				
	positivo	negativo			
<i>E. coli</i>	6	0	6	100%	A
	6	0	6	100%	B
	6	0	6	100%	C
	6	0	6	100%	D
	6	0	6	100%	E

$$Sensibilidad = \frac{A}{A + C}$$

Dónde:

A = Verdaderos positivos

C = Falsos negativos

$$Sensibilidad = \frac{6}{6 + 0} \times 100$$

La sensibilidad obtenida para Coliformes totales y *E. coli* fue de 100%, la cual es considerada una sensibilidad estadísticamente válida.

5.2. Detección de Coliformes totales y *E. coli* en agua tratada de la Zona Metropolitana de San Salvador.

El muestreo para la detección de Coliformes totales y *E. coli* en agua tratada de los municipios del Área Metropolitana de San Salvador, fue realizado durante los meses de enero a marzo del año 2018, obteniéndose los siguientes resultados:

5.2.1. Detección de Coliformes totales y *E. coli*.

Durante el mes de enero de 2018 se obtuvo un total de 29 muestras para determinar la presencia/ausencia de Coliformes totales y *E. coli*. Las muestras fueron tomadas en 7 municipios de la AMSS. De 29 muestras analizadas, dos fueron positivas para Coliformes totales y cero resultaron positivas para *E. coli* (Tabla 16) (Anexo 5).

Tabla 16. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, enero 2018.

N°	Id. De muestra	Fecha de muestreo	Ubicación	Coliformes Totales	<i>E. coli</i>
1	0407	18/1/2018	Cuscatancingo	A	A
2	0408	18/1/2018	Cuscatancingo	A	A
3	0409	18/1/2018	Mejicanos	A	A
4	0410	18/1/2018	Mejicanos	A	A
5	0411	18/1/2018	Mejicanos	A	A
6	0412	18/1/2018	Mejicanos	A	A
7	0413	18/1/2018	Mejicanos	A	A
8	0424	18/1/2018	San Salvador	A	A
9	0425	18/1/2018	San Salvador	A	A
10	0426	18/1/2018	San Salvador	A	A
11	0427	18/1/2018	San Salvador	A	A
12	0428	18/1/2018	Apopa	A	A
13	0429	18/1/2018	Apopa	A	A
14	0430	18/1/2018	Apopa	A	A
15	0431	18/1/2018	Apopa	A	A
16	0432	18/1/2018	Nejapa	A	A
17	0665	30/1/2018	San Salvador	A	A
18	0666	30/1/2018	Mejicanos	A	A
19	0667	30/1/2018	Mejicanos	A	A
20	0668	30/1/2018	Mejicanos	P	A
21	0669	30/1/2018	San Salvador	A	A
22	0670	30/1/2018	Soyapango	A	A
23	0671	30/1/2018	Soyapango	A	A
24	0672	30/1/2018	Santa Tecla	A	A
25	0673	30/1/2018	Santa Tecla	A	A
26	0674	30/1/2018	Santa Tecla	P	A
27	0675	30/1/2018	Santa Tecla	A	A
28	0676	30/1/2018	Santa Tecla	A	A
29	0677	30/1/2018	San Salvador	A	A

Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, enero 2018

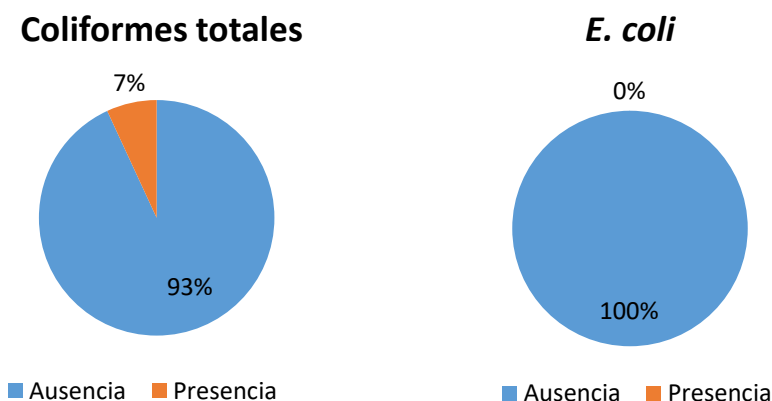


Gráfico 1. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, enero 2018.

Del total de muestras analizadas durante el mes de enero, el 7% (equivalente a 2 muestras) resultó positivo para Coliformes totales y el 100% resultaron negativas para *E. coli* (Gráfico 1).

Durante el mes de febrero se analizaron un total de 50 muestras, correspondientes a 10 municipios de la AMSS. Como resultado se obtuvo que todas fueron negativas para Coliformes totales y *E. coli* (Tabla 17). En el Gráfico 2 se observa que el 100% de las muestras fueron negativas para Coliformes totales y *E. coli* (Anexo 6).

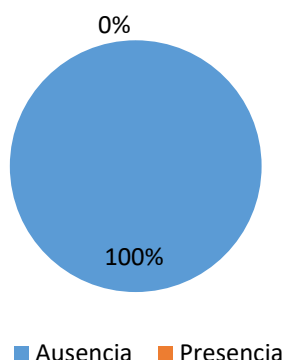
Tabla 17. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, febrero 2018.

N°	Id. De muestra	Fecha de muestreo	Ubicación	Coliformes Totales	<i>E. coli</i>
30	0848	6/2/2018	San Salvador	A	A
31	0849	6/2/2018	San Salvador	A	A
32	0850	6/2/2018	San Marcos	A	A
33	0851	6/2/2018	San Marcos	A	A
34	0852	6/2/2018	San Marcos	A	A
35	0853	6/2/2018	San Salvador	A	A
36	0854	6/2/2018	Antiguo Cuscatlán	A	A
37	0855	6/2/2018	Antiguo Cuscatlán	A	A
38	0856	6/2/2018	San Salvador	A	A
39	0857	6/2/2018	Santa Tecla	A	A

40	0858	6/2/2018	Santa Tecla	A	A
41	0859	6/2/2018	Santa Tecla	A	A
42	0860	6/2/2018	Santa Tecla	A	A
43	0861	6/2/2018	Santa Tecla	A	A
44	0862	6/2/2018	San Marcos	A	A
45	0863	6/2/2018	Antiguo Cuscatlán	A	A
46	0864	6/2/2018	Santa Tecla	A	A
47	1049	15/2/2018	San Salvador	A	A
48	1050	15/2/2018	San Salvador	A	A
49	1051	15/2/2018	Soyapango	A	A
50	1052	15/2/2018	Apopa	A	A
51	1053	15/2/2018	Apopa	A	A
52	1054	15/2/2018	Apopa	A	A
53	1055	15/2/2018	Mejicanos	A	A
54	1056	15/2/2018	Mejicanos	A	A
55	1057	15/2/2018	Mejicanos	A	A
56	1058	15/2/2018	Ayutuxtepeque	A	A
57	1059	15/2/2018	Mejicanos	A	A
58	1060	15/2/2018	Ayutuxtepeque	A	A
59	1061	15/2/2018	San Salvador	A	A
60	1062	15/2/2018	San Salvador	A	A
61	1063	15/2/2018	Mejicanos	A	A
62	1064	15/2/2018	San Salvador	A	A
63	1065	15/2/2018	Apopa	A	A
64	1066	15/2/2018	San Salvador	A	A
65	1239	23/2/2018	Ciudad Delgado	A	A
66	1240	23/2/2018	Ciudad Delgado	A	A
67	1241	23/2/2018	Soyapango	A	A
68	1242	23/2/2018	Soyapango	A	A
69	1243	23/2/2018	Ilopango	A	A
70	1244	23/2/2018	Ilopango	A	A
71	1245	23/2/2018	Ilopango	A	A
72	1246	23/2/2018	Ilopango	A	A
73	1247	23/2/2018	Ilopango	A	A
74	1248	23/2/2018	Santa Tecla	A	A
75	1249	23/2/2018	Santa Tecla	A	A
76	1250	23/2/2018	Santa Tecla	A	A
77	1251	23/2/2018	Santa Tecla	A	A
78	1252	23/2/2018	Santa Tecla	A	A
79	1253	23/2/2018	Ilopango	A	A

Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, febrero 2018

Coliformes Totales



E. coli

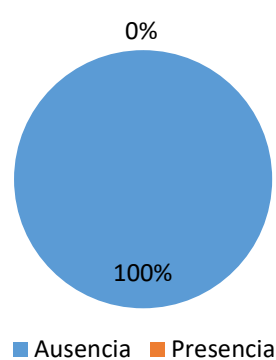


Gráfico 2. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, febrero 2018.

Para el mes de marzo 2018, se analizó un total de 61 muestras (Anexo 7), pertenecientes a 9 municipios de la AMSS. Se obtuvo un resultado positivo para Coliformes totales y *E. coli* (Tabla 18), lo que representa el 2% del total de muestras analizadas, como se observa en el Gráfico 3.

Tabla 18. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, marzo 2018.

N°	Id. De muestra	Fecha de muestreo	Ubicación	Coliformes Totales	<i>E. coli</i>
80	1357	1/3/2018	San Salvador	A	A
81	1358	1/3/2018	San Salvador	A	A
82	1359	1/3/2018	San Salvador	A	A
83	1360	1/3/2018	San Salvador	A	A
84	1361	1/3/2018	Ciudad Delgado	A	A
85	1362	1/3/2018	Ciudad Delgado	A	A
86	1363	1/3/2018	Soyapango	A	A
87	1364	1/3/2018	Soyapango	A	A
88	1365	1/3/2018	Soyapango	A	A
89	1366	1/3/2018	Ilopango	A	A
90	1367	1/3/2018	Ilopango	A	A
91	1368	1/3/2018	Ilopango	A	A
92	1369	1/3/2018	Ilopango	A	A
93	1370	1/3/2018	Ilopango	A	A

94	1371	1/3/2018	San Martin	A	A
95	1372	1/3/2018	San Martin	A	A
96	1373	1/3/2018	San Salvador	A	A
97	1374	1/3/2018	Ciudad Delgado	A	A
98	1375	1/3/2018	Ilopango	P	P
99	1376	1/3/2018	Soyapango	A	A
100	1377	1/3/2018	San Martin	A	A
101	1738	15/3/2018	Soyapango	A	A
102	1739	15/3/2018	Soyapango	A	A
103	1740	15/3/2018	Soyapango	A	A
104	1741	15/3/2018	Soyapango	A	A
105	1742	15/3/2018	Soyapango	A	A
106	1743	15/3/2018	San Salvador	A	A
107	1744	15/3/2018	San Salvador	A	A
108	1745	15/3/2018	San Salvador	A	A
109	1746	15/3/2018	San Salvador	A	A
110	1747	15/3/2018	Antiguo Cuscatlán	A	A
111	1748	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
112	1749	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
113	1750	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
114	1751	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
115	1752	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
116	1753	15/3/2018	Antiguo Cuscatlán	A	A
117	1754	15/3/2018	San Salvador	A	A
118	1755	15/3/2018	San Salvador	A	A
119	1756	15/3/2018	Santa Tecla	A	A
120	1757	15/3/2018	Apopa	A	A
121	1758	15/3/2018	Apopa	A	A
122	1897	22/3/2018	San Salvador	A	A
123	1898	22/3/2018	San Salvador	A	A
124	1899	22/3/2018	San Salvador	A	A
125	1900	22/3/2018	Santa Tecla	A	A
126	1901	22/3/2018	Santa Tecla	A	A
127	1902	22/3/2018	Santa Tecla	A	A
128	1903	22/3/2018	Santa Tecla	A	A
129	1904	22/3/2018	Santa Tecla	A	A
130	1905	22/3/2018	San Salvador	A	A
131	1906	22/3/2018	Cuscatancingo	A	A
132	1907	22/3/2018	Ciudad Delgado	A	A
133	1908	22/3/2018	Ciudad Delgado	A	A
134	1909	22/3/2018	Ciudad Delgado	A	A

135	1910	22/3/2018	Soyapango	A	A
136	1911	22/3/2018	Soyapango	A	A
137	1912	22/3/2018	Soyapango	A	A
138	1913	22/3/2018	San Salvador	A	A
139	1914	22/3/2018	Cuscatancingo	A	A
140	1915	22/3/2018	Santa Tecla	A	A

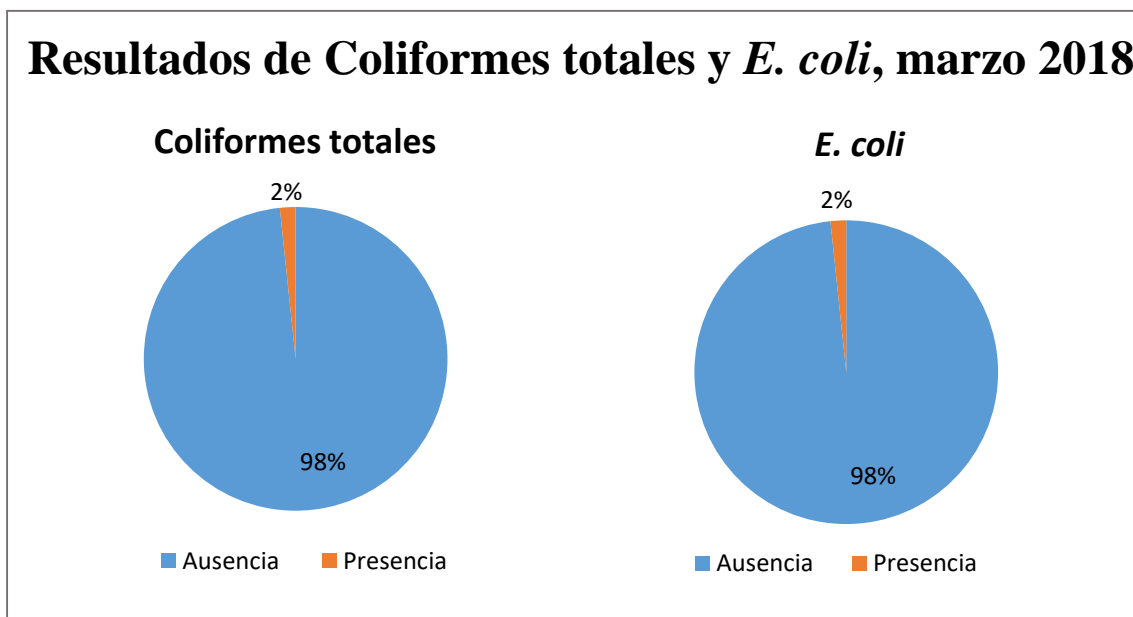


Gráfico 3. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, marzo 2018.

Durante todo el muestreo se analizaron un total de 140 muestras, las cuales fueron colectadas en los 14 municipios del Área Metropolitana de San Salvador, obteniéndose un 98% de ausencias para Coliformes totales y un 99% de ausencias para *E. coli* (Gráfico 4). El municipio de Ilopango fue el único lugar donde se encontró una muestra positiva para Coliformes totales y *E. coli* en la fecha 01/03/2018. En el caso de Coliformes totales, se encontraron 3 muestras positivas, la encontrada en Ilopango y otras dos, una en Mejicanos el 30/01/2018 y una en Santa Tecla el 30/01/2018.

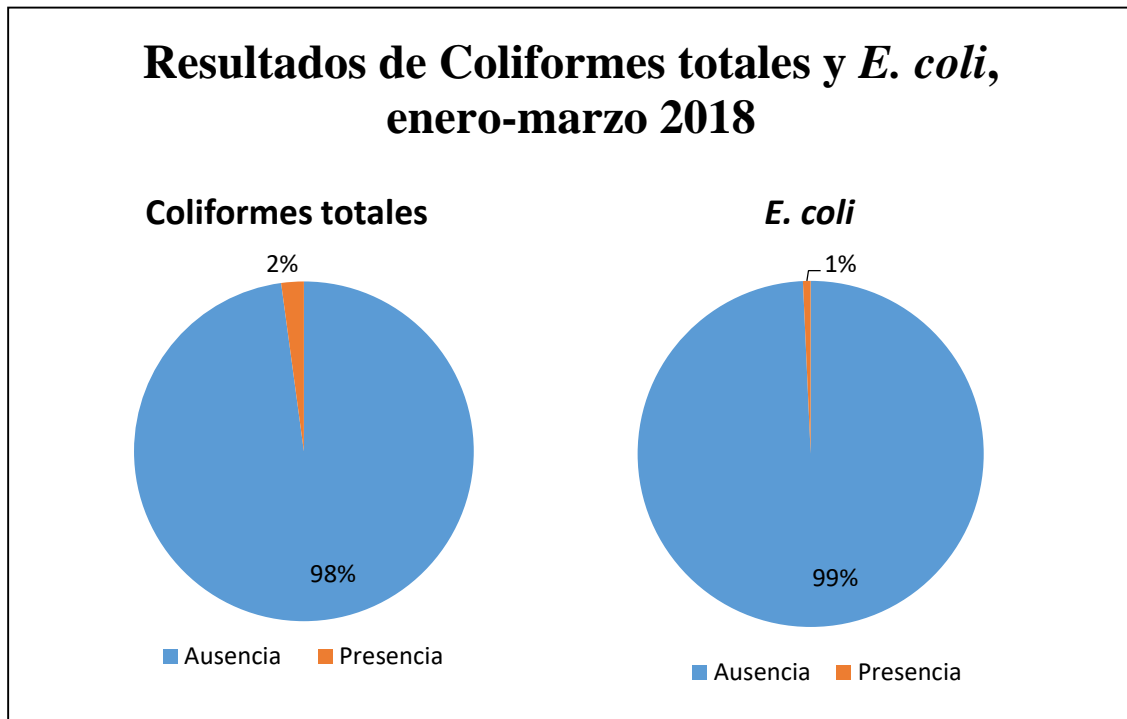


Gráfico 4. Resultados de Coliformes totales y *E. coli*, enero-marzo 2018.

Además de los análisis de Coliformes totales y *E. coli*, el Laboratorio de Control de Calidad de ANDA realizó los análisis de turbidez y cloro residual libre de cada muestra, dichos análisis no son parte de esta investigación, pero serán presentados como aporte para determinar la calidad sanitaria del agua tratada del Área Metropolitana de San Salvador.

La turbidez es un parámetro físico-químico regulado en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08, la cual establece un límite máximo permisible de 5 NTU (Unidad Nefelométrica de Turbidez) en muestras de agua tratada. De las 140 muestras que se analizaron en esta investigación, ninguna sobrepasó el límite máximo permisible (Tabla 19) (Gráfico 5).

El cloro residual libre también está contemplado en la NSO 13.07.01:08 y tiene como límite mínimo permisible 0.3 mg/L y como límite máximo permisible 1.1 mg/L. De las 140

muestras analizadas en esta investigación, todas estuvieron dentro de los límites establecidos en la norma (Tabla 19) (Gráfico 6).

Tabla 19. Resultados de Turbidez y Cloro Residual Libre. enero-marzo 2018.

N°	Id. De la muestra	Fecha de muestreo	Ubicación	Turbidez	Cloro residual mg/L
1	0407	18/1/2018	CUSCATANCINGO	1.16	0.8
2	0408	18/1/2018	CUSCATANCINGO	2.16	0.8
3	0409	18/1/2018	MEJICANOS	0.73	0.8
4	0410	18/1/2018	MEJICANOS	0.79	0.8
5	0411	18/1/2018	MEJICANOS	0.14	0.3
6	0412	18/1/2018	MEJICANOS	0.13	1.0
7	0413	18/1/2018	MEJICANOS	0.07	1.1
8	0424	18/1/2018	SAN SALVADOR	0.57	1.0
9	0425	18/1/2018	SAN SALVADOR	0.46	1.0
10	0426	18/1/2018	SAN SALVADOR	0.51	1.1
11	0427	18/1/2018	SAN SALVADOR	0.58	1.1
12	0428	18/1/2018	APOPA	0.16	1.0
13	0429	18/1/2018	APOPA	0.08	0.7
14	0430	18/1/2018	APOPA	0.06	0.6
15	0431	18/1/2018	APOPA	0.17	0.8
16	0432	18/1/2018	SAN SALVADOR	0.34	1.0
17	0665	30/1/2018	SAN SALVADOR	1.37	0.7
18	0666	30/1/2018	MEJICANOS	0.18	0.8
19	0667	30/1/2018	MEJICANOS	0.45	1.0
20	0668	30/1/2018	MEJICANOS	0.19	0.9
21	0669	30/1/2018	SAN SALVADOR	1.54	0.8
22	0670	30/1/2018	SOYAPANGO	0.13	1.0
23	0671	30/1/2018	SOYAPANGO	1.12	0.4
24	0672	30/1/2018	SANTA TECLA	0.28	0.9
25	0673	30/1/2018	SANTA TECLA	0.29	1.0
26	0674	30/1/2018	SANTA TECLA	0.49	1.0
27	0675	30/1/2018	SANTA TECLA	0.88	1.1
28	0676	30/1/2018	SANTA TECLA	0.36	0.8
29	0677	30/1/2018	SAN SALVADOR	0.31	0.8
30	0848	6/2/2018	SAN SALVADOR	0.34	0.8
31	0849	6/2/2018	SAN SALVADOR	2.60	0.6
32	0850	6/2/2018	SAN MARCOS	0.21	1.0
33	0851	6/2/2018	SAN MARCOS	0.32	0.9

Tabla 19. Resultados de Turbidez y Cloro Residual Libre. enero-marzo 2018.

34	0852	6/2/2018	SAN MARCOS	0.23	0.8
35	0853	6/2/2018	SAN SALVADOR	0.13	0.5
36	0854	6/2/2018	ANTIGUO CUSCATLAN	0.17	0.9
37	0855	6/2/2018	ANTIGUO CUSCATLAN	0.27	1.0
38	0856	6/2/2018	SAN SALVADOR	0.46	0.8
39	0857	6/2/2018	SANTA TECLA	0.19	1.0
40	0858	6/2/2018	SANTA TECLA	0.32	0.8
41	0859	6/2/2018	SANTA TECLA	0.18	1.0
42	0860	6/2/2018	SANTA TECLA	0.20	1.0
43	0861	6/2/2018	SANTA TECLA	0.10	0.9
44	0862	6/2/2018	SAN MARCOS	0.43	0.7
45	0863	6/2/2018	ANTIGUO CUSCATLAN	0.11	1.0
46	0864	6/2/2018	SANTA TECLA	0.17	0.6
47	1049	15/2/2018	SAN SALVADOR	0.62	0.5
48	1050	15/2/2018	SAN SALVADOR	1.87	0.3
49	1051	15/2/2018	SOYAPANGO	1.36	0.6
50	1052	15/2/2018	APOPA	0.18	0.8
51	1053	15/2/2018	APOPA	2.67	0.8
52	1054	15/2/2018	APOPA	2.36	1.0
53	1055	15/2/2018	MEJICANOS	2.11	0.8
54	1056	15/2/2018	MEJICANOS	3.74	0.8
55	1057	15/2/2018	MEJICANOS	4.95	0.3
56	1058	15/2/2018	AYUTUXTEPEQUE	1.26	0.7
57	1059	15/2/2018	MEJICANOS	0.27	0.7
58	1060	15/2/2018	AYUTUXTEPEQUE	0.37	1.0
59	1061	15/2/2018	SAN SALVADOR	0.68	0.7
60	1062	15/2/2018	SAN SALVADOR	0.41	0.7
61	1063	15/2/2018	MEJICANOS	0.50	0.7
62	1064	15/2/2018	SAN SALVADOR	0.53	0.7
63	1065	15/2/2018	APOPA	0.20	1.0
64	1066	15/2/2018	SAN SALVADOR	0.27	0.7
65	1239	23/2/2018	CIUDAD DELGADO	1.94	0.6
66	1240	23/2/2018	CIUDAD DELGADO	1.67	0.7
67	1241	23/2/2018	SOYAPANGO	2.04	0.8
68	1242	23/2/2018	SOYAPANGO	1.71	1.0
69	1243	23/2/2018	ILOPANGO	2.50	0.7
70	1244	23/2/2018	ILOPANGO	2.13	0.8
71	1245	23/2/2018	ILOPANGO	1.22	0.3
72	1246	23/2/2018	ILOPANGO	0.36	0.7

Tabla 19. Resultados de Turbidez y Cloro Residual Libre. enero-marzo 2018.

73	1247	23/2/2018	ILOPANGO	0.26	1.0
74	1248	23/2/2018	SANTA TECLA	0.23	0.7
75	1249	23/2/2018	SANTA TECLA	0.45	1.1
76	1250	23/2/2018	SANTA TECLA	0.31	1.1
77	1251	23/2/2018	SANTA TECLA	0.50	1.1
78	1252	23/2/2018	SANTA TECLA	0.11	0.8
79	1253	23/2/2018	ILOPANGO	2.23	0.7
80	1357	1/3/2018	SAN SALVADOR	1.21	0.4
81	1358	1/3/2018	SAN SALVADOR	0.25	0.8
82	1359	1/3/2018	SAN SALVADOR	0.57	0.7
83	1360	1/3/2018	SAN SALVADOR	1.36	0.6
84	1361	1/3/2018	CIUDAD DELGADO	1.58	0.7
85	1362	1/3/2018	CIUDAD DELGADO	1.34	0.5
86	1363	1/3/2018	SOYAPANGO	1.82	1.0
87	1364	1/3/2018	SOYAPANGO	1.97	0.8
88	1365	1/3/2018	SOYAPANGO	1.48	1.0
89	1366	1/3/2018	ILOPANGO	0.19	1.0
90	1367	1/3/2018	ILOPANGO	0.24	1.0
91	1368	1/3/2018	ILOPANGO	0.16	1.0
92	1369	1/3/2018	ILOPANGO	0.13	1.0
93	1370	1/3/2018	ILOPANGO	0.29	1.0
94	1371	1/3/2018	SAN MARTIN	0.26	0.8
95	1372	1/3/2018	SAN MARTIN	0.19	0.7
96	1373	1/3/2018	SAN SALVADOR	2.47	1.0
97	1374	1/3/2018	CIUDAD DELGADO	1.31	1.0
98	1375	1/3/2018	ILOPANGO	1.98	1.0
99	1376	1/3/2018	SOYAPANGO	0.50	1.0
100	1377	1/3/2018	SAN MARTIN	0.32	1.0
101	1738	15/3/2018	SOYAPANGO	1.22	1.0
102	1739	15/3/2018	SOYAPANGO	1.24	1.0
103	1740	15/3/2018	SOYAPANGO	1.17	0.9
104	1741	15/3/2018	SOYAPANGO	0.17	1.1
105	1742	15/3/2018	SOYAPANGO	0.31	1.0
106	1743	15/3/2018	SAN SALVADOR	1.41	0.7
107	1744	15/3/2018	SAN SALVADOR	1.44	0.7
108	1745	15/3/2018	SAN SALVADOR	0.21	1.0
109	1746	15/3/2018	SAN SALVADOR	0.48	1.0
110	1747	15/3/2018	ANTIGUO CUSCATLAN	0.24	1.0
111	1748	15/3/2018	SANTA TECLA	0.24	1.0

Tabla 19. Resultados de Turbidez y Cloro Residual Libre. enero-marzo 2018.

112	1749	15/3/2018	SANTA TECLA	0.34	0.9
113	1750	15/3/2018	SANTA TECLA	0.27	0.9
114	1751	15/3/2018	SANTA TECLA	0.35	0.7
115	1752	15/3/2018	SANTA TECLA	0.31	0.8
116	1753	15/3/2018	ANTIGUO CUSCATLAN	0.32	0.9
117	1754	15/3/2018	SAN SALVADOR	0.42	0.8
118	1755	15/3/2018	SAN SALVADOR	0.28	0.7
119	1756	15/3/2018	SANTA TECLA	0.15	0.6
120	1757	15/3/2018	APOPA	0.21	1.0
121	1758	15/3/2018	APOPA	0.16	0.8
122	1897	22/3/2018	SAN SALVADOR	0.97	0.6
123	1898	22/3/2018	SAN SALVADOR	0.85	1.0
124	1899	22/3/2018	SAN SALVADOR	0.33	0.7
125	1900	22/3/2018	SANTA TECLA	0.27	0.6
126	1901	22/3/2018	SANTA TECLA	0.36	1.0
127	1902	22/3/2018	SANTA TECLA	0.38	1.0
128	1903	22/3/2018	SANTA TECLA	0.6	0.6
129	1904	22/3/2018	SANTA TECLA	0.57	1.1
130	1905	22/3/2018	SAN SALVADOR	0.30	1.1
131	1906	22/3/2018	CUSCATANCINGO	1.29	1.1
132	1907	22/3/2018	CIUDAD DELGADO	1.62	1.0
133	1908	22/3/2018	CIUDAD DELGADO	2.76	1.0
134	1909	22/3/2018	CIUDAD DELGADO	0.17	1.1
135	1910	22/3/2018	SOYAPANGO	0.20	1.1
136	1911	22/3/2018	SOYAPANGO	0.09	1.1
137	1912	22/3/2018	SOYAPANGO	0.11	1.1
138	1913	22/3/2018	SAN SALVADOR	0.53	1.1
139	1914	22/3/2018	CUSCATANCINGO	0.84	1.0
140	1915	22/3/2018	SANTA TECLA	0.18	1.1

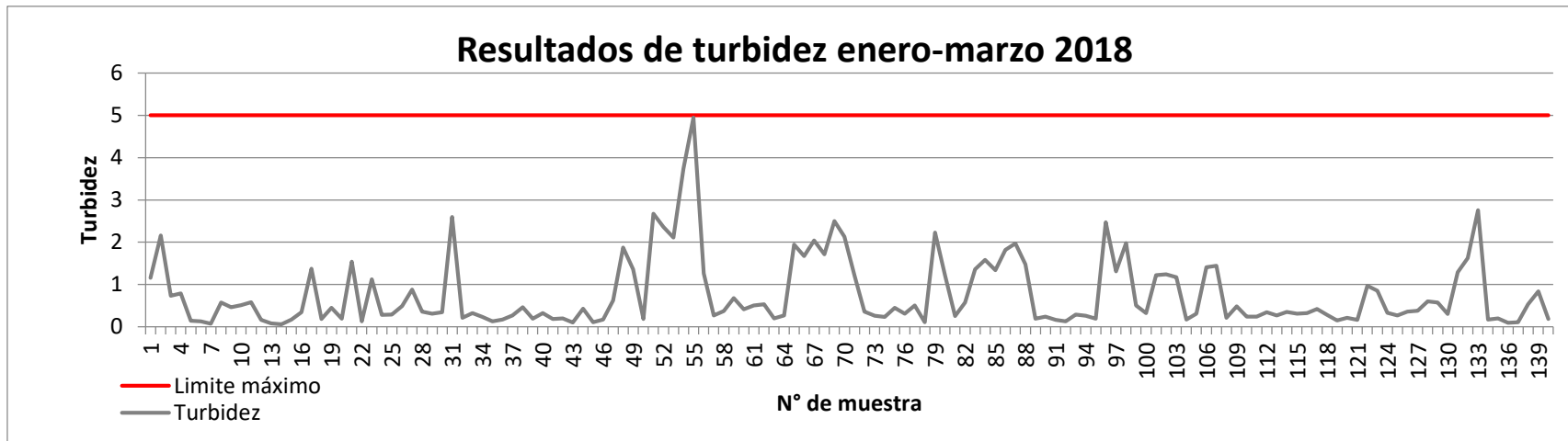


Gráfico 5. Resultados de Turbidez, enero-marzo 2018.

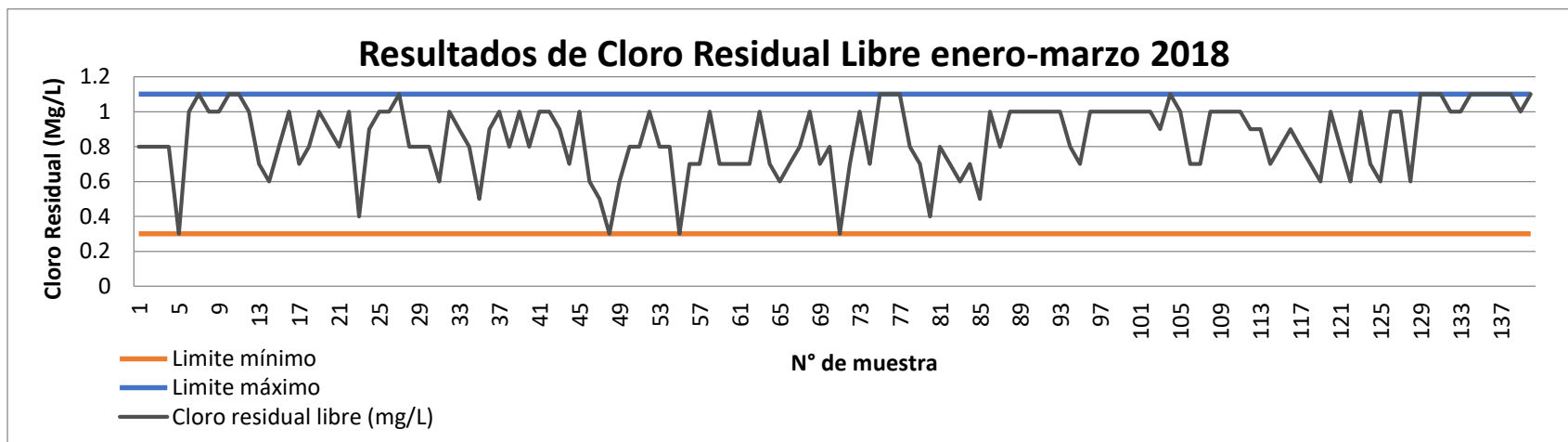


Gráfico 6. Resultados de Cloro Residual Libre, enero-marzo 2018.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La validación realizada en esta investigación demostró que el método enzima sustrato para la determinación de Coliformes totales y *E. coli* por la técnica presencia/ausencia, posee una sensibilidad del 100% y según Sánchez y colaboradores (2010), Cuesta (2015) y la Política de validación del OSA (2014), es una tasa de sensibilidad alta, ya que el método es capaz de dar una respuesta analítica positiva cuando el analito de interés está presente. Sin embargo, dicho resultado contrasta con el estudio realizado por Alfaro & Rojas en 2006, en donde se realizó la validación del mismo método y se obtuvo una baja sensibilidad, lo que se debe al tipo de cepas microbiológicas utilizadas o a la metodología empleada al momento de realizar la validación, ya que según su esquema de trabajo, las cepas se cultivaron directamente en un agar selectivo (Chromocult), contrario a lo que recomienda el fabricante (Oxoid 2001) y en un agar de crecimiento general, pero ninguno de ellos es un medio de cultivo de referencia como lo establece la Norma de medios de cultivo ISO 11133:2014.

Otro aspecto importante en la validación de métodos analíticos es el límite de detección, para este estudio fue de 4 UFC, demostrando que el método es capaz de detectar microorganismos en bajas concentraciones y es apto para el uso previsto, siendo lo establecido en la Política de Validación del OSA (2014), que un método analítico es válido si posee un límite de detección menor a 10 UFC y preferentemente menor o igual a 5 UFC. El resultado anterior difiere con lo obtenido por Alfaro & Rojas (2006), que obtuvieron un límite de detección de 21 UFC. Dicha diferencia está relacionada a la metodología empleada para realizar el recuento de las UFC, ya que Alfaro & Rojas no utilizaron un método de referencia para realizar el recuento, sino que utilizaron el recuento obtenido por el método de filtración por membrana, que era otro método que estaba siendo sometido a validación en ese momento.

La compañía Merck en 2007, obtuvo un límite de detección de 1 UFC para Coliformes totales y *E. coli*, siendo aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), como un método oficial para el monitoreo de aguas para el consumo. Dicho resultado es similar al resultado obtenido en esta investigación en donde se obtuvo un límite de detección de 4 UFC. Para Sartory (2005), variaciones pequeñas entre resultados se deben a

muchos factores que permiten o limitan el crecimiento de las bacterias al momento de su uso, constituyendo una variabilidad natural que puede ser ocasionada por el estado metabólico de las células, el nivel de estrés o de crecimiento en el que se encuentran las bacterias en ese momento.

Para comprobar la selectividad, el método fue sometido a prueba con diferentes cepas, siendo éste capaz de detectar solamente los ensayos con testigos positivos verdaderos, cumpliendo con lo descrito por Sánchez y colaboradores (2010) y Cuesta (2015), que un método analítico es apto cuando el método es capaz de diferenciar analitos específicos en mezclas o matrices sin interferencias de otros analitos con un comportamiento similar.

La especificidad es otro parámetro que determina el buen desempeño de un método analítico, para esta investigación se obtuvo una especificidad del 100%. Sánchez y colaboradores en 2010 describen que un método con buena especificidad debe poseer una especificidad mayor o igual al 95%.

Como resultado del análisis de 140 muestras de la Zona Metropolitana de San Salvador, se obtuvo 98% de resultados negativos para Coliformes totales y 99% de resultados negativos para *E. coli*. Las 3 muestras positivas para Coliformes totales fueron obtenidas en los municipios de Ilopango, Mejicanos y Santa Tecla. La muestra positiva para *E. coli* corresponde al municipio de Ilopango.

Según datos obtenidos por diferentes organizaciones en años anteriores, se presentan variaciones en cuanto a resultados de análisis de Coliformes totales y *E. coli* en la AMSS. La Fundación Nacional para el Desarrollo (FUNDE) en 2006, reportaba que el 45% de las muestras de agua tratada a nivel nacional no cumplían con los estándares de calidad establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria de Agua Potable. Para el 2008 el Ministerio de Salud (MINSAL) reportaba que el 92% de las muestras cumplía lo establecido en la NSO de agua potable. Finalmente, para el 2013 el Programa de Vigilancia de la Calidad del Agua del MINSAL reportó que el 100% de las muestras analizadas del AMSS cumplían con la norma vigente en cuanto a parámetros microbiológicos.

Los resultados de cloro residual libre del 100% de las muestras estuvieron dentro del rango de 0.3 a 1.1 mg/L, con lo cual se cumple lo establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria

NSO 13.07.01:08. De igual manera los resultados de turbidez de todas las muestras estuvieron por debajo de 5 NTU, que es lo establecido como límite máximo permisible en la NSO 13.07.01:08.

VII. CONCLUSIONES

A través de la validación del método enzima sustrato para la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli* por la técnica presencia/ausencia, se logró demostrar que el método es capaz de detectar bajas concentraciones de hasta 4 UFC en matriz de agua tratada. Además, se obtuvo tasas de especificidad y sensibilidad del 100%, lo que demuestra que el método es apto para los fines previstos.

La alta selectividad obtenida por el método durante la validación, demuestra que el método es específico para la detección de Coliformes totales y *E. coli* en matriz de agua tratada y que permite obtener una respuesta positiva cuando el analito de interés está presente, aun cuando pueda existir interferencia de otros analitos de comportamiento similar presentes en la matriz.

Con base a los resultados obtenidos por medio del monitoreo y análisis de muestras de agua tratada de la Zona Metropolitana de San Salvador y tomando como referencia lo establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08, en cuanto a parámetros microbiológicos, se determinó que el agua tratada distribuida en el Área Metropolitana de San Salvador al momento en que se realizó esta investigación, poseía una buena calidad sanitaria y en su mayoría, era apta para el consumo humano.

VIII. RECOMENDACIONES

En toda investigación de laboratorio y/o campo se recomienda, validar las metodologías antes de su uso, para determinar si son aptas para los usos previstos.

Es necesario realizar una revisión exhaustiva del nuevo Reglamento Técnico Salvadoreño RTS 13.02.01:14 (Reglamento que entró en sustitución de la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08) para incluir, dentro de otras cosas, el método de presencia/ausencia (Readycult coliform 100), como un método aprobado para el análisis de agua tratada.

Realizar investigaciones más amplias acerca de la calidad sanitaria del agua tratada a nivel nacional, incluyendo dentro de los análisis los parámetros físico-químicos, para dar a conocer a la población la calidad del agua que se consume.

Fortalecer el Laboratorio de Control de Calidad de ANDA, ya que es la unidad encargada de realizar los análisis rutinarios para dicha institución y que brindan la información necesaria para mantener los estándares de calidad en el agua tratada a nivel nacional.

A las autoridades nacionales competentes, poner a disposición de la población en general, informes continuos de los resultados de análisis realizados en el agua que se distribuye a nivel nacional.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfaro CA y Rojas MX. 2006. Validación de los métodos de filtración por membrana y sustrato definido Readyult, para la detección de Coliformes Totales y *Escherichia coli* en aguas crudas, tratadas y potables en el acueducto de Zipaquira. Trabajo de grado en Microbiología Industrial. Colombia (Bogotá). Pontificia Universidad Javeriana. 64 p.
- APHA- AWWA-WPCF 2012. *Standard methods for the examination of water and waste water*, 22st edn. American Public Health Association, Washington, DC.
- Avilés SJ, Díaz CZ y López FB. 2008. La administración sostenible de los sistemas de agua para consumo humano y saneamiento en el municipio de Nejapa, departamento de San Salvador. Trabajo de grado en Ciencias Jurídicas, Universidad de El Salvador. 307 p.
- Barreto G. 1997. *Escherichia coli*: un reto después de 111 años de estudio. Rev. Archivo médico de Camagüey Vol. 1 No. 2. Camagüey, Cuba.
- Cabrera JR y Hernández MG. 2008. Validación de la prueba de Coliformes totales y fecales por la técnica de tubos múltiples utilizando un medio fluorogénico. Trabajo de grado en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. El Salvador. 184 p.
- Cano SA. 2003. Fitoplancton y Coliformes como indicadores de la calidad del agua en el Parque Nacional Laguna del Tigre, Petén. Trabajo de grado en Química Biológica. Guatemala. Universidad de San Carlos. 70 p.
- Carrillo EM y Lozano AM. 2008. Validación del método de detección de Coliformes totales y Fecales en agua potable utilizando Agar Chromocult. Trabajo de grado en Microbiología Industrial. Colombia (Bogotá). Pontificia Universidad Javeriana. 97 p.
- Cázares M y Alcantara A. 2014. Análisis microbiológico de la calidad del agua de ciudad Nezahualcóytl, acorde a la norma oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Congreso Iberoamericano de Ciencia, Tecnología, Innovación y Educación. Buenos Aires, Argentina. 30p.

- Contreras RA y Romero EM. 2004. Evaluación microbiológica de la calidad del agua potable que distribuye ANDA en los sectores de San Bartolo, Santa Lucía y San Martín. Trabajo de grado en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 103 p.
- Cruz R, Alvarado JC, Velásquez BC, Elías JN y Dheming PA. 2008. Manual de procedimientos técnicos para la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano. Ministerio de Salud de El Salvador. El Salvador. 48 p.
- Cuesta A. 2015. Curso sobre validación de métodos microbiológicos en laboratorios de ensayo. Dictado en El Salvador del 13-17 de febrero. El Salvador.
- Curtis H, Barnes S, Schnek A, Massarini A. 2008. Biología de Curtis. Séptima ed. Editorial Médica Panamericana. 1160 p.
- Daniels W. W. 2008. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. 4a Ed. Limusa Wiley, México. 663 p.
- Emiliani F, Lajmanovich R, Bonetto SM y Acosta MA. 1999. Evaluación comparativa de métodos fluorogénicos y cromogénicos para el recuento de Coliformes y de *Escherichia coli* en el Rio Salado (Santa Fe, Argentina). Rev. FABICIB, Vol.3. Pág. 13-24. Argentina. 12 p.
- Goez M, Vázquez MJ, Pena P. 2006. Determinación y diferenciación de *Escherichia coli* y Coliformes totales usando un mismo sustrato cromogénico. Santiago de Compostela, España. 17 p.
- ISO 11133:2014. *Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. Primera edición. 99 p.
- ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración (Primera actualización). 38 p.
- Köster, W; Egli, T; Ashbolt, N; Botzenhart, K; Burlion, N; Endo, T; Grimont, P; Guillot, E; Mabilat, C; Newport, L; Niemi, M; Payment, P; Prescott, A; Renaud, P; Rust, A. 2003. *Analytical methods for microbiological water quality testing. In Assessing*

Microbial Safety of Drinking Water Improving Approaches and Method; WHO & OECD. Londres. 237–292 p.

Larrea JA, Rojas MM, Romeu B, Rojas NM, Heydrich M. 2013. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Rev. CENIC Ciencias Biológicas*. Vol. 44, No.3. 24-34 p.

Melara SA. 2016. determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en agua de consumo humano en la colonia Los Naranjos, Apopa, San Salvador.

Merck. 2007. *Readycult Coliform 100 Presence/Absence Test for Detection and Identification of Coliform Bacteria and Escherichia coli in Finished Waters. Version 1.1*. Alemania. 10 p.

Merck. 2008. Readycult Coliform 100. Ficha técnica. Alemania.

Michelli E, Millán A, Rodulfo H, Michelli M, Luiggi J, Carreño N y de Donato M. 2016. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela. *Rev. Biomédica*. Vol. 33. No.1. Bogotá Colombia. 118-127 pp.

[MINSAL] Ministerio de Salud de El Salvador. 2013. Información Bacteriológica del Agua por Región de Salud. Cuarto Trimestre 2013. Disponible en la web: <http://usam.salud.gob.sv>

[NSO] Norma Salvadoreña Obligatoria. 2008. Agua. Agua Potable (Segunda Actualización) NSO 13.07.01:08. El Salvador. 20 p.

[OMS] Organización Mundial para la Salud. 2008. Guía para la calidad de agua potable. 3ª ed. 105-126 p.

[OPAMSS] Oficina de Planificación del Área Metropolitana de San Salvador. 2017. Gestión Territorial. Consultado en línea en la web: www.opamss.org.sv (Consultado: el 10 de junio de 2017).

- [OSA] Organismo Salvadoreño de Acreditación. 2014. Política para la validación y estimación de incertidumbre de métodos microbiológicos. PO 9.4. Versión 1. El Salvador. 17 p.
- Redondo Solano M. 2008. Validación de una metodología alternativa para el análisis de Coliformes Totales y Fecales en muestras de agua mediante la técnica de Número Más Probable (NMP) y determinación de la vida útil de agua almacenada en refrigeración. Trabajo de grado en Microbiología y Química Clínica. Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 57 p.
- Rivera R. 2006. Agua y gobernabilidad en El Salvador. Fundación Nacional para el Desarrollo (FUNDE). Alternativas Para el Desarrollo N° 101. El Salvador. 17 p.
- Rodríguez-Angeles G, 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud pública Méx vol.44 no.5 Cuernavaca. México.
- Rodríguez I, Novoa MC, Mieres MA, Herrera R y González Y. 2003. Determinación de Coliformes Totales y *E. coli* en aguas utilizando el Fluorocult LMX (MERCK) I: Comparación con los medios de cultivo tradicionales. Rev. Ingeniería Hidráulica y Ambiental, vol. XXIV No. 3 (2003). La Habana, Cuba. 15-20 p.
- Romero M. 2010. Tratamientos utilizados en potabilización del agua. Facultad de Ingeniería, Universidad Rafael Landívar. Boletín electrónico No.08. Guatemala. 12 p.
- Romeu B. 2012. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la habana. Trabajo de grado en doctorado de ciencias biológicas. Universidad de la Habana, La Habana, Cuba. 159 p.
- [RTS] Reglamento Técnico Salvadoreño 2018. Agua. Agua de consumo humano. Requisitos de calidad e inocuidad. RTS 13.02.01:14. El Salvador. 26 p.
- Ruisánchez I, Trullols E y Rius FX. 2003. Validación de métodos analíticos cualitativos. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España. 10 p.

Sánchez JF, Tejada ME, Koch W, Mora JL, Marroquín R, Hernández V, Islas V, Sánchez EG y De León A. 2010. Validación de métodos analíticos no cuantitativos. Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 41 No. 2. D.F. México. 15-24 p.

Sartory D. 2005. *Review: Validation, verification and comparison: Adopting new methods in water microbiology*. Water SA Vol. 31 N°3. United Kingdom. 393-397 p.

Sitios web:

Oxoid 2001. Culti-Loops®. http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp

X. ANEXOS

Anexo 1. Requisitos físico-químicos, límites máximos permisibles para sustancias químicas y otros productos según la NSO 13.07.01:08.

Parámetro	Unidad	Límite Máximo Permissible
Color verdadero	(Pt-Co)	15
Olor	-	No Rechazable
pH	-	8.5
Sabor	-	No Rechazable
Sólidos totales disueltos	Mg/l	1000
Turbidez	UNT	5
Temperatura	°C	No Rechazable

Parámetro	Límite Máximo Permissible (mg/l)
Aluminio	0.2
Antimonio	0.006
Cobre	1.3
Dureza Total como (CaCO ₃)	500
Fluoruros	1.00
Plata	0.07
Sodio	200.00
Sulfatos	400.00
Zinc	5.00
Hierro Total	0.30
Manganeso	0.1

Parámetro	Límite Máximo Permissible (mg/l)
Arsénico	0.01
Bario	0.70
Boro	0.30
Cadmio	0.003
Cianuros	0.05
Cromo (Cr ⁺⁶)	0.05
Mercurio	0.001
Niquel	0.02
Nitrato (NO ₃)	45.00
Nitrito (Medido como Nitrógeno)	1.00
Molibdemo	0.07

Plomo	0.01
Selenio	0.01

Parámetro	Límite Máximo Permisible (µg/litro)
Aceites y grasas	Ausencia
Benzeno	10
Tetracloruro de carbono	4
2 etilexil eftalato	8
1,2- diclorobenzeno	1000
1,4- diclorobenzeno	300
1,2- dicloroetano	4
1,1 dicloroetano	30
1,2 docloroetano	50
Diclorometano	20
1,4 Dioxano	50
Ácido edético (EDTA)	600
Etilbenzeno	300
Hexaclorobutadieno	0.6
Acido Nitrilo triacético (NTA)	200
Pentaclorofenol	9
Estireno	20
Tetracloroetano	40
Tolueno	700
Tricloroetano	71
Xilenos	500

Anexo 2. Hojas de mantenimiento de equipos y certificados de: cepas microbiológicas, medios de cultivo, mantenimientos, calibración de equipos, termómetros y termo higrómetro.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-267** Reference Number: ATCC® 25922™* Purity: Pure Passage from Reference: 3 Mean Assay Value (MAV): 4.2E+03 CFU per pellet	Expiration Date: 2018/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Megan C Wipper Release Date: 2017/8/3
Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough Microscopic Features: Gram negative straight rod	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.	
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.	
⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.	
Individual products are traceable to a recognized culture collection.	
 REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02	(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
ATCC Licensed Derivative	(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.
 TESTING CERT #2655.01	



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Klebsiella aerogenes Catalog Number: 0306 Lot Number: 306-158** Reference Number: ATCC® 13048™* Purity: Pure Passage from Reference: 3 Mean Assay Value (MAV): 4.4E+03 CFU per pellet	Expiration Date: 2018/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Megan C Wipper Release Date: 2016/12/8
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex, circular colonies Microscopic Features: Straight gram negative rod	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p> Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <div style="margin-top: 10px;"> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> </div> <div style="margin-top: 20px;">  TESTING CERT #2655.01 </div>	



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-300** Reference Number: ATCC® 25923™** Purity: Pure Passage from Reference: 3 Mean Assay Value (MAV): 6.5E+03 CFU per pellet	Expiration Date: 2018/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Caitlyn J Laudenbach Release Date: 2016/12/5
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p>	
<p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
	<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>
 TESTING CERT #2655.01	<p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>



Certificate of Analysis

1.05458.0500 Tryptic Soy agar acc. EP, USP, JP, ISO and FDA-BAM GranuCult™
Batch VM729958

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (colour)	yellowish brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.1 - 7.5	7.5
Solidification behaviour (2 hrs., 45 °C)	liquid	liquid
Stability test (Colour and hemolysis)	non-hemolytic	passes test

Typical composition (g/litre): Pancreatic digest of casein 15.0; Papaic digest of soya bean 5.0; Sodium chloride 5.0; Agar-Agar 15.0.
Groth promotion test in accordance with the harmonised method of EP, USP and JP.

	Spec. Values	Batch Values
Inoculum on reference medium (Staphylococcus aureus ATCC 6538 (WDCM 00032))	10 - 100	33
Inoculum on reference medium (Bacillus subtilis ATCC 6633 (WDCM 00003))	10 - 100	36
Inoculum on reference medium (Escherichia coli ATCC 8739 (WDCM 00012))	10 - 100	33
Inoculum on reference medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	10 - 100	78
Inoculum on reference medium (Candida albicans ATCC 10231 (WDCM 00054))	10 - 100	41
Inoculum on reference medium (Aspergillus brasiliensis (formerly A. niger) ATCC 16404 (WDCM 00053))	10 - 100	50
Colony count (Staphylococcus aureus ATCC 6538 (WDCM 00032))		37
Colony count (Bacillus subtilis ATCC 6633 (WDCM 00003))		30
Colony count (Escherichia coli ATCC 8739 (WDCM 00012))		41
Colony count (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))		87
Colony count (Candida albicans ATCC 10231 (WDCM 00054))		43
Colony count (Aspergillus brasiliensis (formerly A. niger) ATCC 16404 (WDCM 00053))		55
Recovery on test medium (Staphylococcus aureus ATCC 6538 (WDCM 00032))	≥ 70 %	112 %
Recovery on test medium (Bacillus subtilis ATCC 6633 (WDCM 00003))	≥ 70 %	83 %
Recovery on test medium (Escherichia coli ATCC 8739 (WDCM 00012))	≥ 70 %	124 %
Recovery on test medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	≥ 70 %	112 %

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 3



Certificate of Analysis

1.05459.0500 Tryptic Soy Broth Casein-peptone soymeal-peptone broth for microbiology
(According harm. EP/USP/JP and ISO)
Batch VM746759

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (colour)	yellowish brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.1 - 7.5	7.2
Stability test (7 days, room temperature)	clear	passes test

Typical composition (g/litre): Pepton from casein 17.0; Pepton from soymeal 3.0; D(+)-Glucose monohydrate 2.5; Sodium chloride 5.0; di-Potassium hydrogen phosphate 2.5.

Growth promotion test in accordance with the harmonised method of EP, USP and JP.

	Spec. Values	Batch Values
Inoculum on reference medium (Staphylococcus aureus ATCC 6538 (WDCM 00032))	10 - 100	28
Inoculum on reference medium (Bacillus subtilis ATCC 6633 (WDCM 00003))	10 - 100	56
Inoculum on reference medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	10 - 100	27
Inoculum on reference medium (Escherichia coli ATCC 8739 (WDCM 00012))	10 - 100	85
Inoculum on reference medium (Streptococcus pneumoniae ATCC 6301)	10 - 100	32
Inoculum on reference medium (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	10 - 100	17
Inoculum on reference medium (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	10 - 100	72
Inoculum on reference medium (Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 (WDCM 00036))	10 - 100	35
Inoculum on reference medium (Candida albicans ATCC 2091 (WDCM 00055))	10 - 100	21
Inoculum on reference medium (Candida albicans ATCC 10231 (WDCM 00054))	10 - 100	73
Inoculum on reference medium (Aspergillus brasiliensis (formerly A. niger) ATCC 16404 (WDCM 00053))	10 - 100	85

reference medium: Tryptic Soy Agar (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Staphylococcus epidermidis), SABOURAUD-2%-Glucose Agar (Candida albicans, Aspergillus brasiliensis)

	Spec. Values	Batch Values
Growth / 18-24h at 30-35°C (Staphylococcus aureus ATCC 6538(WDCM 00032))	visible growth	passes test

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 2



Certificate of Analysis

1.01298.0001 Coliforms 100 ReadyCult®
Batch VM785198

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (colour)	yellowish	yellowish
pH-value (25 °C)	6.6 - 7.0	6.8
Sterility test (48 hrs., 35 °C)	passes test	passes test
	Spec. Values	Batch Values
Inoculum on reference medium (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	10 - 100	91
Inoculum on reference medium (Citrobacter freundii ATCC 8090)	10 - 100	72
Inoculum on reference medium (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	10 - 100	70
Inoculum on reference medium (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	10 - 100	97
Inoculum on reference medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	≥ 1000	≥ 1000
Growth (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
Growth (Citrobacter freundii ATCC 8090)	+	+
Growth (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	+	+
Growth (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	+	+
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	no limit	+
colour change to blue-green (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
colour change to blue-green (Citrobacter freundii ATCC 8090)	+	+
colour change to blue-green (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	+	+
colour change to blue-green (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	-	+
colour change to blue-green (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	-	-
Fluorescence (Escherichia coli ATCC 11775 (WDCM 00090))	+	+
Fluorescence (Citrobacter freundii ATCC 8090)	-	-
Fluorescence (Klebsiella pneumoniae ATCC 31488)	-	-
Fluorescence (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	-	-
Fluorescence (Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 (WDCM 00024))	-	-

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321

Page 1 of 2

*Augusto: 22-08-18
(certificado)*



SERVICIOS DE CALIBRACIÓN, S.A. DE C.V.

CERTIFICADO CARACTERIZACION

Certificado No.: TEM03200717RR

Equipo: Autoclave

Marca: Market Forge

Modelo: STME

Serie: 170418

Código: E02

Intervalo: 110 °C a 121 °C / 0 psi a 30 psi

Intervalo de Caracterización: 121 °C / 15 psi

División de Escala: 2 °C / 1 psi

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: N/A

Fecha de Caracterización: 2020-07-17

Fecha de Emisión : 2020-07-25

Próxima Caracterización: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: **ANDA ZONA NORTE**

Dirección/ Lugar de Caracterización: Boulevard del Hipódromo, # 609, Colonia San Benito,
San Salvador, El Salvador.

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura la trazabilidad del patrón con certificado No. 20190923-102-6 y 20190923-102-7 de SCM.

PROCEDIMIENTO No.: PT-14

METODO: Basado en Guía DKD R-5-7:2009 para la calibración una cámara Climática o Medio Isotérmico, método (A y B), y según UNE-EN 60068-3-5 parte 3-5.

PT-10:FT-01 Pág. 1/3

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01-15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv



CERTIFICADO CARACTERIZACION

Certificado No. TEM02170428RR

Equipo: Baño María

Marca: Digisystem

Modelo: WB-500D

Serie: 0805023

Código: E100

Intervalo: Temperatura Amb °C a 100 °C

Intervalo de Caracterización: 45 °C

Resolución: 0,1 °C

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: N/A

Fecha de Caracterización: 2017-04-28

Próxima Caracterización: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: **ANDA ZONA NORTE**

Dirección/ Lugar de Caracterización: Boulevard del Hipódromo, # 609, Col. San Benito, San Salvador,
El Salvador

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura la trazabilidad del patrón con certificado No. 20170221-08-13-B de SCM.

PROCEDIMIENTO No.: PT-14

METODO: Basado en Guía DKD R-5-7:2009 para la calibración una cámara Climática o Medio Isotérmico, método A y B.

PT-10:FT-01 Pág. 1/2

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01:15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv



SERVICIOS DE CALIBRACIÓN, S.A. DE C.V.

CERTIFICADO CARACTERIZACION

Certificado No. TEM01170424JV

Equipo: Incubadora
Marca: Yamato Scientific
Modelo: 305L Lab Genus
Serie: B7800145
Código: E 06
Intervalo: Temperatura Amb + 5 °C a 80 °C

Intervalo de Caracterización: 35 °C ± 0,5 °C

Resolución: 0,5 °C

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: N/A

Fecha de Caracterización: 2017-04-24

Próxima Caracterización: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: **ANDA ZONA NORTE**

Dirección/ Lugar de Caracterización: Boulevard del Hipódromo, # 609, Col. San Benito, San Salvador, El Salvador

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura la trazabilidad del patrón con certificado No. 20170221-08-13-B de SCM

PROCEDIMIENTO No.: PT-14

METODO: Basado en Guía DKD R-5-7:2009 para la calibración una cámara Climática o Medio Isotérmico, método A y B.

PT-10:FT-01 Pág. 1/2

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01:15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv

Urbanización Lisboa, #102, Av. Rocío y Calle San Antonio Abad, San Salvador, El Salvador, C.A.,
Tel.: 2272-1735, Cel.: 7888-9128, E-mail: sercal_es@yahoo.com / www.sercalsv.com



Comercio y Representaciones, S.A. de C.V.

RESIDENCIAL SAN LUIS, AV. LINCOLN, BLOCK 4, CASA N° 10, SAN SALVADOR, EL SALVADOR, C.A.
TELS.: (503) 2535-0700, FAX: (503) 2535-0777. APTO POSTAL: 05-53 • E-mail: servicioalcliente@coresaelsalvador.com

Cliente: ÁGUA ZONA NORTE MICROBIOLOGIA POTABLE	Reporte de Servicio N° 15365			
	TIPO DE VISITA			Fecha de Visita
GARANTIA	CONTRATO	COBRABLE	MANTENIMIENTO	20-3-12
INSTALACION	MARKETING	CORTESIA	CALIBRACION	

Instrumento	Marca	Modelo	No. de Serie
INUBADOR	YAMATO	30SL UBB GENOS	B7E00145

Descripción de trabajo realizado: VISITA POR MANTENIMIENTO PREVENTIVO

LIMPIEZA EXTERNA

LIMPIEZA DE SISTEMA ELECTRICO Y RESISTENCIAS

VERIFICACION DE FUNCIONAMIENTO CON TERMOMETRO EXTERNO: TEMPERATURA INTERNA PARTE SUPERIOR LEU 34.7°C, TEMPERATURA INTERNA PARTE INFERIOR LEU 34.9°C.

VARIACION MAXIMA DE CONTROLADOR ±0.1°C

VERIFICACION DE LIMITE MAXIMO DE CORTE: de

Cant.	No. Parte	DESCRIPCION	P. Unit.	P. Total
		EOB		
		LG233-2016		
Terminado		Comentarios:	HORA TRANSPORTE	Costo por Servicio
<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	EQUIPO FUNCIONA SIN PROBLEMAS.	5.5	
			HORA ESPERA	
			HORA LABORADA	
			TOTAL	

C.C.A. Tel.: 2222-1317 400 500 # 14,001 al 16,000 (06/10)

PLANEO: Original Cliente

F. Humberto Rodriguez
ING. DE SERVICIO



SERVICIOS DE CALIBRACIÓN, S.A. DE C.V.

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Certificado No.: TEM03170325FF

Equipo: Termómetro Líquido en Vidrio

Marca: Imm

Modelo: S/N

Serie: S/N

Código: E62

Intervalo: -20 °C a 110 °C

Intervalo de Calibración: 44 °C a 46 °C

Resolución: 1 °C

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: 2017-03-24

Fecha de calibración: 2017-03-25

Próxima calibración: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: ANDA ZONA NORTE

Dirección: Boulevard del Hipódromo, # 609, Colonia San Benito, San Salvador, El Salvador

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura la trazabilidad del patrón con certificado No. 6412-8189757 de Control Company.

PROCEDIMIENTO No.: PT-12

METODO: comparación directa del instrumento con el patrón

PT-10:FT-01 Pág. 1/2

Urbanización Lisboa, #102, Av. Rocío y Calle San Antonio Abad, San Salvador, El Salvador, C.A.,
Tel.: 2272-1735, Cel.: 7888-9128, E-mail: sercal_es@yahoo.com / www.sercalsv.com

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01:15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv



SERVICIOS DE CALIBRACIÓN, S.A. DE C.V.

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Certificado No.: TEM03170327FF

Equipo: Termómetro Líquido en Vidrio

Marca: Frio Temp

Modelo: S/N

Serie: M9686

Código: E09

Intervalo: 15 °C a 50 °C

Intervalo de Calibración: 34,5 °C a 35,5 °C

Resolución: 0,5 °C

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: 2017-03-24

Fecha de calibración: 2017-03-27

Próxima calibración: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: ANDA ZONA NORTE

Dirección: Boulevard del Hipódromo, # 609, Colonia San Benito, San Salvador, El Salvador

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura la trazabilidad del patrón con certificado No. 6412-8189757 de Control Company.

PROCEDIMIENTO No.: PT-12

METODO: comparación directa del instrumento con el patrón

PT-10:FT-01 Pág. 1/2

Urbanización Lisboa, #102, Av. Rocío y Calle San Antonio Abad, San Salvador, El Salvador, C.A.,
Tel.: 2272-1735, Cel.: 7888-9128, E-mail: sercal_es@yahoo.com / www.sercal.com

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01:15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv



SERVICIOS DE CALIBRACIÓN, S.A. DE C.V.

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Certificado No. TEM01170328FF

Equipo: Termohigrómetro

Marca: Fisher Scientific

Modelo: S/N

Serie: 72158001

Código: E58

Intervalo: 0 % de HR a 90 % de HR / 0 °C a 50 °C

Intervalo de Calibración: 37 % de HR a 75 % de HR / 20,5 °C a 34,8 °C

Resolución: 1 % de HR / 0,1 °C

Ubicación: Microbiología Potable

Fecha de Recepción: 2017-03-24

Fecha de calibración: 2017-03-28

Próxima calibración: Definida por Cliente

Empresa Solicitante: **ANDA ZONA NORTE**

Dirección: Boulevard del Hipódromo, # 609, Colonia San Benito, San Salvador, El Salvador

TRAZABILIDAD: SERCAL asegura: la trazabilidad del patrón utilizado en esta calibración, por el certificado No. Lote: A0709033, K46028004 de Merck y 20160811-40-1 de SCM.

PROCEDIMIENTO No.: PRO-METRO-TEM-009

Fuera de Alcance de Acreditación

METODO: comparación directa del instrumento con el patrón

PT-10:FT-01 Pág. 1/2

Laboratorio de Calibración acreditado por el OSA con registro N° LCA-01:15 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv

Urbanización Lisboa, #102, Av. Rocío y Calle San Antonio Abad, San Salvador, El Salvador, C.A.,
Tel.: 2272-1735, Cel.: 7888-9128, E-mail: sercal_es@yahoo.com / www.sercalsv.com

Anexo 3. Fotografía del experimento de validación del método enzima sustrato para la determinación de Coliformes totales y *E. coli* por la técnica presencia/ausencia.

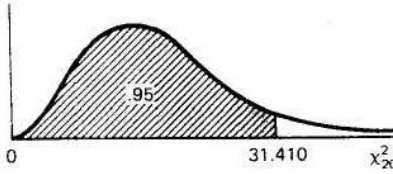


Anexo 4. Tabla de distribución X^2 (Daniels 2008).

626

Apéndice

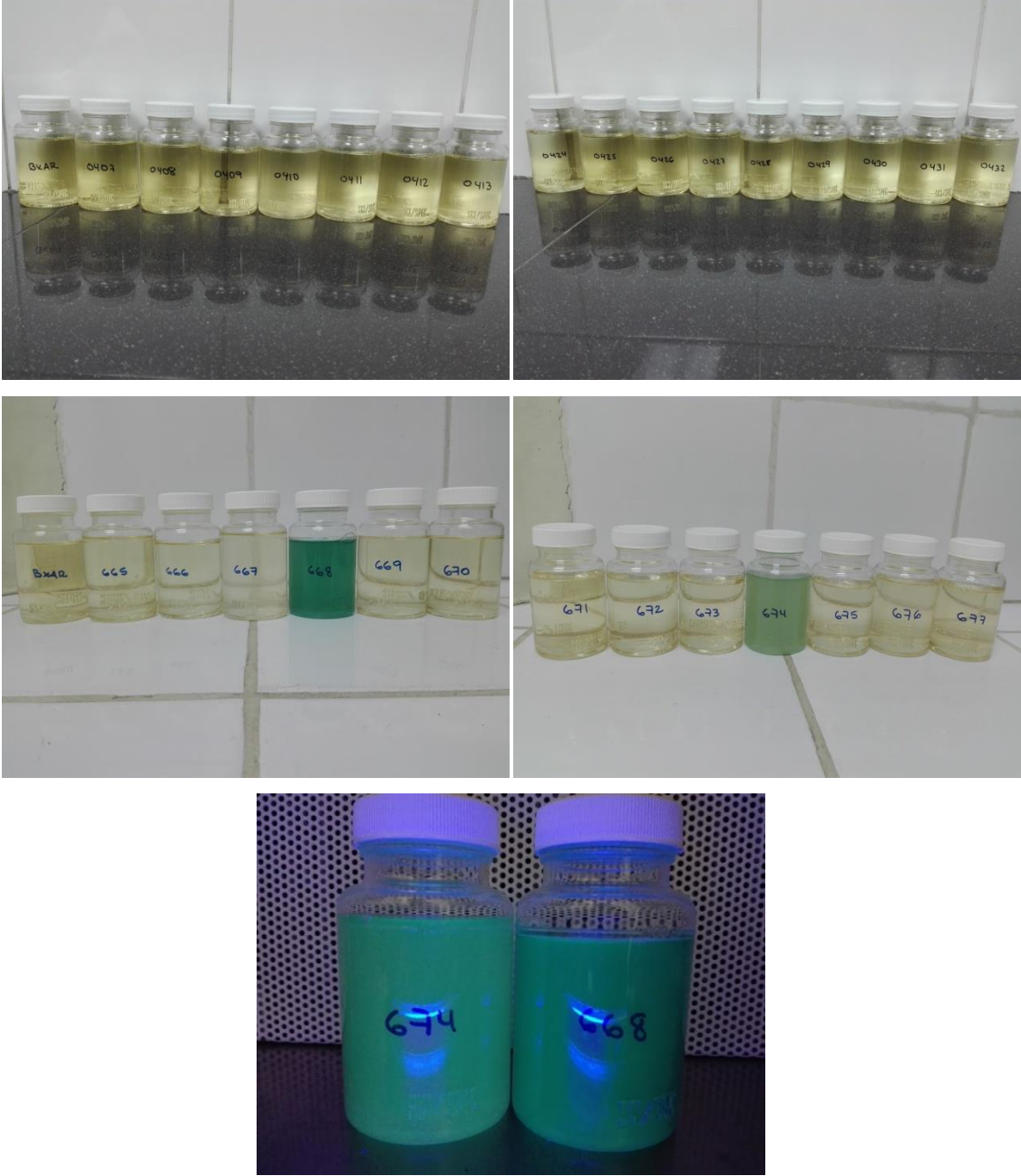
Tabla I Percentiles de la distribución ji-cuadrada.



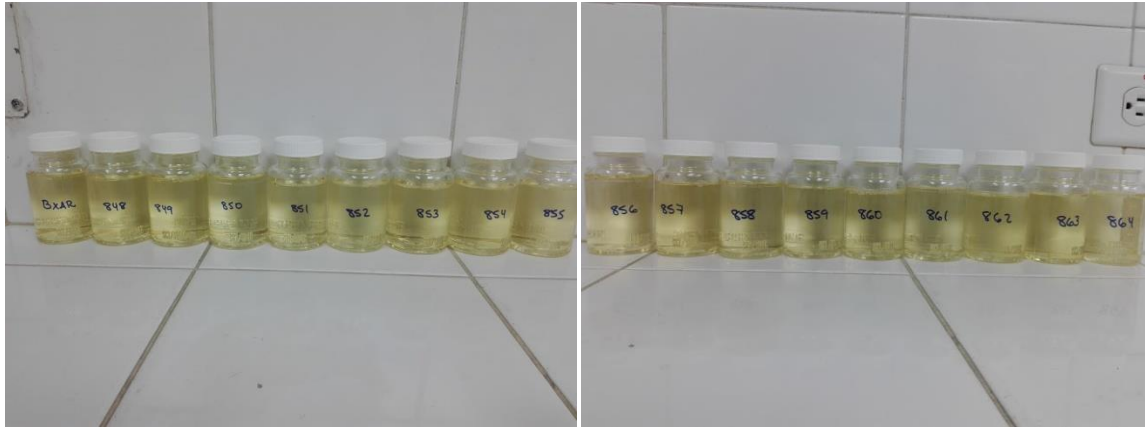
$$P(X^2_{20} \leq 31.410) = .95$$

g.l.	$\chi^2_{.005}$	$\chi^2_{.025}$	$\chi^2_{.05}$	$\chi^2_{.90}$	$\chi^2_{.95}$	$\chi^2_{.975}$	$\chi^2_{.99}$	$\chi^2_{.995}$
1	.000393	.000982	.00393	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879
2	.0100	.0506	.103	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597
3	.0717	.216	.352	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838
4	.207	.484	.711	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860
5	.412	.831	1.145	9.236	11.070	12.832	15.086	16.750
6	.676	1.237	1.635	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	.989	1.690	2.167	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.344	2.180	2.733	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.735	2.700	3.325	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589
10	2.156	3.247	3.940	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188
11	2.603	3.816	4.575	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757
12	3.074	4.404	5.226	18.549	21.026	23.336	26.217	28.300
13	3.565	5.009	5.892	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819
14	4.075	5.629	6.571	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4.601	6.262	7.261	22.307	24.996	27.488	30.578	32.801
16	5.142	6.908	7.962	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267
17	5.697	7.564	8.672	24.769	27.587	30.191	33.409	35.718
18	6.265	8.231	9.390	25.989	28.869	31.526	34.805	37.156
19	6.844	8.907	10.117	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582
20	7.434	9.591	10.851	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8.034	10.283	11.591	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401
22	8.643	10.982	12.338	30.813	33.924	36.781	40.289	42.796
23	9.260	11.688	13.091	32.007	35.172	38.076	41.638	44.181
24	9.886	12.401	13.848	33.196	36.415	39.364	42.980	45.558
25	10.520	13.120	14.611	34.382	37.652	40.646	44.314	46.928
26	11.160	13.844	15.379	35.563	38.885	41.923	45.642	48.290
27	11.808	14.573	16.151	36.741	40.113	43.194	46.963	49.645
28	12.461	15.308	16.928	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993
29	13.121	16.047	17.708	39.087	42.557	45.722	49.588	52.336
30	13.787	16.791	18.493	40.256	43.773	46.979	50.892	53.672
35	17.192	20.569	22.465	46.059	49.802	53.203	57.342	60.275
40	20.707	24.433	26.509	51.805	55.758	59.342	63.691	66.766
45	24.311	28.366	30.612	57.505	61.656	65.410	69.957	73.166
50	27.991	32.357	34.764	63.167	67.505	71.420	76.154	79.490
60	35.535	40.482	43.188	74.397	79.082	83.298	88.379	91.952
70	43.275	48.758	51.739	85.527	90.531	95.023	100.425	104.215
80	51.172	57.153	60.391	96.578	101.879	106.629	112.329	116.321
90	59.196	65.647	69.126	107.565	113.145	118.136	124.116	128.299
100	67.328	74.222	77.929	118.498	124.342	129.561	135.807	140.169

Anexo 5. Fotografías de análisis de muestras realizados durante el mes de enero 2018. En la última fotografía se observan las muestras positivas para Coliformes totales bajo la luz UV, sin fluorescencia azul (Ausencia de *E. coli*).



Anexo 6. Fotografías de análisis de muestras realizados durante el mes de febrero 2018. En las fotografías se observa como todas las muestras han dado ausencia a Coliformes totales y *E. coli*.



Anexo 7. Fotografías de análisis realizados durante el mes de marzo 2018. En la segunda fotografía se observa la fluorescencia azul que confirma la presencia de *E. coli*.

