



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS FUENTES TERMALES DEL  
BALNEARIO EL TINGO UBICADO EN SANGOLQUÍ EN LA  
PROVINCIA DE PICHINCHA”**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de  
“BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO”**

**AUTOR: RAÚL SANTIAGO VINUEZA ARMAS**  
**TUTOR: Dr. FÉLIX ANDUEZA**

**RIOBAMBA - ECUADOR**

**2015**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: “**Análisis Microbiológico de las fuentes termales del balneario El TINGO ubicado en Sangolquí en la provincia de Pichincha**” de responsabilidad del señor egresado Raúl Santiago Vinueza Armas, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal, quedando autorizada su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dr. Félix Andueza <b>DIRECTOR</b>	.....	.....
B.Q.F. Fausto Contero <b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>	.....	.....
Dr. Gerardo Medina <b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>	.....	.....
<b>DOCUMENTALISTA SISBIB- ESPOCH</b>	.....	.....
<b>NOTA DE TRABAJO DE TITULACIÓN ESCRITO</b>	.....	

Yo, Raúl Santiago Vinueza Armas, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

Raúl Santiago Vinueza Armas

## AGRADECIMIENTO

*A DIOS*

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de titulación va dedicado a DIOS, que con sus bendiciones guía mi camino y me da fuerzas para seguir adelante ante cualquier adversidad.

A mi familia por su apoyo incondicional y comprensión en todo momento, en especial a mis padres que con su sabiduría han sabido guiarme y aconsejarme a lo largo de mi vida y hacer de mí la persona que soy.

A mi hijo que viene en camino y que ahora es mi razón de vivir y mi motivación para seguir con el objetivo de alcanzar mis metas.

Raül

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
1.1. <b>Antecedentes de la investigación.....</b>	<b>3</b>
1.2. <b>Ubicación geográfica y generalidades del balneario termal el</b>	
<b>Tingo.....</b>	<b>5</b>
1.3. <b>Aguas Termominerales.....</b>	<b>5</b>
1.3.1. <i>Definición.....</i>	5
1.3.2. <i>Génesis de las aguas termominerales.....</i>	6
1.3.3. <i>Historia del desarrollo del Termalismo.....</i>	6
1.3.4. <i>Clasificación de las aguas termales.....</i>	7
1.3.4.1. <i>Clasificación de las aguas termales por su origen.....</i>	8
1.3.4.2. <i>Clasificación de las aguas termales por su temperatura.....</i>	8
1.3.4.3. <i>Clasificación de las aguas por su composición química.....</i>	9
1.3.5. <i>Aguas termales en el Ecuador.....</i>	9
1.3.6. <b>Principios generales de los Análisis Físico-Químicos de las aguas termales.....</b>	<b>12</b>
1.3.6.1. <i>Turbiedad.....</i>	12
1.3.6.2. <i>Olor.....</i>	12
1.3.6.3. <i>Color.....</i>	12
1.3.6.4. <i>pH.....</i>	12
1.3.6.5. <i>Conductividad eléctrica.....</i>	13
1.3.7. <b>Principios generales de los Análisis Microbiológicos en aguas termales.....</b>	<b>13</b>
1.3.7.1. <i>Origen de los microorganismos causantes de infecciones en aguas termales.....</i>	13
1.3.7.2. <i>Bacterias causantes de infección por uso recreacional del agua.....</i>	15
1.3.7.3. <i>Indicadores de calidad sanitaria.....</i>	15

## CAPITULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	20
2.1.	<b>Población de estudio y localización del muestreo</b> .....	20
2.2.	<b>Descripción de métodos y técnicas</b> .....	20
2.3.	<b>Muestreo</b> .....	21
2.4.	<b>Análisis Físico-químico in situ</b> .....	21
2.5.	<b>Métodos de análisis microbiológico de las aguas termales</b> .....	22
2.5.1.	<i>Estudio de microorganismos mediante técnicas de placas Petrifilm</i> .....	22
2.5.1.1.	<i>Enumeración de coliformes totales y fecales</i> .....	23
2.5.1.2.	<i>Valoración de mohos y levaduras</i> .....	24
2.5.1.3.	<i>Estudio de la presencia de <u>Staphylococcus</u></i> .....	25
2.5.2.	<i>Aislamiento de las colonias</i> .....	25
2.5.3.	<i>Identificación de las colonias, según su morfología y propiedad tintorial</i> .....	26
2.5.4.	<i>Pruebas bioquímicas</i> .....	27
2.5.4.1.	<i>Pruebas de la Catalasa</i> .....	27
2.5.4.2.	<i>Prueba de citocromo oxidasa</i> .....	28
2.5.4.3.	<i>Prueba de Hugh y Leifson oxidación fermentación</i> .....	29
2.5.4.4.	<i>Identificación de bacterias por el Sistema de Microgen</i> .....	29

## CAPITULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	31
3.1.	<b>Parámetros fisicoquímicos medidos in situ del agua del manantial termal en la localidad de Sangolquí en la provincia de Pichincha</b> .....	31
3.2.	<b>Análisis microbiológico</b> .....	32
3.2.1.	<i>Bacterias Aerobias Mesófilas</i> .....	32
3.2.2.	<i>Coliformes totales y fecales</i> .....	34
3.2.3.	<i><u>Staphylococcus</u></i> .....	35
3.2.4.	<i>Mohos y Levaduras</i> .....	37
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	47
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	48

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1-1:</b> Clasificación de las aguas termales por su temperatura de H. Scholler.....	8
<b>Cuadro 2-1:</b> Clasificación de las aguas termominerales según V. A. Souline.....	9
<b>Cuadro 3-1:</b> Resumen de Inventario de fuentes termales en el Ecuador.....	11
<b>Cuadro 4-2:</b> Identificación de bacterias por el Sistema de Microgen.....	29
<b>Cuadro 5-2:</b> Tabla de la referencia de los substratos.....	30

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-3:</b>	Resultados de las Pruebas in Situ del manantial termal El Tingo.....	31
<b>Tabla 2-3:</b>	Resultado del Recuento de Bacterias <i>Aerobias Mesófilas</i> “EL TINGO”.....	32
<b>Tabla 3-3:</b>	Resultados del recuento de Coliformes totales y fecales.....	34
<b>Tabla 4-3:</b>	Resultados del Recuento de <i>Staphylococcus</i> “EL TINGO”.....	35
<b>Tabla 5-3:</b>	Resultados del Recuento de Mohos y levaduras .....	37
<b>Tabla 6-3:</b>	Colonias bacterianas aisladas en las muestras de agua del balneario EL TINGO.....	38
<b>Tabla 7-3:</b>	Resultados de Morfología y propiedad tintorial de las cepas aisladas .....	39
<b>Tabla 8-3:</b>	Pruebas bioquímicas de las cepas aisladas del balneario EL TINGO.....	41
<b>Tabla 9-3:</b>	Resultados de Especies bacterianas identificadas con las pruebas bioquímicas.....	42
<b>Tabla 10-3:</b>	Resultados de las pruebas por el sistema Microgen.....	43
<b>Tabla 11-3:</b>	Especies bacterianas identificadas en el agua del manantial termal EL TINGO.....	43

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1-3:</b> Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> .....	33
<b>Gráfica 2-3:</b> Recuento de Coliformes totales y fecales .....	34
<b>Gráfica 3-3:</b> Recuento de <i>Staphylococcus</i> .....	36
<b>Gráfica 4-3:</b> Resultado del recuento de mohos y levaduras.....	37
<b>Gráfica 5-3:</b> Distribución porcentual de las bacterias aisladas por sitio de muestreo.....	38
<b>Gráfica 6-3:</b> Distribución Porcentual de bacterias Gram negativas y Gram positivas.....	39
<b>Gráfica 7-3:</b> Distribución porcentual de bacterias identificadas.....	42
<b>Gráfica 8-3:</b> Distribución porcentual de las especies bacterianas identificadas.....	44

## INDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1-1:</b> Origen de las aguas termales.....	6
<b>Imagen 2-1:</b> Mapa de fuentes termales con división provincial elaborado por el INAMHI.....	10
<b>Imagen 3-2:</b> Esquema del proceso de análisis.....	20
<b>Imagen 4-2:</b> procedimiento para análisis en placas Petrifilm.....	22
<b>Imagen 5-2:</b> Recuento Coliformes totales.....	24
<b>Imagen 6-2:</b> Análisis de <i>Staphylococcus</i> .....	25

## **INDICE DE ANEXOS**

- Anexo A:** Vista panorámica del balneario municipal El Tingo.
- Anexo B:** Piscina principal del balneario municipal El Tingo
- Anexo C:** Ojo de agua (sitio de muestreo 1)
- Anexo D:** Cascada (sitio de muestreo 2)
- Anexo E:** Medición de parámetros físico-químicos in situ (ojo de agua)
- Anexo F:** Medición de parámetros físico-químicos in situ (cascada)
- Anexo G:** Toma de muestras (ojo de agua)
- Anexo H:** Toma de muestras (cascada)
- Anexo I:** Siembra en placas Petrifilm
- Anexo J:** Resultados a las 72horas (#1=ojo de agua; #2= cascada)
- Anexo K:** Repiques
- Anexo L:** Siembra por estría
- Anexo M:** Análisis morfológico y de coloración
- Anexo N:** Pruebas bioquímicas
- Anexo O:** Pruebas por el sistema Microgen
- Anexo P:** Reporte del Software Microgen ID

## RESUMEN

Se realizó el análisis microbiológico de las fuentes termales del balneario El Tingo en la parroquia de Sangolquí en la provincia de Pichincha, para caracterizar la microbiota del manantial, durante el periodo Septiembre 2014 - Abril 2015. Se midieron los parámetros físico-químicos con la ayuda de un aparato multiparámetros Hannah, se realizó el muestreo aplicando las normas INEN, se utilizaron placas Petrifilm para detectar la presencia de Aerobios mesófilos, *E. coli*/ Coliformes, *Staphylococcus aureus* y mohos y levaduras, se aisló bacterias representativas con repiques y siembras por agotamiento en agar Muller, se estableció el tipo de bacteria con la tinción Gram y posteriormente con pruebas bioquímicas y el sistema de identificación Microgen™ GN-ID se determinó género y especie de las colonias bacterianas aisladas. Se aisló 6 cepas bacterianas en total de los dos sitios muestreados, de los que se estableció un predominio de bacterias Gram-negativas (66.7%), y en menor porcentaje bacterias Gram-positivas (33.3%), se pudo determinar que hay un mayor crecimiento de bacterias en el agua que desemboca de la cascada. Se encontró una superioridad de *Pseudomonas aeruginosa* (50%), seguido de *Staphylococcus aureus* (33%) y en menor porcentaje *Moraxella* spp (17%). Siendo este el primer estudio microbiológico realizado a este balneario y habiendo encontrado variedad de bacterias que indican contaminación, es recomendable, que el GAD Municipal de la parroquia de Sangolquí se preocupe en realizar estudios de este tipo de manera periódica y efectúe una adecuada sanitización del lugar asegurando la salud de los usuarios. Se recomienda también que se establezcan parámetros de calidad sanitaria para este tipo de aguas y de esta forma el agua no se convierta en un vehículo de transmisión de enfermedades.

**Palabras clave:** <MANANTIAL>, <AGUAS MINEROMEDICINALES>, < PATÓGENO>  
<MICROBIOLOGÍA>. <SANITIZACIÓN>

## SUMMARY

A microbiological analysis of the hot springs Tingo spa was conducted in the city of Sangolqui in Pichincha province to characterize the microbiota of the spring during the period September 2014 to April 2015. Physicochemical parameters with the help of a multi parameters Hannah apparatus were measured. Sampling was carried out by applying the rules INEN. Petrifilm plates were held to look for the presence of aerobic mesophilic bacteria, cauliformes *E coli*, *Staphylococcus aureus*, molds and yeasts. Representative bacteria were isolated with chimes and planting by exhaustion on agar Muller. The type of bacteria was established with the Gram stain and then with biochemical tests and identification system Microgen™ GN-ID. Genus and species of isolated bacterial colonies was determined. Six bacterial strains of the two places sampled in total were isolated. From them a predominance of Gram negative of (66.7%) and a percentage of bacteria Gram positive (33.3%). It was determined that no further growth of bacteria in the water that flows from the waterfall was established. A superiority of *Pseudomonas aeruginosa*(50%) followed by *Staphylococcus aureus* (33%) and a lesser *Moraxella* spp percentage (17%) were found. This is first microbiological study in the spa found indicating variety of bacteria that indicate pollution. It is recommended that the municipal GAD Sangolqui promote studies of this type on a regular basis and make proper sanitization of this type on a regular basis and make proper sanitization of this place to ensure the health of users. It is further recommended that health quality parameters for these waters are established. Thus, the water does not become a transmitter of diseases.

## Keywords

<SPRING>, <MEDICINAL MINERAL WATERS>, <PATHOGEN>, <MICROBIOLOGY>, <SANITATION>

## INTRODUCCIÓN

El agua constituye un vehículo importante para la transmisión de enfermedades, por lo que se hace necesario realizar una investigación de los microorganismos que pudieran suponer un riesgo para la salud de los usuarios de las aguas termales de los balnearios.

El Ecuador es un país privilegiado en cuanto a aguas termales y minerales, con este antecedente y ante la insuficiente disponibilidad de información actualizada hemos considerado la importancia de realizar un análisis de la microbiota y la calidad sanitaria de estas fuentes como un aporte al conocimiento de los recursos hídricos de nuestro país.

El objetivo primordial de este proyecto fue analizar la calidad microbiológica de las fuentes termales del balneario El Tingo ubicadas en Sangolquí, en la provincia de Pichincha, durante el periodo, Septiembre de 2014 - Abril del 2015, se efectuó el muestreo según normas establecidas por la INEN, se realizaron pruebas físico-químicas antes del análisis microbiológico para considerar las condiciones en que estos microorganismos se desarrollan.

Por las características físico- químicas de las aguas híper termales es poco común que sean habitadas por una gran variedad de seres vivos, no obstante estas mismas características se prestan para dar lugar al crecimiento de ciertos microorganismos que son propios de estos ambientes.

En los últimos años se ha dado una afluencia masiva de la gente hacia las aguas termales, pero estas desconocen la calidad sanitaria y microbiológica de las mismas, por lo que se hace imprescindible evaluar el riesgo sanitario que pueden correr los visitantes de estas aguas. El uso de fuentes termales también tiene intereses económicos por el turismo y de salud por que se usa como parte de terapias, esto debido a su riqueza en minerales que restituyen y son muy necesarios para que el organismo humano funcione de la mejor manera.

Es conocido también que en distintas partes del mundo se han hecho y se están llevando a cabo estudios microbiológicos en aguas termales con resultados positivos para algunas industrias, se han descubierto propiedades en estos microorganismos que son aplicados en la industria farmacéutica, con el propósito de buscar curas a ciertas enfermedades.

La intención primordial de este proyecto fue identificar microorganismos de las aguas termales del balneario EL TINGO de la localidad de Sangolquí en la provincia de Pichincha, que pueden ser propios de esas aguas o que las habiten por efecto de contaminación, con la finalidad de dar a conocer el estado sanitario en que se encuentran y como podrían influir en la salud de las personas que concurren a este balneario.

En la actualidad no existe un estudio que caracterice los parámetros microbiológicos y sanitarios de las aguas termales del Tingo en Sangolquí-Pichincha de manera que se verifique el cumplimiento de la calidad sanitaria y microbiológica de esta fuente termal, además que sería un aporte al conocimiento de los recursos termales del país y el mundo.

El aislamiento e identificación de los microorganismos que residen en los manantiales termales del Balneario EL TINGO de Sangolquí, se efectuó mediante la toma de las muestras según protocolos establecidos para muestreo de aguas, y se realizó una siembra directa en placas Petrifilm, mediante repiques y siembra por agotamiento se obtuvieron colonias puras, a estas colonias aisladas se les realizaron pruebas bioquímicas y para establecer la identidad de las colonias aisladas puras se utilizó las pruebas por el sistema Microgen.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes de la investigación

Hasta la fecha actual no existe registros de estudios que permita evaluar la calidad sanitaria y microbiológica de las aguas termales de El Tingo ubicada en Sangolquí en la provincia de Pichincha. Sin embargo, diversos investigadores han realizado estudios microbiológicos en aguas termales de diferentes partes del mundo.

Estudios microbiológicos realizados en el Norte de Chile y en la zona centro del Ecuador en el 2004 demostraron la ausencia de hongos y bacterias patógenas como Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium*, que de haberlas se limitaría su uso para terapia, el pH también se encontró dentro de los límites permisibles para su empleo. (SANTANA, J.; et al., 2004).

En el año 2003 el Instituto geológico y minero de España realizó estudios microbiológicos en la provincia de Jaén-España, de aguas mineromedicinales y termales, no se encontró presencia de parásitos y tampoco de microorganismos patógenos como *Streptococos* fecales, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y otros coliformes. (RODRÍGUEZ, J.; et al., 2003).

En el Departamento de Microbiología II, de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense en Madrid realizaron estudios en el año 2006 de dos manantiales de aguas bicarbonatadas hipotermas Cervantes y San Camilo, utilizados en los tratamientos terapéuticos en el Balneario Cervantes, situado en Santa Cruz de Mudela (Ciudad Real). El agua muestra un número de microorganismos totales de 105/mL, estando la mayoría vivos (97,1 %). Se reporta un valor de 100ufc/mL de bacterias heterótrofas viables, de las cuales las cepas aisladas corresponden en un 56.0% a bacilos Gram negativos y en menor proporción con un 24.0% a bacilos Gram positivos y en minoría se encontraron cocos Gram positivos con un porcentaje de 14,6%. Entre los géneros de bacilos Gram negativos identificados se menciona los siguientes: *Burkholderia*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Ochrobactrum*. Tenemos *Staphylococcus* representando a los cocos Gram positivos y finalmente el género *Bacillus* para los bacilos Gram positivos. Se encontró también que existe mayor diversidad microbiana en el manantial

San Camilo en relación al manantial de Cervantes. No se han encontrado indicadores fecales ni microorganismos patógenos. Se han detectado microorganismos proteolíticos, amilolíticos y amonificantes en número alto (104/100 mL), sulfato reductores en número medio (102/100 mL), celulolíticos, halófilos y hongos en número inferior a 20/100 mL. (ANGELES, R. et al., 2006).

En el año 2001 se ha realizado el estudio microbiológico del agua del manantial el Salvador del Balneario El Paraíso de Manzanera en Teruel. El número de microorganismos totales ha sido alto (105 /mL), estando la mayoría vivos (85%), y siendo muy pocos los activos (9,5%). “No se han detectado microorganismos patógenos ni indicadores fecales. Se han encontrado bacterias proteolíticas, amilolíticas, amonificantes (103), celulolíticas, halófilas (102) y mohos (10) en 100 mL de agua. Las bacterias heterótrofas son bacilos Gram positivos (64,7%), cocos Gram positivos (32,3%) y bacilos Gram negativos (2,9%), predominando los géneros *Bacillus* y *Staphylococcus*”. El manantial no reporta microorganismos patógenos ni indicadores de contaminación fecal, lo que demuestra un buen cuidado sanitario y obviamente cumplen con la normativa microbiológica de aguas potables. “La microbiota heterótrofa autóctona corresponde a bacterias mesófilas, oligotróficas, Gram positivas, principalmente bacilos esporulados y cocos halófilos facultativos”. (DE LA ROSA, C. et al., 2009).

En el 2007 se realiza un análisis microbiológico del manantial mineromedicinal Puente Viesgo en donde los resultados presentan un número bajo de bacterias viables y esporuladas, lo que indica que hay una buena protección del lugar, no contiene indicadores fecales ni microorganismos patógenos por lo que cumple con la normativa de aguas de consumo humano. Se reporta una microbiota autóctona constituida por bacilos Gram negativos, predominando la clase Gammaproteobacteria. (DE LA ROSA, Jorge., et al., 2013).

En el año 2013 se realiza un estudio de la microbiota de dos manantiales de aguas minerales en el Balneario El Raposo en España. El número total de microorganismos presentes en el agua fue de  $9.1 \times 10^4$  / mL, siendo la mayoría microorganismos vivos (70,3%). No se encontraron indicadores fecales ni microorganismos patógenos por lo que estas aguas cumplen con la legislación española sobre el agua potable. La microbiota autóctona predominante corresponde a aligotrophic bacterias Gram negativas aeróbico (73%), perteneciente a la clase Gammaproteobacteria y en menor proporción de bacilos Gram positivos (23,5%) y cocos (3,5%). Por otro lado, ammonifying, se detectaron proteolíticas, amilolíticas y bacterias celulolíticas, así como hongos en 100 mL de agua. (DE LA ROSA, Jorge, et al., 2013).

## **1.2. Ubicación geográfica y generalidades del balneario termal el tingo.**

Las fuentes termales del balneario El Tingo se encuentran ubicadas en Sangolquí, en la provincia de Pichincha, al oriente de Quito, a 40 minutos, Son fuentes de tipo Hipertermal y bicarbonatadas sódicas, poseen una temperatura de 43.8°C, un pH de 6.98. (INAMHI. 2013).

“Este balneario tiene una extensión de dos hectáreas, todas estas piscinas son abastecidas por cinco vertientes y almacenadas en 5 pozos, tiene una piscina familiar cubierta con capacidad para 25 personas y una piscina descubierta de 25 metros de largo por 6 metros de ancho. Una piscina cubierta con capacidad para 10 personas, exclusivamente para tratar enfermedades hepáticas, un centro de rehabilitación para enfermedades reumáticas, el cual cuenta con dos salas de hidromasajes para terapia de rehabilitación”. (ICEP 2012)

Son aguas mixtas de origen volcánico mezcladas con aguas de filtración o meteóricas. Sus propiedades son usadas para tratamientos de enfermedades como la arteriosclerosis, flebitis, reumatismo, enfermedades de la piel, neuritis y polineuritis, trastornos del climaterio, afecciones gastrointestinales, afecciones nerviosas, respiratorias y traumatismo. (INAMHI 2013).

En su origen, hacia 1928 el balneario San Pedro del Tingo estuvo ligado a varias ideas que provenían de la investigación médica científica europea de principio del siglo XX. La ciencia conocida como crenoterapia o balneoterapia estuvieron vinculadas con procesos de la medicina e higiene social y la neurología como es el caso de los estudios del Dr. Louis Landouzy. (CARRILLO, Ana, 2012, p.30)

## **1.3. Aguas termominerales**

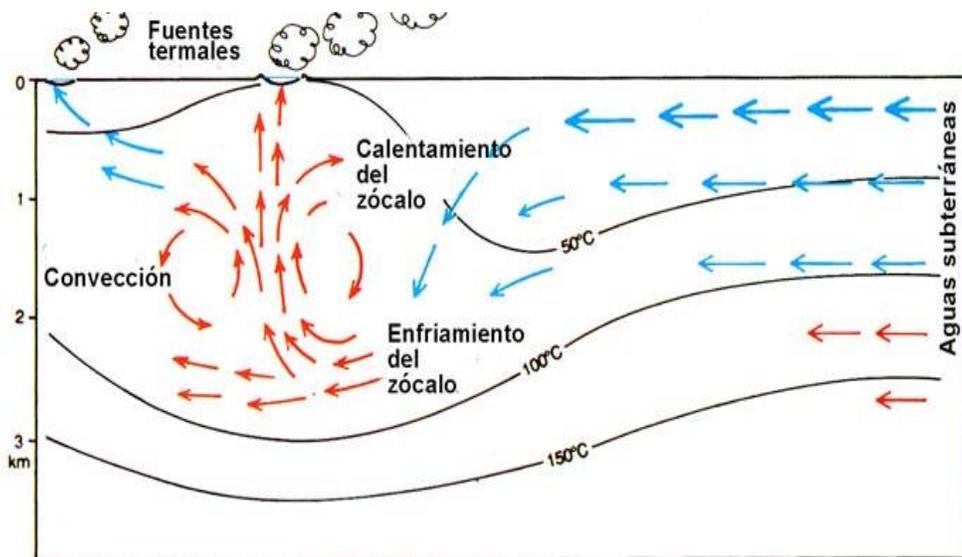
### **1.3.1. Definición**

Se denomina agua termal a aquella que emana a la superficie con una temperatura 5°C más alta que la temperatura media anual del lugar donde procede. (MÉNDEZ, 2010).

### 1.3.2. Génesis de las aguas termominerales

Son varias las teorías del origen de estas aguas, pero la más aceptada, la infiltración del agua meteórica, la que aprovecha el gradiente hidráulico para llegar a zonas más profundas de la corteza terrestre. Las aguas infiltradas van aumentando su temperatura por el gradiente geotérmico que se lo define como la profundidad de penetración en el suelo, expresada en metros necesaria para que la temperatura aumente 1°C. Su valor es por término medio de 30 a 35 metros, variando según las localidades y la profundidad. En las regiones volcánicas 10-15 metros, a esto hay que añadir que en zonas de vulcanismo reciente el agua puede verse afectada por el calor que el magma transfiere a las rocas adyacentes y por influencia de las aguas juveniles hipertermales. El agua al llegar a una zona de fallamiento asciende rápidamente emanando a la superficie en forma de manantiales. (INAMHI 2013).

**Imagen 1-1:** Origen de las aguas termales



Fuente: [http://www.redescepalcala.org/ciencias1/geologia/islandia/geologia.islandia\\_nesjavellir.htm](http://www.redescepalcala.org/ciencias1/geologia/islandia/geologia.islandia_nesjavellir.htm)

### 1.3.3. Historia del desarrollo del Termalismo

Posiblemente ya en la edad de piedra se conocían y se usaban las aguas minerales por sus propiedades medicinales. Se estima que las aguas que se conocen datan desde hace 2000 a.n.e. “Se han encontrado evidencias de esa época de la existencia en la ciudad india de Mojenjo-Daro (Enciclopedia Microsoft, 1999) y en la ciudad de Epidauros, en la Antigua Grecia (Larionov, 1070). También han aparecido

instalaciones en la isla griega de Creta (entre 1700 y 1400 a.n.e.) y en la ciudad egipcia de Tel el Amarna (1360 a.n.e.)”.

Entre los griegos las curas mediante baños de aguas medicinales alcanzaron gran difusión, La mayoría de los centros médicos disponían de manantiales que facilitaban las técnicas hidro terapéuticas. (ARMIJO-VALENZUELA, 1994).

En Roma, en la ciudad de Pompeya se conservan hasta la fecha las termas de Stabiano construidas en el siglo II (a.n.e.), eran verdaderas obras de arte y adecuadas para el turismo y la socialización.

Actualmente la Hidrología Médica apoyándose en otras ciencias y sus avances ha logrado buenos resultados en la terapia con agua mineromedicinal pues se conoce sus efectos en el organismo. Sin embargo, se ha perdido un poco pues también hay un desarrollo en las ciencias médicas. (FAGUNDO,J., et al., 2000).

El termalismo actual está íntimamente vinculado con el Turismo de Salud, lo cual le da una nueva dimensión al Termalismo tradicional. Ya en el siglo XIX, las demandas del termalismo permitieron el desarrollo de un nuevo termalismo. Los balnearios aislados se convirtieron en verdaderas villas de agua, lo cual se debió a la aparición de hoteles, restaurantes y cafeterías. En Francia, legiones de visitantes prestigiosos, tales como Napoleón III y la emperatriz Eugenia, contribuyeron al desarrollo de esta nueva modalidad en los balnearios, asociada al turismo. (FAGUNDO, J, et al., 2000).

El termalismo como parte del Turismo de Salud, es visto no solo como forma de curar, sino de preservar la salud y lograr una mejor calidad de vida.

#### ***1.3.4. Clasificación de las aguas termales***

Se clasifica a las aguas considerando la temperatura como una característica física esencial y la concentración de aniones y cationes como factor determinante de su composición química. (INAMHI 2013).

#### 1.3.4.1. Clasificación de las aguas termales por su origen

*Origen exógeno.*- La fuente principal de sales disueltas es el lavado de terrenos, por los cuales circulan las aguas subterráneas; el agua al entrar en contacto con los terrenos por los cuales transita, disuelve y arrastra consigo minerales de las rocas, el potencial físico-químico aumenta con la profundidad por aumento de temperatura, presión y el tiempo de contacto. (INAMHI 2013)

*Origen endógeno.*- El vapor de agua producido en las zonas profundas de la corteza terrestre por los fenómenos magmáticos y volcánicos lleva consigo elementos endógenos. Los cloruros, bromo, yodo, sulfato y sulfuro de hidrógeno pueden tener este origen. (INAMHI 2013)

#### 1-3.4.2. Clasificación de las aguas termales por su temperatura

“La razón de la termalidad de las aguas depende de la profundidad de su origen, de modo que la temperatura, como la presión crece conforme con la profundidad y así puede hablarse de gradiente geotérmico aceptándose 3°C por cada 100 metros”. (OLIVER-RODÉS, Benito, p.3)

Considerando que la temperatura es la característica fundamental de las aguas termales, se han realizado numerosas clasificaciones basadas en este parámetro.

**Cuadro 1-1:** Clasificación de las aguas termales por su temperatura de H. Scholler.

Tipo de Fuente	Temperatura (°C)
Fuentes frías	<20
Fuentes hipotermiales	21-30
Fuentes mesotermiales	31-40
Fuentes hipertermiales	41-100

Fuente: Centro Nacional de termalismo “Victor Santamarina”

### 1.3.4.3. Clasificación de las aguas por su composición química.

(Souline V. 1946) clasifica las aguas termominerales de acuerdo con la relación existente entre la concentración de los iones Sodio (Na), Cloro (Cl), Sulfatos (SO<sub>4</sub>) y Magnesio (Mg), expresados en miliequivalentes por litro (meq/L). De acuerdo a lo expuesto el agua se clasifica de la siguiente manera.

**Cuadro 2-1:** Clasificación de las aguas termominerales según V. A. Souline

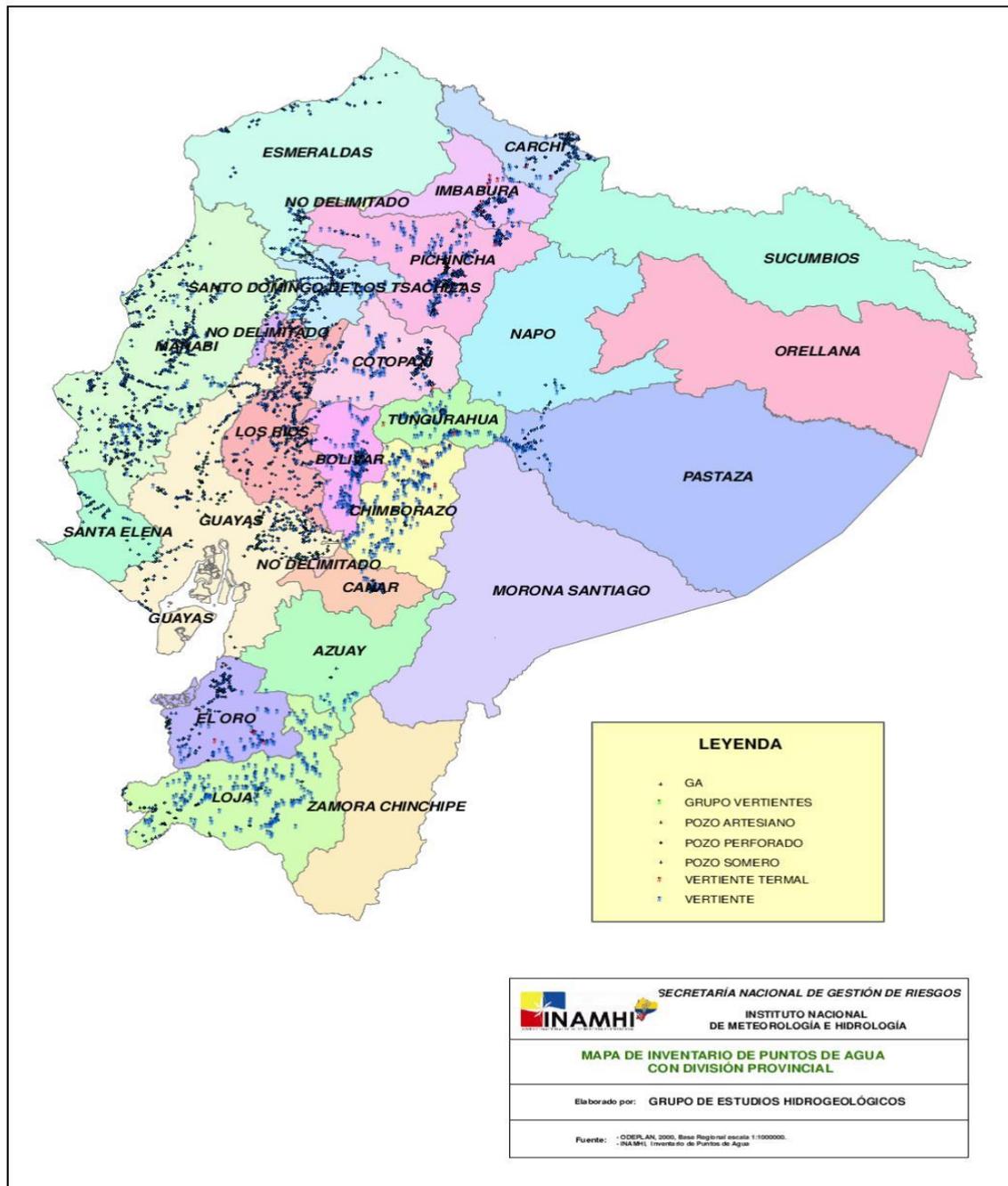
Relación	Clasificación
$r \frac{Na - Cl}{SO_4} < 1$	Sulfatada - sódica
$r \frac{Na - Cl}{SO_4} > 1$	Bicarbonatada - sódica
$r \frac{Cl - Na}{Mg} < 1$	Clorurada - magnésica
$r \frac{Cl - Na}{Mg} > 1$	Clorurada - cálcica

**Fuente:** INAMHI. Aguas Termominerales en el Ecuador, 2013

### 1.3.5. Aguas termales en el Ecuador

El Ecuador es un país privilegiado en cuanto a la presencia de termas, especialmente localizadas en el callejón interandino, el INAMHI inventarió alrededor de 60 fuentes de aguas termales y minerales medicinales. (Hidrología y Aguas Subterráneas N°6, ISBN: 84-7840-473-2). (INAMHI 2013).

**Imagen 2-1:** Mapa de fuentes termales con división provincial elaborado por el INAMHI



**Fuente:** Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI)

**Cuadro 3-1:** Resumen de Inventario de fuentes termales en el Ecuador.

RESUMEN DE INVENTARIO DE FUENTES TERMALES EN EL ECUADOR INAMHI							
N°	TIPO	NOMBRE DE VERTIENTE	PROVINCIA	COORDENADAS		TEMP °C	C.E (µS/cm)
				LONGITUD E	LATITUD N		
1	VT	BAÑOS DE CUENCA	AZUAY	715200	9677000	70	
2	VT	GUAPÁN 73	CAÑAR	739650	9700500	43	8500
3	VT	GRUTA LA PAZ #105	CARCHI	852856	10055816	36	3500
4	VT	BAÑOS EL PIJUARO #50	CARCHI	865071	10090785	29	1550
5	VT	LA JOYA	CARCHI	860254	10091057	23	400
6	VT	SAN MIGUEL DE CAR	CARCHI	859326	10090318	22	420
7	VT	LA OVEJERÍA	CARCHI	858955	10089211	30	580
8	VT	EL CHITA	CARCHI	860411	10088290	23	180
9	VT	COOP. MODELO 1	CARCHI	855057	10086809	33	820
10	VT	COOP. MODELO 2	CARCHI	854809	10086717	30	850
11	VT	EL TABLÓN	CARCHI	851900	10085977	28	380
12	VT	TUFIÑO	CARCHI	849700	10088743	25	800
13	VT	AGUAS HEDIONDAS	CARCHI	844654	10090215	55	1800
14	VT	EL PUETATE	CARCHI	863846	10090076	20	150
15	VT	EL MARTÍNEZ	CARCHI	864774	10090969	32	2000
16	VT	LA CALERA #98	CARCHI	836448	10065183	33	1600
17	VT	PIJUARO	CARCHI	865238	10091092	30	1680
18	VT	NEPTUNO	CARCHI	865455	10091492	23	460
19	VT	RUMICHACA	CARCHI	871585	10090636	38	3500
20	VT	LA OLLA	CARCHI	871306	10090974	39	3400
21	VT	SANTA TERESITA	CARCHI	864942	10073193	20	1700
22	VT	PAJA BLANCA	CARCHI	862190	10068486	20	-----
23	VT	EL ANGEL CHILCAPAMBA	CARCHI	171302	10068805	40	1360
24	VT	SAN ISIDRO LA CALERA	CARCHI	168639	10065301	30	1243
25	VT	SAN ISIDRO LA COCHA	CARCHI	168670	10066224	34	1169
26	VT	LA CONCEPCIÓN	CARCHI	151245	10067340	26	
27	VT	C.COLÓN-MIRAFLORES	CARCHI	188508	10066767	36	1790
28	VT	C.COLÓN-MIRAFLORES	CARCHI	188508	10066767	33	
29	VT	C.COLÓN-MIRAFLORES	CARCHI	188508	10066767	27	1474
30	VT	LA PAZ -TÁUEZ	CARCHI	184172	10058346	32	714

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) 2013.

### **1.3.6. Principios generales de los Análisis Físico-Químicos de las aguas termales.**

“La determinación de las propiedades químico-físicas de un agua natural o mineral, constituye una herramienta imprescindible para los hidrólogos y otros especialistas relacionados con el agua”. (FAGUNDO, Jorge, 2000).

“La composición química de las aguas meteóricas está controlada por los equilibrios químicos de los carbonatos y varía al cabo del tiempo. Por esta razón, los análisis químicos y las mediciones de pH, así como la conductividad eléctrica deben hacerse “in situ”, En muchos países lamentablemente se acostumbra a hacer los análisis y mediciones en el laboratorio, muchas veces hasta semanas después de tomada la muestra, cuando éstas en la práctica, carecen de valor para interpretar los fenómenos de la naturaleza” (FAGUNDO, Jorge, et al., 2000).

#### **1.3.6.1. Turbiedad**

Es producida por materias en suspensión finamente divididas, es una expresión de la propiedad óptica que origina que la luz se disperse y absorba en vez de transmitirse en línea recta a través de la muestra (NTE INEN 1108: 2011).

#### **1.3.6.2. Olor**

Es un factor de calidad que afecta la aceptabilidad del agua, existen factores que lo modifican. (NTE INEN 1108: 2011)

#### **1.3.6.3. Color**

Puede estar condicionado por presencia de iones metálicos naturales (Fe, Mn), materia orgánica (Humus, Plancton, Turbas y restos vegetales) y Residuos Industriales. (NTE INEN 1108: 2011)

#### **1.3.6.4. pH**

Medida del potencial eléctrico que se crea en la membrana de un electrodo de vidrio, que es función de la actividad de los iones hidrógeno a ambos lados de la membrana. (Análisis de Aguas Naturales Continentales. Centro de Estudios Hidrográficos. Instituto de Hidrología. 1 980).

### **1.3.6.5. Conductividad eléctrica**

Mediante un puente de Wheatstone y una célula de conductividad apropiada se determina la conductividad eléctrica por comparación, a la misma temperatura de la muestra y de una solución valorada de cloruro de potasio, refiriendo el resultado a 20 °C. (Análisis de Aguas Naturales Continentales. Centro de Estudios Hidrográficos. Instituto de Hidrología. 1980.).

### **1.3.7. Principios generales de los Análisis Microbiológicos en aguas termales.**

#### **1.3.7.1. Origen de los microorganismos causantes de infecciones en aguas termales**

- Microorganismos autóctonos
- Microorganismos Alóctonos
- De origen humano
- De origen animal

#### *Microorganismos autóctonos*

La cantidad de organismos microscópicos en el punto en que surge el manantial, puede ser alta, con una media de 106/mL, pero muchas bacterias existen en fase durmiente, son metabólicamente inactivos y no se reproducen, dependiendo de la temperatura de incubación y de los medios de cultivo utilizados. “Hay bacterias termófilas que se desarrollan a más de 45°C siendo la mayoría mesófilas con temperaturas óptimas a 37°C que se han adaptado”.

“En base a sus exigencias nutricionales reinan las bacterias heterótrofas oligotróficas, con pequeños requerimientos de carbono y nitrógeno, en menor número se han encontrado microorganismos autótrofos, tanto quimiolitotrofos como fototrofos. En su mayoría son aerobios o anaerobios facultativos, de pequeño tamaño, móviles y con pigmentos. Las bacterias heterótrofas no suelen fermentar los azúcares pero son proteolíticas, amilolíticas, amonificantes y en menor número celulíticas. Estos tipos de microorganismos se suponen favorables ya que interceden en la autodepuración de las aguas”. (MOSSO et al. 1994).

“En las aguas hipertermales la temperatura elevada puede ser el origen de esta discrepancia debido a que las bacterias Gram positivas son más resistentes al calor. Entre los principales géneros

identificados están: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* y *Arthrobacter* “(MOSSO, et al., 1994).

“El género *Pseudomonas* es muy difundido, encontrado en hábitats acuáticos con escasos nutrientes, considerando a las especies del grupo fluorescente localizadas en estas aguas, como *P. fluorescens* y *P. putida*, población autóctona de manantiales meso e hipotermales. En las mesotermales además es habitual la presencia de otros bacilos Gram negativos como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Aeromonas*. Las multitudinarias especies del género *Bacillus* están considerablemente distribuidas y pueden provenir del suelo o de las propias aguas. Los cocos Gram positivos, *Staphylococcus* y *Micrococcus*, es usual en aguas minerales ya que sobreviven a las concentraciones altas de sal, sin embargo no se han revelado especies propias del hombre”. (MOSSO, et al., 1994).

Los *Enterobacter*, siendo enterobacteriaceas, también forman parte de la microbiota autóctona por encontrarse disperso en la naturaleza e inclusive se han reportado en aguas hipertermales o carbónicas, hallándose bacilos Gram positivos irregulares como *Arthrobacter*, *Kurthia*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Exiguobacterium*, *Rubrobacter*. (MOSSO, et al., 1994).

#### *Microorganismos autóctonos*

Haciendo referencia a la calidad sanitaria, por lo general las aguas termales no suelen poseer bacterias patógenas ni indicadores fecales pero si se han encontrado bacterias del tipo *coliformes*, *enterococos*, *Clostridium sulfito reductores* y *Pseudomonas aeruginosa*. “La presencia de coliformes no fecales no es un riesgo sanitario ya que pueden proceder del suelo o de los vegetales y sobreviven en ambientes acuáticos por su facilidad de adaptación”. (LECHEVALIER et al.1987).

*P. aeruginosa* es un microorganismo de tipo oportunista, por lo que puede afectar la salud de usuarios inmunodeprimidos. Su presencia puede deberse a una falta de protección y saneamiento del manantial, aunque es posible también encontrarlas radicadas en ambientes acuáticos y hallarse en aguas subterráneas no necesariamente contaminadas por acción del hombre (LECLERC Y MOSSEL, 1989).

### 1.3.7.2. Bacterias causantes de infección por uso recreacional del agua

*Escherichia coli*, *Shigella*: Ambas de origen fecal humano. La *E.coli* puede provenir además de materia fecal animal

*Pseudomonas aeruginosa* (CALDERÓN, E. Instituto de Ingeniería Sanitaria UBA)

“Los balnearios termales presentan una variedad de microorganismos autóctonos propios de cada tipo de agua y que dependen de sus propiedades fisicoquímicas tales como: temperatura, pH, composición, etc. Entre las bacterias que Prevalecen están las bacterias heterótrofas oligotróficas de los géneros: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* y *Arthrobacter*”. De la misma manera pueden coexistir microorganismos Alóctonos oriundos de otros hábitats. Se ha encontrado en manantiales hipertermales más bacterias Gram positivas, en las mesotermiales bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos.

### 1.3.7.3. Indicadores de calidad sanitaria

“Las bacterias que pueden contaminar el agua minero-medicinal son los coliformes, los estreptococos, los clostridios, que se consideran indicadores de falta de protección de la surgencia o de la captación del agua y más grave sería la presencia de *Escherichia coli* o *Salmonella* que suponen un claro riesgo sanitario pues son gérmenes patógenos así como *Pseudomonas aeruginosa*”. (OLIVER-RODÉS, Benito, p. 80)

- Bacterias aerobias mesófilas o heterótrofos (BAM)
- Grupo de coliformes totales y fecales
- Enterococos
- Mohos y levadura
- *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Salmonella*

#### *Bacterias aerobias mesófilas o heterótrofas*

Son bacterias que viven en presencia de oxígeno libre a temperaturas entre 15 °C y 45 °C.

La presencia en altas cantidades evidencia problemas de higiene y de contaminación del agua.

### *Coliformes totales y fecales*

Coliformes totales son Gram-negativa, oxidasa-negativa, varillas no formadores de esporas, que fermentan la lactosa con producción de gas a 35-37 ° C, después de 48 h, en un medio con las sales biliares y detergentes.

“Cuando se lleva a cabo la prueba de coliformes con aguas ambientales, varias especies de los cuatro enterobacterias de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* dan resultados positivos y por lo tanto son los coliformes de acuerdo con esta definición”.

Pero los recuentos de coliformes totales no son necesariamente una medida de la contaminación fecal e incluso la presencia de estos organismos microscópicos puede que no tenga nada que ver con este tipo de contaminación. (CABRAL, Joao, 2010)

Los coliformes fecales (o coliformes termotolerantes) se define tradicionalmente como coliformes que fermentan la lactosa a 44,5 ° C en un medio con las sales biliares .La gama de especies detectadas por el procedimiento experimental es mucho menor que la de coliformes totales. Con las aguas contaminadas del medio ambiente, solamente *E. coli* y *K. oxytoca* y *K. pneumoniae* dio resultados positivos en la prueba. (CABRAL, Joao, 2010)

### *Escherichia*

*Escherichia*, miembro de enterobacterias, son oxidasa-negativos varillas rectas catalasa-positivos que fermentan la lactosa. Las células son positivos en la prueba de rojo de metilo, pero negativo en el ensayo de Voges-Proskauer. Las células no utilizan el citrato, no producen H<sub>2</sub>S o lipasa, y no hidrolizan la urea. *E. coli* es una parte natural y esencial de la flora bacteriana en el intestino de los seres humanos y animales.” La mayoría de cepas de *E. coli* son no patógenas y residen inofensivamente en el colon. Sin embargo, ciertos serotipos juegan un papel en las enfermedades intestinales y extra-intestinales, como las infecciones del tracto urinario”. (CABRAL, Joao, 2010)

### *Enterococos*

Grupo de bacterias gram negativas representadas por el grupo de *Enterococos* fecales que demuestran contaminación fecal

## *Mohos y levaduras*

Microorganismos eucariotas aerobios, sus valores elevados apuntan problemas de higiene, limpieza y contaminación ambiental. (ANDUEZA, Félix, 2014).

## *Pseudomonas*

“Es una bacteria Gram-negativa perteneciente a la rama de las proteobacterias, misma a la que pertenecen las enterobacterias. Dentro del género *Pseudomonas* se encuentran también algunas otras especies como *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae* y *P. alcaligenes*”. (CABRAL, Joao, 2010)

“*P. aeruginosa* se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza se puede aislar de muestras de suelo, aguas prístinas y contaminadas, así como de plantas y animales. Todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre y algunas pueden infectar también a plantas como *Arabidopsis thaliana* y a invertebrados como *Caenorhabditis elegans*”. (CABRAL, Joao, 2010)

“Esta bacteria es capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustrato para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos en los que son escasos los nutrientes que otros organismos pueden asimilar. Se ha reportado el aislamiento de *P. aeruginosa* de ambientes tan inhóspitos como son el combustible de avión, soluciones de clorhexidina y el jabón”. (CABRAL, Joao, 2010)

Es interesante mencionar que *P. aeruginosa* puede representar problemas pero también puede ser de utilidad para tratar la contaminación del ambiente. Es una realidad que a diario estamos en contacto con esta bacteria ya que se la puede encontrar en los alimentos e incluso en algunos artículos de limpieza, también se han dado casos de la presencia de esta bacteria en análisis de heces de personas sanas.

“*P. aeruginosa* representa un problema importante de salud en centros hospitalarios, especialmente cuando se trata de pacientes con cáncer o quemados. Una vez que se establece la infección, *P. aeruginosa* produce una serie de compuestos tóxicos que causan no sólo daño tisular extenso, sino adicionalmente interfieren con el funcionamiento del sistema inmune”. Entre las proteínas que

intervienen en la infección de *P. aeruginosa* encontramos toxinas, como las exotoxinas A y S, así como enzimas hidrolíticas que degradan las membranas y el tejido conjuntivo de diversos órganos.

*Pseudomonas aeruginosa* también tiene la capacidad de adherirse en condiciones de humedad a superficies formando con su acumulación biopelículas, que puede ser un problema para personas que llevan algún tipo de dispositivo dentro del cuerpo como por ejemplo dispositivos intrauterinos, catéteres o válvulas cardíacas. Estas biopelículas también pueden causar problemas en el sector industrial pues pueden provocar taponamiento y corrosión de conexiones y filtros.

### Staphylococcus

*Staphylococcus* son Cocos Gram positivos dispuestos en forma aislada, en pares o en forma similar a racimos de uvas irregulares. Coagulasa variables, no formadores de esporas, anaerobios facultativos (excepto *S. saccharolyticus* que exhibe un desarrollo más rápido y abundante en condiciones de aerobiosis. Catalasa variables; por lo común positivos (*S. aureus* *suesp.* *Anaerobius* y *S. saccharolyticus* son catalasa negativos y por lo común solo crecen en anaerobiosis). Oxidasa variables; por lo común negativos, (*S. caseolyticus*, *S. lentus*, *S. sciuri* y *S. vitulus* son positivos con la reacción para oxidasa modificada). O/F de la glucosa: F (fermentativos). Temperatura óptima de crecimiento: 30-37°C. (MACFADDIN Jean, 2004, p.511)

### Moraxella

Son aerobios, catalasa positivos, oxidasa positivos, reacciones variables en agar MacConkey, variable en reducción de nitratos negativo para movilidad a una temperatura de 37°C, glucosa O/F, / Sin crecimiento. (MACFADDIN Jean, 2004, p.511)

Generalmente especies de *Moraxella* están presentes en la orofaringe, las membranas mucosas, piel y tracto genital, y pueden causar ciertas enfermedades en los seres humanos.

*Moraxella catarrhalis* es la especie aislada con mayor frecuencia y es responsable de los casos de otitis media aguda (en niños mayores de 3 meses de edad), sinusitis aguda y crónica (fiebre ocasional, nasal o la descarga nasal, tos, aliento fétido, dolor en los senos y dolor de cabeza), infecciones del

tracto respiratorio superior e inferior y a veces infecciones sistémicas, meningitis, bacteriemia, endocarditis, queratitis y artritis supurativa. (Public Health Agency of Canada).

Otras especies de *Moraxella* puede causar conjuntivitis y queratitis (*Moraxella lacunata*), meningitis y artritis (*Moraxella oloensis*), endocarditis (*Moraxella lacunata*), osteomielitis (*Moraxella oloensis*), infecciones del tracto respiratorio superior e inferior (*Moraxella nonliquefaciens*) y las infecciones otorrinolaringológicas (*Moraxella lacunata*). Varias especies se encuentran en la flora humana naturales; sin embargo, su patogenicidad, en su caso, no se ha establecido. (Public Health Agency of Canada)

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Población de estudio y localización del muestreo

La población de estudio fueron los siguientes tipos de organismos microscópicos: *Coliformes* totales y fecales, *Staphylococcus*, *Aerobios mesófilos*, mohos y levaduras presentes en el agua del balneario termal El Tingo ubicado en Sangolquí en la provincia de Pichincha.

#### 2.2. Descripción de métodos y técnicas

**Imagen 3-2:** Esquema del proceso de análisis.



### **2.3. Muestreo**

#### **Material, reactivos y equipo de muestreo.**

- Envases para la recolección de la muestra: Se utilizó frascos esteriles.
- Se realizó el muestreo por duplicado.
- Hieleras de plástico o de otro material aislante con tapa.
- Solución de alcohol etílico al 70%-
- Gasa o torundas de algodón estériles.
- Bastón para muestreo de agua.
- Guantes y cubre bocas estériles.
- Marcadores indelebles.

#### **Selección de los puntos de muestreo.**

Tomamos como guía la norma NTE INEN 2176:2013 para muestreo y la norma NTE INEN 2169:2013 para la conservación de las mismas.

Identificamos puntos de muestreo representativos de las diferentes fuentes de agua que abastecen el balneario, se consideró los lugares más susceptibles de contaminación.

Identificamos el brote de la fuente termal para el primer muestreo y tomamos la cascada como fuente para el segundo muestreo.

Se realizaron dos muestreos en cada sitio, e inmediatamente se guardaron en condiciones asepticas y a temperatura ambiente hasta su posterior análisis.

Se verificó que los envases que contienen las muestras estuviesen cerrados ermeticamente hasta el instante que se realizó el análisis.

#### **2.4. Análisis Físico-químico in situ.**

Para este análisis se utilizó un aparato multi parámetros de bolsillo PH/CE/Temp. Antes del análisis se verificó que el aparato este bien calibrado, se determinó temperatura, pH, conductividad y solidos totales.

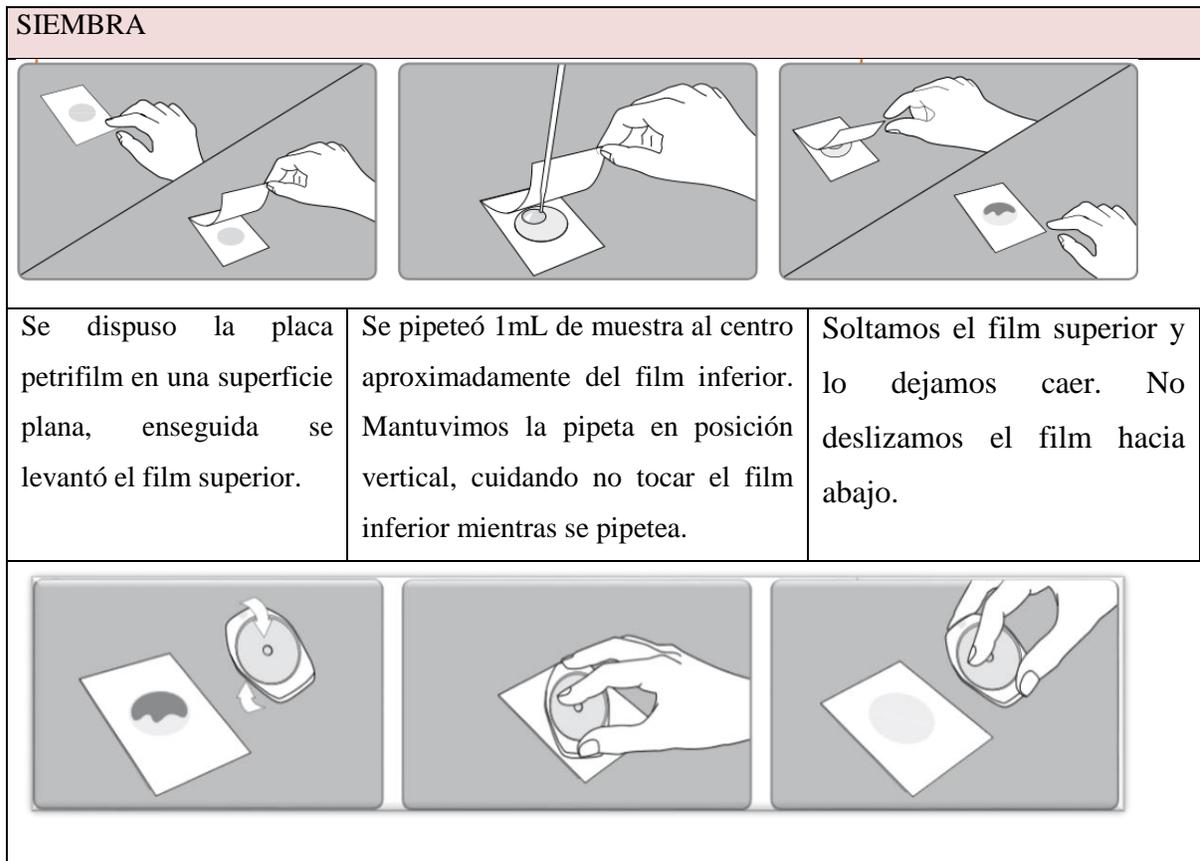
## 2.5. Métodos de análisis microbiológico de las aguas termales.

### 2.5.1. Estudio de microorganismos mediante técnicas de placas Petrifilm

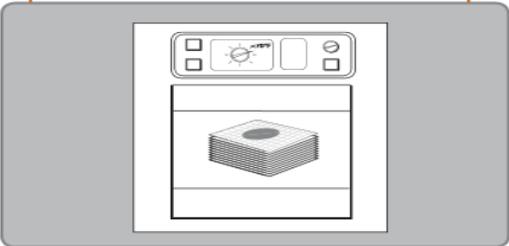
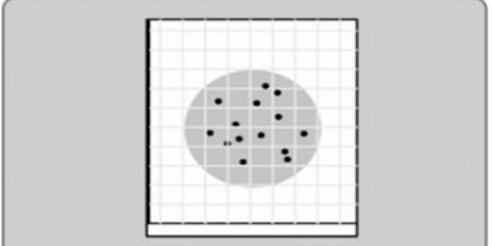
Las Placas 3M™ Petrifilm™, estos son medios para el recuento de microorganismos listos para utilizar que reemplazan el agar convencional, las placas de Petri, las almohadillas de medios y los embudos de filtración desechables que se utilizan en las pruebas microbianas de agua. Cada placa contiene un agente gelificante soluble en agua, nutrientes e indicadores en un formato seco no perecedero.

Se determino y cuantificó Aerobios mesófilos, *E. coli/ Coliformes*, *Staphylococcus aureus* y también mohos y levaduras. Y se procedió como se indica en la imagen 4-2.

**Imagen 4-2:** procedimiento para análisis en placas Petrifilm



Se colocó el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Use el aplicador con la cara rebajada hacia abajo (cara lisa hacia arriba).	Enseguida se aplicó presión de manera suave sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular, sin mover ni girar el aplicador.	Se levantó el aplicador, y esperé 1 minuto hasta que el gel solidificó.
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------

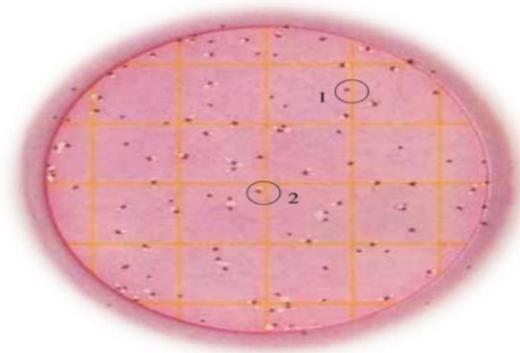
INCUBACIÓN	INTERPRETACIÓN
 <p>Se incubó las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas, a 35°C durante 72 horas, excepto para mohos y levaduras, en la que varía a 25°C por un periodo de 7 días.</p>	 <p>Finalmente se procedió a leer las placas. Según la Guía de interpretación de resultados, se usó luz directa para la lectura, puesto que no se recomienda usar luz de fondo.</p>

Fuente: 3M. 2002

### 2.5.1.1. Enumeración de coliformes totales y fecales

La ISO define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos. El método ISO 4832, que enumera los coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm CC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas (imagen 5-2, Círculo 1).

### Imagen 5-2: Recuento Coliformes totales



Fuente: 3M. 2012

El método ISO 4831, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm CC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas. (Imagen 5-2, círculo 2).

La AOAC INTERNATIONAL y la FDA (Food and Drug Administration) / BAM definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica.

Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm CC producen ácido que provoca que el indicador de pH oscurezca el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias indica Coliformes.

#### 2.5.1.2. Valoración de mohos y levaduras

Las placas petrifilm para mohos y levaduras contienen nutrientes de Sabhi, dos antibióticos (clorotetraciclina y cloranfenicol), indicador de fosfatos (BCIP) un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que facilita el recuento. Las levaduras aparecen normalmente como colonias pequeñas verde azuladas con bordes definidos y son foco central. Los mohos suelen mostrarse como colonias grandes de color variable, con bordes difusos y foco central. (3M, 2004).

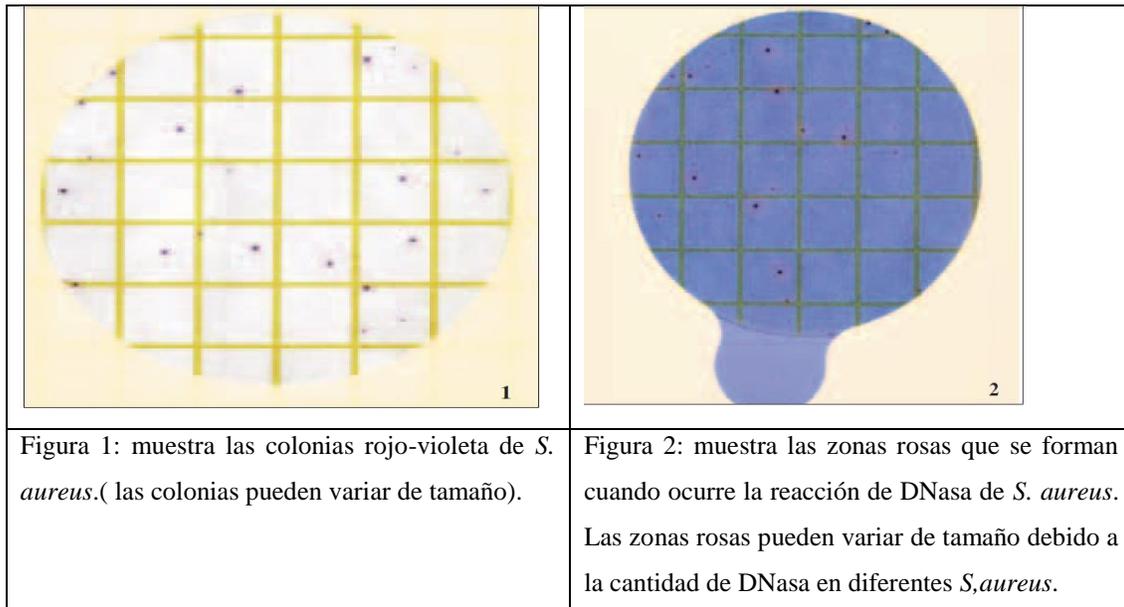
### 2.5.1.3. Estudio de la presencia de *Staphilococcus*

El sistema de recuento 3M™ Petrifilm™ Staph Express consiste en una placa de recuento Petrifilm Staph Express y un disco Petrifilm Staph Express.

La placa de recuento Petrifilm Staph Express contiene un sistema de medio de cultivo preparado. El medio cromogénico de Baird-Parker modificado de la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* aparece como colonias rojo-violeta en la placa (figura 1). Otras colonias que no sean de color rojo-violeta también pueden aparecer en la placa. (3M, 2002)

**Imagen 6-2:** Análisis de *Staphylococcus*



Fuente: Guía de interpretación STX, 3M, 2002

### 2.5.2. Aislamiento de las colonias

El aislamiento de las colonias se realizó mediante repiques y siembra por agotamiento :

En el repique se extrajo del borde de la colonia una bacteria con un palillo estéril , acto seguido se sembró en una placa de petri con medio nutritivo muller, luego incubamos las placas a 34°C durante 24 horas, posteriormente con la bacteria pura , procedimos a identificarla.

Con el objetivo de aislar lo máximo posible y obtener colonias puras realizamos la siembra en placas muller por agotamiento o estria.

Con un asa de platino estéril se tomó una colonia del borde del crecimiento que es donde estan las colonias bacterianas jóvenes y se procedio a sembrar en la placa petri con agar muller en forma de estrias, acto seguido se incubo las placas en posición invertida a 35°C durante 24 horas.

El procedimiento de repiques y siembra por estria se repitió hasta 3 veces donde ya se observó colonias bacterianas aisladas.

### 2.5.3. Identificación de las colonias, según su morfología y propiedad tintorial

#### TINCIÓN GRAM

Productos que se utilizaron	Reacción y coloración de las bacterias	
	GRAM +	GRAM -
1) Cristal violeta	Células color violeta	Células color violeta
2) Lugol solución iodada	Se forma el complejo CV-I. Las células continúan teñidas de color violeta.	Se forma el complejo CV-I. Las células continúan teñidas de color violeta.
3) Alcohol	Se deshidratan las paredes celulares. Se contraen los poros. Disminuye la permeabilidad. El complejo CV-I no sale de las células que continúan teñidas de color violeta.	Eliminación por extracción de grasas de las paredes celulares. Aumenta la porosidad. El complejo CV-I se separa de la célula.
4) Safranina	Células no decoloradas; quedan teñidas de color violeta.	Células decoloradas; se tiñen de color rosado.

(SOGAARD, M., 2007)

## **Técnica**

- Se colocó una gota de suero fisiológico en una placa porta objetos limpia.
- De la colonia bacteriana pura recogimos una muestra con un palillo estéril, con la cual hicimos el extendido sobre la gota de suero fisiológico que pusimos en la placa porta objetos.
- Se fijó la muestra sometiénola al calor (flameamos tres veces aproximadamente).
- Se agregó el cristal violeta y esperamos un minuto.
- Luego de transcurrido el minuto se enjuagó con agua.
- Se agregó lugol y esperamos un minuto aproximadamente.
- Enseguida se enjuagó con agua.
- Se adicionó alcohol acetona y se esperó 30 segundos
- Volvemos a enjuagar con agua.
- Finalmente se añadió la safranina o fucsina básica y esperamos un minuto. Este tinte dejará de color rosado-rojizo las bacterias gram negativas.
- Se dejó secar las placas al ambiente, y las observamos al microscopio óptico a 100x con aceite de inmersión. (SOGAARD, M, 2007)

### **2.5.4. Pruebas bioquímicas**

#### **2.5.4.1. Prueba de la Catalasa**

### **Materiales y reactivos**

- Colonias aisladas a investigar
- Asa de platino
- Porta objetos para bacteriología
- Agua oxigenada al 3%

### **Técnica**

- Con un asa de platino esterilizada y enfriada, sin tocar el medio de cultivo, transferimos una pequeña cantidad de la colonia a investigar a una placa porta objetos previamente limpiado y desengrasado.

- Añadimos 1 a 2 gotas de agua oxigenada al 3%
- Observamos la formación de burbujas de O<sub>2</sub>
- Después de la lectura para desechar las placas procedemos a ingresarla dentro de una solución desinfectante.

### **Interpretación**

Prueba positiva (catalasa positiva)	→	Formación de burbujas de O <sub>2</sub>
Prueba negativa (catalasa negativa)	→	No formación de burbujas de O <sub>2</sub>

(PORTERO, Francisco. 2011, p.2)

#### **2.5.4.2. Prueba de citocromo oxidasa**

### **Materiales y reactivos**

- Colonias a investigar
- *Pseudomonas aeruginosa*( control positivo)
- *Escherichia coli*(control negativo)
- Discos o tiras comerciales de citocromo oxidasa
- Asa de platino
- Mechero o lámpara de alcohol

### **Técnica**

Se tomó una tirilla de citocromo-oxidasa y directamente tocamos las colonias bacterianas aisladas en la caja Petri, y dejamos pasar 15 segundos y acto seguido leímos la prueba.

### **Interpretación**

Prueba positiva (Oxidasa positiva)	→	Si la tirilla toma un color azul
Prueba negativa (Oxidasa negativa)	→	Si la tirilla no sufre cambio alguno

(PORTERO, Francisco, 2011, p.14)

### 2.5.4.3. Prueba de Hugh y Leifson oxidación fermentación

Para cada bacteria Gram negativa a identificar, se inoculó por punción dos tubos de medio O/F de Hugh y Leifson. En uno de los dos tubos la superficie se cubrió con parafina estéril para crear condiciones de anaerobiosis. Se incubaron a 37°C por un lapso de 24 horas.

### 2.5.4.4. Identificación de bacterias por el Sistema de Microgen

Para la identificación por este sistema se procedió según lo indica en el Cuadro 4-2.

**Cuadro 4-2:** Identificación de bacterias por el Sistema de Microgen

OXIDASA	GN A NEGATIVA	GN A+B NEGATIVA	GN A+B POSITIVA
<b>INÓCULO</b>	1 colonia en 3ml salina	1 colonia en 5ml salina	1 colonia en 5ml salina Añadir 1 gota de suero de caballo estéril /ml salina si se sospecha de <i>Actinobacillus</i> o <i>Pasteurella spp</i>
<b>INOCULACIÓN</b>	3-4 gotas (100µl) por pocillo	3-4 gotas (100µl) por pocillo	3-4 gotas (100µl) por pocillo
<b>REVESTIMIENTO CON ACEITE</b>	Pocillo 1 – Lisina Pocillo 2 – Ornitina Pocillo 3 – H <sub>2</sub> S	Pocillo 1, 2, y 3 más Pocillo 20 – Arabinosa Pocillo 24 – Arginina	Pocillo 1, 2, y 3 más Pocillo 24 – Arginina
<b>TIEMPO DE INCUBACIÓN</b>	18 - 24 horas	18 - 24 horas	48 horas
<b>TEMPERATURA</b>	35 - 37°C	35 - 37°C	35 - 37°C (25°C para <i>Ps. fluorescens</i> )
<b>LECTURA INICIAL</b>			
<b>ADICIÓN DE REACTIVOS</b>	Pocillo 8: Indol - Añadir 2 gotas del reactivo Kovac's. Leer en 2mins. Pocillo 10: VP – Añadir 1 gota del reactivo VPI y 1 gota del reactivo VPII Leer tras 15-30mins. Pocillo 12: TDA – Añadir 1 gota del reactivo TDA y leer inmediatamente.	Igual que para GN A Gelatina: Interpretar a las 24 horas Pocillo 24: Arginina - Amarillo = Negativo Verde/Azul = Positivo	Igual que para GN A Gelatina – interpretar a las 48 horas Pocillo 24: Arginina - Amarillo = Negativo Azul = Positivo
<b>LECTURA FINAL (Opcional Microgen Software)</b>			

Fuente: Guía de uso Microgen™ GN-ID Identificación

## Interpretación

Se procedió con la lectura según la tabla de referencia de los sustratos (tabla 5) y finalmente los resultados se analizaron con el Microgen Software, gracias a la gestión del Dr. Félix Andueza.

**Cuadro 5-2:** Tabla de la referencia de los sustratos

Pocillo	Reacción	Descripción	Positiva	Negativa
1	Lisina	La Lisina decarboxilasa – al azul de Bromotimol pasa de a verde/azul, indicando la producción de la amina cadaverina.	Verde / Azul	Amarillo
2	Ornitina	La Ornitina decarboxilasa – el azul de Bromotimol se mantiene azul indicando la producción de la amina putrescina.	Azul	Amarillo / Verde
3	H <sub>2</sub> S	Producción de H <sub>2</sub> S – el Tiosulfato se reduce a H <sub>2</sub> S que reacciona con las sales de hierro produciendo un precipitado negro.	Marrón/ Negro	Color paja
4	Glucosa	Fermentación – el azul de Bromotimol cambia de azul a amarillo como resultado de la producción de ácido a partir de la fermentación de carbohidratos.	Amarillo	Azul / Verde
5	Manitol			
6	Xilosa			
7	ONPG	Hidrólisis – la hidrólisis de la ONPG por la Bgalactosidasa da lugar a la producción de amarillo de orto-nitrofenol.	Amarillo	Incoloro
8	Indol	El indol se produce a partir de triptófano y da lugar a un complejo rosa / rojo cuando se añade el reactivo de Kovac's.	Rosa / Rojo	Incoloro
9	Ureasa	La hidrólisis de la urea da lugar a la formación de amoníaco que provoca un incremento de pH que hace virar el rojo de fenol de amarillo a rosa / rojo.	Rosa muy profundo	De color paja a rosa salmón pálido
10	VP	La producción de acetoina a partir de glucosa se detecta por la formación de un complejo rosa / rojo después de la adición de alfa naftol y creatina en presencia de KOH.	Rosa profundo / Rojo	Incoloro a rosa pálido
11	Citrato	La utilización de citrato (solo como fuente de carbono) da lugar a un incremento de pH que proporciona un cambio de color del azul de bromotimol de verde a azul.	Azul	Amarillo/ Verde pálido
12	TDA	El ácido Indolpirúvico se produce a partir de triptófano por la triptófano deaminasa dando un color rojo cereza cuando se añaden los iones de hierro. Los microorganismos indolo positivos pueden dar coloración marrón – en caso de resultado negativo.	Rojo cereza	Color paja
13	Gelatina	Los enzimas proteolíticos licuan la gelatina dando lugar a partículas negras que quedarán dispersadas por el pocillo.	Negro	Incoloro
14	Malonato	Cuando el malonato sódico es la única fuente de carbono se inhibe la conversión del ácido succínico a ácido fumárico. Un microorganismo incapaz de usar ese sustrato da lugar a la acumulación de ácido succínico y el microorganismo no crece. Una reacción positiva es resultado de la utilización de malonato sódico a la vez que el sulfato de amonio se utiliza como fuente de nitrógeno dando lugar a hidróxido sódico que aumentará la alcalinidad dando color azul.	Azul	Verde
15	Inositol	Fermentación – el azul de Bromotimol cambia de azul a amarillo como resultado de la producción de ácido por la fermentación de carbohidratos.	Amarillo	Azul
16	Sorbitol			
17	Ramnosa			
18	Sucrosa			
19	Lactosa			
20	Arabinosa			
21	Adonitol			
22	Rafinosa			
23	Salicina			
24	Arginina	La Arginina para a ornitina, amoníaco y CO <sub>2</sub> por la acción de la arginina dihidrolasa dando lugar a un incremento del pH y a un cambio de color del azul de bromotimol de verde a azul. A las 48 horas las reacciones verdes son negativas.	Verde/ Azul azu	Amarillo Amarillo / Verde

Fuente: <http://www.medica-tec.com/chi/files/MICROGEN-GN-ID-MID64-641-65..pdf>

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Parámetros fisicoquímicos medidos in situ del agua del manantial termal en la localidad de Sangolquí en la provincia de Pichincha.

**Tabla 1-3:** Resultados de las Pruebas in Situ del manantial termal El Tingo

Parámetro físico químico	Sitio de la toma		Ambiente
	Ojo de Agua	Cascada	
pH	7.68	7.56	
Conductividad	3011 uS/cm	3003 uS/cm	
Solidos Totales	1506 ppm	1503 ppm	
Temperatura (°C)	42.0 °C	41.0 °C	17.7

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015.

La medición de los parámetros físico químicos se los realizó in situ a las 16 horas del 2 de Enero del 2015, registrándose una temperatura ambiente de 17.7°C, los datos se tomaron en dos puntos a los que denominamos “ojo de agua” y “cascada.

Se determinó que la temperatura tomada en el ojo de agua termal del balneario El Tingo tuvo un valor de 42.0°C, mientras que la temperatura tomada del agua termal de la cascada del mismo afluente tuvo un valor de 41°C, 1 grado centígrado menos que en el ojo de agua, esto debido al camino que sigue el líquido hasta llegar a la cascada. (Tabla 1-3).

Estudios realizados por el INAMHI reportan una temperatura del agua termal de 43.8°C, 1.8°C más que puede ser debido a las condiciones de temperatura ambiental en las que se tomaron los datos, sin embargo no es relevante puesto que se encuentran dentro de los límites de un agua hipertermal, según la clasificación de H. Scholler que clasifica como hipertermal aguas con temperaturas entre 41-100°C. (Tabla 1) (SCHOLLER, H.).

Fenómenos del subsuelo profundo pueden dar lugar a aguas homotérmicas que hacen que la temperatura se mantenga constante a lo largo del año, claro que también pueden originar aguas heterotérmicas que presentan variaciones estacionales. (OLIVER-RODES, Benito, 2013, p.4) En cualquier caso se deberían hacer mediciones periódicas para detectar cualquier anomalía.

Otro parámetro importante para el crecimiento de los microorganismos es el pH, y se realizaron medidas directas tanto en el ojo de agua como en la cascada del balneario, se determinó un pH de 7.68 en el ojo de agua y un pH de 7.56, para el agua termal de la cascada, (tabla 6), ambos ligeramente alcalinos, el INAMHI cita un pH de 6.98. La mayoría de bacterias necesitan de un pH entre 5.5 y 8.0 según nos indica Mandigan para un desarrollo óptimo, entonces podemos decir que el agua termal del Balneario El Tingo tiene las condiciones óptimas de pH para que determinados microorganismos se desarrollen.

Estudios realizados por la Dra. Sandra Flores en los manantiales termales La Mitisús y Santa Apolonia del estado de MERIDA en Venezuela reportan un pH de 6.86, ligeramente alcalino.

### 3.2. Análisis microbiológico

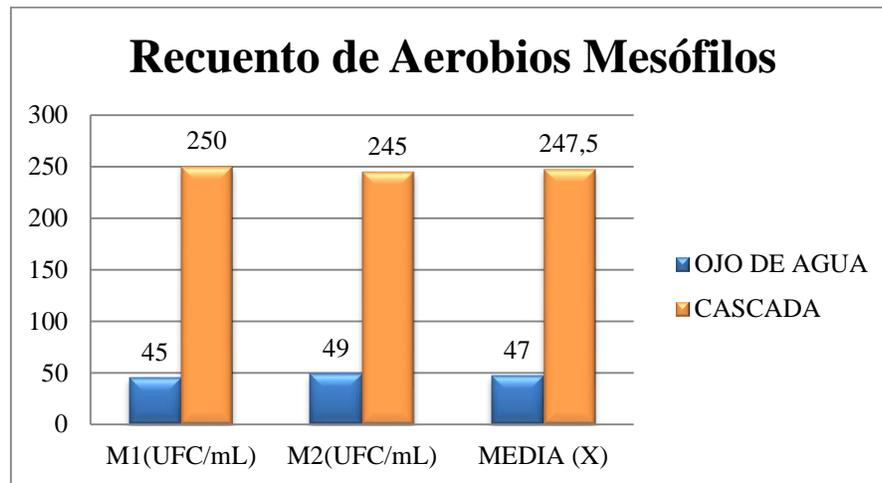
#### 3.2.1. Bacterias Aerobias Mesófilas

**Tabla 2-3:** Resultado del Recuento de Bacterias *Aerobias Mesófilas* “EL TINGO”

LUGAR	M1(UFC/mL)	M2(UFC/mL)	MEDIA (X)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR(S)	VARIANZA(S <sup>2</sup> )
OJO DE AGUA	45.0	49.0	47.0	2.83	8
CASCADA	250.0	245.0	247.5	3.54	12.5
X TOTAL	295.0	294.0	294.5	0.71	0.5

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 1-3:** Recuento de *Aerobios mesófilos*



**Realizado por:** VINUEZA, Raúl, 2015

Transcurridas las 72 horas de incubación, se observaron las placas Petrifilm con la siembra tanto del ojo de agua como la cascada, notandose un crecimiento mucho mayor (84%) en las muestras de la cascada con relación al ojo de agua (16%), (tabla 2-3), se pueden observar colonias entre pequeñas y grandes, redondas y de coloración rosada o violeta.

Estudios realizados en el balneario El Raposo en España citan un numero de bacterias de 178 UFC/mL (DE LA ROSA, Carmen, 2013, Pag.70), mucho menor al encontrado en nuestro balneario, al igual que en estudios realizados (FLORES, Sandra, 2013, pag.48) en los manantiales termales La Mitisús y Santa Apolonia del estado de MERIDA donde reporta un crecimiento de >16UFC/mL.

Aparentemente se puede notar que hay contaminación en el agua que sale de la cascada, de esto se procedió a purificar y aislar algunas cepas en medio de Muller hinton para así obtener colonias aisladas por repique y siembra por agotamiento, para la identificación de su género y especie con pruebas bioquímicas y por el sistema microgen si fuese necesario.

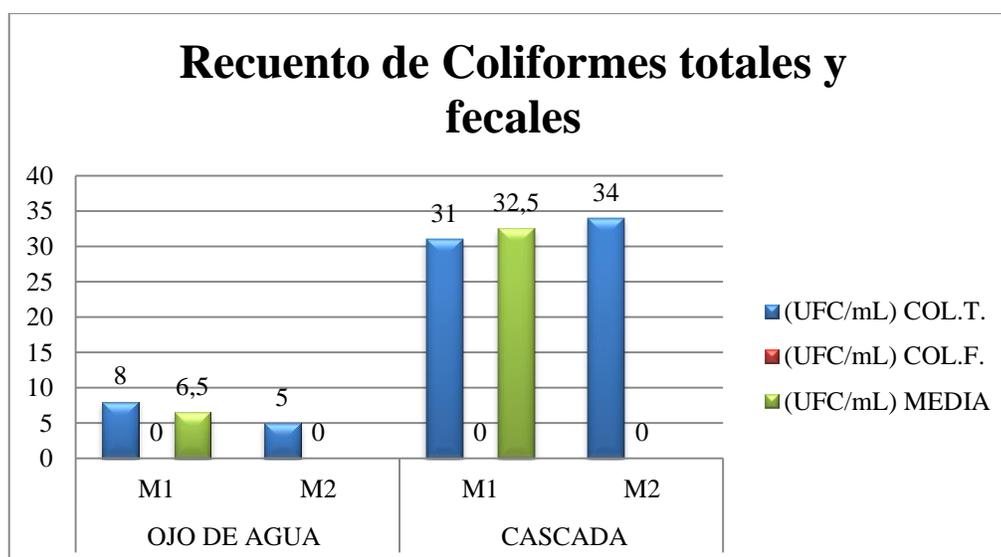
### 3.2.2. Coliformes totales y fecales

**Tabla 3-3:** Resultados del recuento de Coliformes totales y fecales

SITIO DE MUESTREO		UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC/mL)			MEDIA	DESVIACION ESTÁNDAR	VARIANZA
		COL.T.	COL.F.	T			
OJO DE AGUA	M <sub>1</sub>	8.0	0.0	8.0	6.5	2.12	4.5
	M <sub>2</sub>	5.0	0.0	5.0			
CASCADA	M <sub>1</sub>	31.0	0.0	31.0	32.5	2.12	4.5
	M <sub>2</sub>	34.0	0.0	34.0			
<b>TOTAL</b>		78.0	0.0	78.0	39	0	0

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 2-3:** Recuento de Coliformes totales y fecales



Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

Encontramos un total de 78 UFC/mL, donde todas fueron Coliformes totales y hay ausencia de Coliformes fecales, se pudo notar que la mayoría (83.3%) son de las muestras de la cascada, y tan solo el 16.7% pertenece al ojo de agua.

Aparentemente se evidencian problemas en el mantenimiento en las instalaciones del balneario, sin embargo el recuento de Coliformes totales no son necesariamente una medida de la contaminación fecal, incluso pueden no tener ninguna correlación con esta. (CABRAL, Jorge., 2009, p.29).

Estudios realizados en el Balneario El Raposo, han detectado Coliformes totales en número bajo, menos de 10 por 100 mL. Las especies identificadas proceden del suelo y no indican contaminación fecal. (DE LA ROSA, J., 2013, p.71)

Se ha realizado el estudio microbiológico del agua del manantial el Salvador del Balneario "El Paraíso de Manzanera (Teruel) en aguas de tipo hipo termal donde no se reporta la presencia de Coliformes totales y fecales, (DE LA ROSA, C, p.35), lo mismo ocurre en las aguas termales de Puente Viesgo estudiado por Jorge De La Rosa donde tampoco se encontró este tipo de microorganismos. (DE LA ROSA, Jorge.2013).

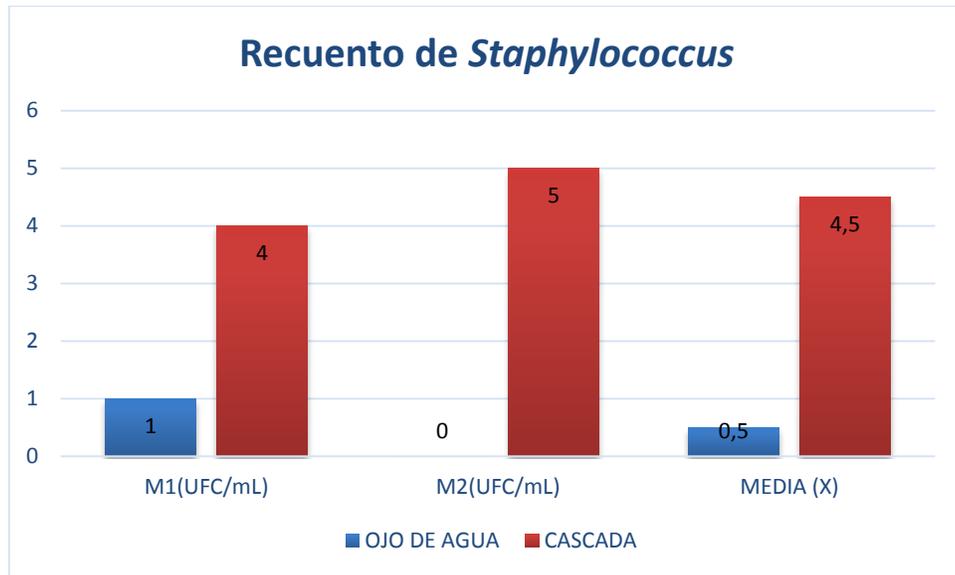
### 3.2.3. Staphylococcus

**Tabla 4-3:** Resultados del Recuento de *Staphylococcus* "EL TINGO"

LUGAR	M1(UFC/mL)	M2(UFC/mL)	MEDIA (X)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR(S)	VARIANZA(S <sup>2</sup> )
OJO DE AGUA	1.0	0.0	0.5	0.71	0.5
CASCADA	4.0	5.0	4.5	0.71	0.5
X TOTAL	5.0	5.0	5.0	0.0	0.0

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 3-3:** Recuento de *Staphylococcus*



**Realizado por:** VINUEZA, Raúl, 2015

Se encontraron un total de 5UFC/mL (tabla 9), en los dos sitios de muestreo de las cuales solamente una creció en las muestras tomadas del ojo de agua, y las restantes pertenecen a las muestras del agua termal de la cascada.

De la Rosa realizó un estudio de los microorganismos de interés sanitario de los manantiales del balneario de Alicún de las Torres en Granada- España de donde se aislaron 60 cepas bacterianas de las que en una baja proporción pertenecía al género *Staphylococcus*. (DE LA ROSA, Jorge, 2009)

Al ser estas placas Petrifilm exclusivas para *staphylococcus* podemos decir que las 5 bacterias encontradas son de este género, sin embargo posteriormente se realizaron pruebas para confirmar el género además de detectar la especie.

Microorganismos de este tipo son indicativos de calidad sanitaria, lo ideal sería que en el contaje arrojara un resultado de cero (ausencia). (ANDUEZA, Félix, .2014).

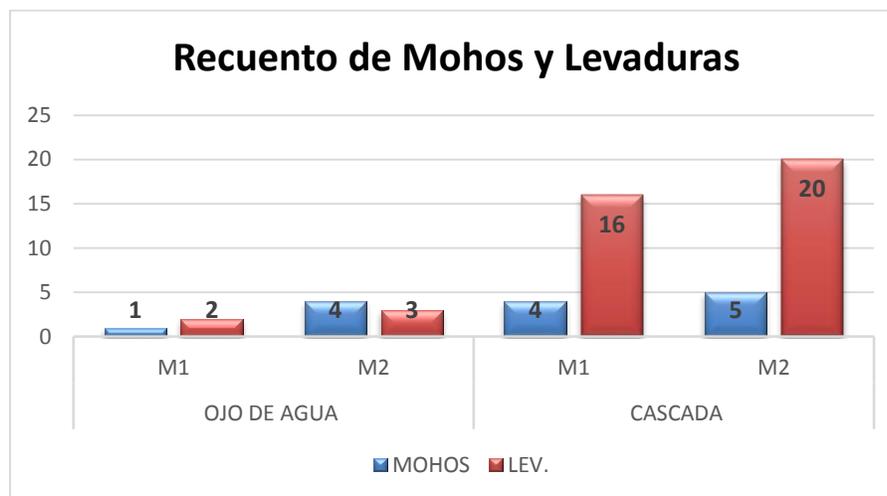
### 3.2.4. Mohos y Levaduras

**Tabla 5-3:** Resultados del Recuento de Mohos y levaduras

SITIO DE MUESTREO		UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC/mL)			MEDIA	DESVIACION ESTÁNDAR	VARIANZA
		MOHOS	LEV.	T			
OJO DE AGUA	M <sub>1</sub>	1	2.0	3	2.5	1.3	1.6
	M <sub>2</sub>	4	3.0	7			
CASCADA	M <sub>1</sub>	4	16	20	11,3	7.9	63.6
	M <sub>2</sub>	5	20	25			
<b>TOTAL</b>		14	41	<b>55</b>	27.5	6.4	40.5

M1, M2: Muestreo; Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 4-3:** Resultado del recuento de mohos y levaduras



**Realizado por:** VINUEZA, Raúl, 2015

Se realizó el conteo de mohos y levaduras, en el que se puede observar más crecimiento en las muestras tomadas de la cascada con un porcentaje de 81.2%, con relación al ojo de agua que ocupa un 18.2% de la totalidad de microorganismos encontrados, de los cuales se verificó que 14 de las 55 son mohos y el resto son levaduras. (Tabla 5-3).

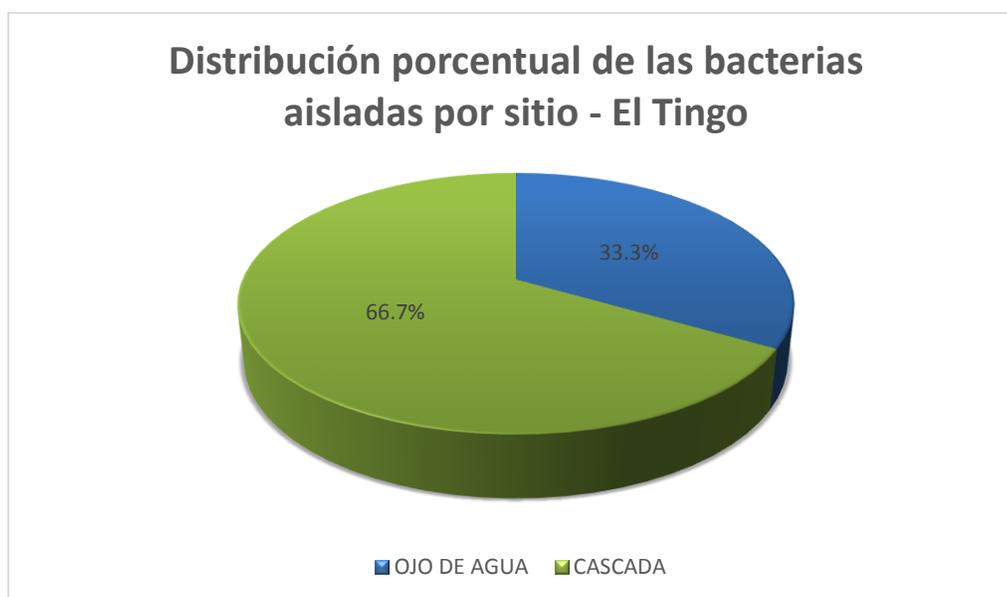
La presencia de mohos y levaduras en este sitio podría deberse a las condiciones de humedad y temperatura que se prestan para que se desarrollen favorablemente, ya que según Vera Garcia Tanto mohos y levaduras crecen en condiciones aerobias, se desarrollan mejor en ambientes ácidos de pH 3.8 a 5.6, y hasta pueden tolerar pH de 2 a 8, pueden crecer en condiciones de temperaturas de 0 hasta 50°C, sin embargo la mayoría de especies tienen temperaturas óptimas de crecimiento de entre 22 y 30°C(GARCIA, Victor,p.113 )

**Tabla 6-3:** Colonias bacterianas aisladas en las muestras de agua del balneario EL TINGO

Sitio del muestreo	Muestreo	Cepas aisladas	Total cepas aisladas	Porcentaje de cepas aisladas (%)	Porcentaje de cepas aisladas por sitio (%)
OJO DE AGUA	M1	1	2	50%	33.3%
	M2	1		50%	
CASCADA	M1	2	4	50%	66.7%
	M2	2		50%	
<b>Total de cepas aisladas</b>		<b>6</b>			

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 5-3:** Distribución porcentual de las bacterias aisladas por sitio de muestreo



Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

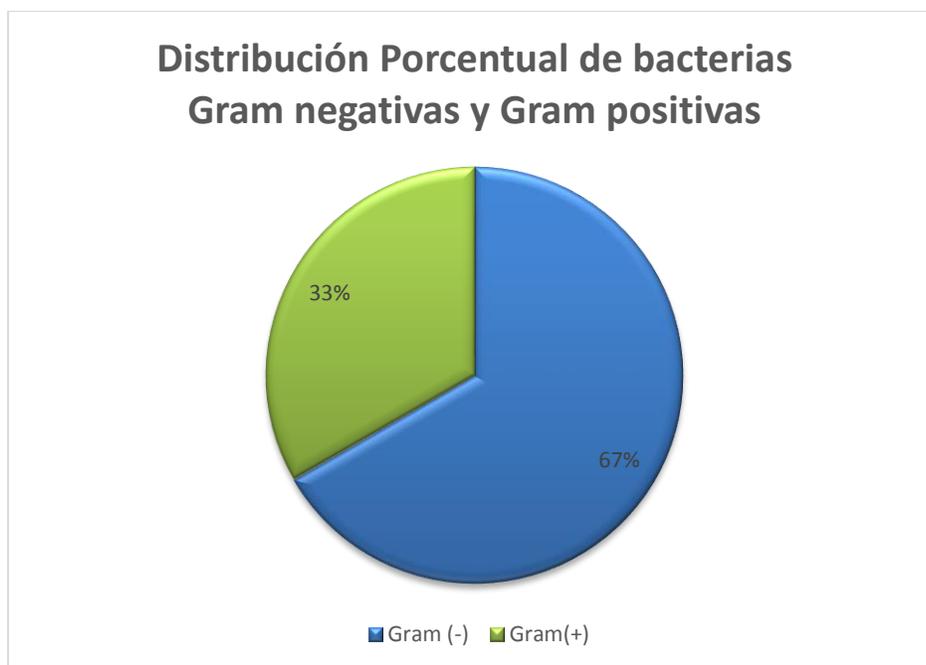
Se aisló un total de 6 cepas de las que 4 (66.7%) son de la cascada, y dos (33.3%) son del ojo de agua (tabla 11), a las que procederemos a realizarles sus respectivas pruebas de identificación para conocer su género y especie.

**Tabla 7-3:** Resultados de Morfología y propiedad tintorial de las cepas aisladas

Origen	Código	Petrifilm	Tinción	Morfología	Tinción (%)	Morfología (%)	Total (%)	
Ojo de agua	SC(II)	EC	Gram(-)	Bacilos	100	100	66.7	
	SC(22)2	EC	Gram(-)	Bacilos				
Cascada	CIIIAM	AC	Gram(-)	Bacilos	50	50		
	SC(II)I	EC	Gram(-)	Bacilos				
	STX1	STX	Gram(+)	Cocos	50	50		33.3
	STX2	STX	Gram(+)	Cocos				

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 6-3:** Distribución Porcentual de bacterias Gram negativas y Gram positivas



Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

A cada cepa aislada se le practicó la tinción Gram para diferenciarlos como Gram positivos o Gram negativos, encontrándose un total de 4 (66.7%) cepas de bacilos Gram negativos de los cuales el 50% pertenecen al ojo de agua, y el 50% restante a las muestras de la cascada, y un total de 2(33.3%) cepas de cocos Gram positivos, ambos provenientes de la cascada, no se encontraron cepas de Gram positivos en las muestras tomadas en el ojo de agua. (Tabla 7-3).

En una investigación realizada por Sandra Flores en los manantiales termales de la localidad de Mitisus y Santa Apolonia en Mérida, Venezuela, las dos de tipo hipertermal, muestran que al igual que en las aguas del balneario El Tingo existe un predominio de cepas Gram (-) con un 88.33%, a diferencia de un 16.66% de cepas Gram positivas. (FLORES, S., 2013, Pag.51).

Estudios realizados en el Balneario Puente Viego cita que las bacterias aisladas en este sitio corresponden en un porcentaje mayoritario a bacilos Gram negativos (43.2%) y en menor proporción a bacilos y cocos Gram positivos (18.9%). (DE LA ROSA, J. et.al., 2007, Pag.251).

Se ha realizado el estudio microbiológico del agua del manantial el Salvador del Balneario "El Paraíso" de Manzanera (Teruel) encontrándose un predominio de bacilos Gram positivos (64,7%), cocos Gram positivos (32.3%), y en menor proporción bacilos Gram negativos (2.9%), cabe notar que estas aguas son de tipo hipotermal, al parecer los microorganismos Gram negativos se desarrollan mejor en aguas de tipo meso e hiper termal.

**Tabla 8-3:** Pruebas bioquímicas de las cepas aisladas del balneario EL TINGO

N° de Bacteria	Código	Petrifilm	Origen	Tinción Gram	Oxidasa	Catalasa	Movilidad	OF (72h)		KLIGER			SIM			UR EA	CI TR AT O	Agar F (medio King B) (pseudomonas)	Agar manitol
							(48 h)	Con vaselina	Sin Vaselina	Glu	Lac	H2S	Indol	H2S	Motilidad				
1	C III AM	AC	Cascada	Bacilos Gram (-)	+	-	+	-	+	Alc	Alc	-					+	N/A	
2	SC (II)	EC	Ojo de Agua	Bacilos Gram (-)	+	-	-	-	-	Ac	Alc	-	-	+	+	+	-	-	N/A
3	SC (22)2	EC	Ojo de Agua	Bacilos Gram (-)	+	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	+	+	N/A	
4	SC (II) I	EC	Cascada	Bacilos Gram (-)	+	-	+	-	+								+	N/A	
5	STX(I)	STX	Cascada	Cocos Gram (+)	-	+	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	+(amarillo)
6	STX	STX	Cascada	Cocos Gram (+)	-	+	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	+(amarillo)

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

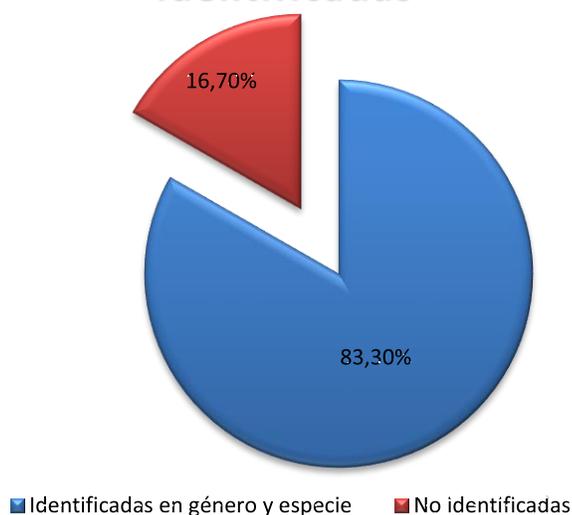
**Tabla 9-3:** Resultados de Especies bacterianas identificadas con las pruebas bioquímicas

N° de Bacteria	Código	Origen	Especie bacteriana	Porcentaje identificado (%)	%TOTAL
1	C III AM	Cascada	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83.3	100
2	SC (II) I	Cascada	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
3	SC (22)2	Ojo de Agua	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
4	STX	Cascada	<i>staphylococcus aureus</i>	16.7	
5	STX(I)	Cascada	<i>staphylococcus aureus</i>		
6	SC (II)	Ojo de Agua	No identificada		

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 7-3:** Distribución porcentual de bacterias identificadas.

### Distribución porcentual de bacterias identificadas



Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

Gracias a las pruebas bioquímicas se logró identificar género y especie de 5 cepas que constituyen el 83.3% de la totalidad y tan solo una cepa que compone el (16.7%) no fue identificada, a la que posteriormente se le realizó la identificación mediante el sistema de Microgen. (Tabla 9-3).

En estudios realizados por Sandra Flores se evidencia también que las pruebas bioquímicas son de gran utilidad para caracterizar cepas aisladas, pero siempre es necesario pruebas complementarias para

asegurar género y especie, en el caso de sus estudios realizados en los manantiales hipotermales de Santa Apolonia y Mitisús en Merida Venezuela utiliza a más de pruebas bioquímicas, pruebas comerciales API© 20 NE. (FLORES, S., 2013, pp.53-54).

**Tabla 10-3:** Resultados de las pruebas por el sistema Microgen

COD: SCII				GN A WELLS												GM B WELLS											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Reacti on	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Manitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatine	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Rafinose	Salicin	Arginine
	Result	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reacti on Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Surn of positiv e reactio ns	5			4			0			0			4			4			0			0			0		

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

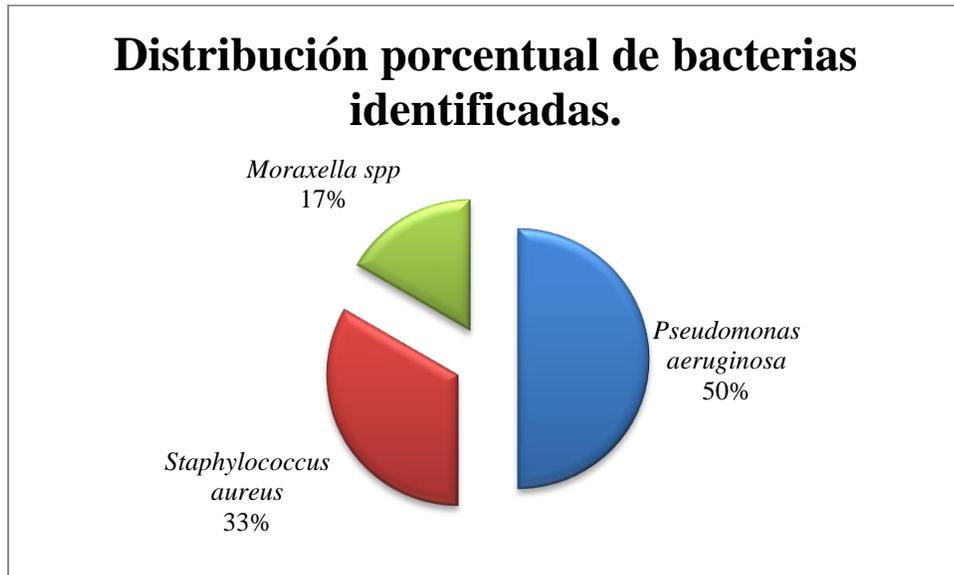
Se le realizó a la bacteria no identificada de código SCII las pruebas por el sistema de microgen, que con un 83.23 % de coincidencia sabemos que se trata de *Moraxella spp* (tabla10-3) gracias al Software Microgen Identification (MID-60) – Proporciona la identificación basándose en la probabilidad, el % de probabilidad y el parecido con un análisis de la calidad de la diferenciación. (Microgen™ GN-ID Identificación. ANEXO P.)

**Tabla 11-3:** Especies bacterianas identificadas en el agua del manantial termal EL TINGO

N° de Bacteria	Código	Origen	Especie bacteriana	%	%TOTAL
1	C III AM	Cascada	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50	100
2	SC (II) I	Cascada	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
3	SC (22)2	Ojo de Agua	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
4	STX	Cascada	<i>staphylococcus aureus</i>	33.3	
5	STX(I)	Cascada	<i>staphylococcus aureus</i>		
6	SC (II)	Ojo de Agua	<i>Moraxella spp</i>	16.7	

Realizado por: VINUEZA, Raúl, 2015

**Gráfica 8-3:** Distribución porcentual de las especies bacterianas identificadas.



**Realizado por:** VINUEZA, Raúl, 2015

Finalmente se logró identificar todas las cepas aisladas, y tenemos que el 50%, ósea 4 bacterias de las 6 aisladas pertenecen a *Pseudomonas aeruginosa*, seguido con un 33.3%(2 bacterias) de *Staphylococcus aureus*, y 1 bacteria que corresponde al 16.7% pertenece a *Moraxella spp*. (Tabla 11-3).

Estudios realizados por la Doc. Sandra Flores en aguas termales de características similares en la localidad de Merida, reportan un mayor porcentaje de bacterias del género *Burkholderia*(55%), seguido por el género *Pseudomonas*(33.33%), y finalmente *Staphylococcus*(11.11%).(FLORES, S., 2013, p..59).

Estudios realizados por Jorge De La Rosa y col en el Balneario Puente Viesgo identificaron como 17 especies bacterianas, notándose un predominio de *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas stutzeri* y *Bacillus licheniformis*, sin encontrarse indicadores fecales ni microorganismos patógenos. (DE LA ROSA, Jorge, et al, 2007, p.259).

#### *Pseudomonas aeruginosa*

Según Jean MACFADDIN *Pseudomonas aeruginosa* tiene carácter aerobios, catalasa positivo, oxidasa variable, agar MacConkey presenta crecimiento, reducción de nitratos es variable, movilidad a 37°C es variable, glucosa O/F, oxidativo., entonces con un 90% de confianza podemos decir que se detectó la presencia de esta bacteria, además que se le aplicó una prueba específica en Agar F (medio King B) exclusivo para *Pseudomonas*, que obviamente nos dio positivo. (Tabla 8-3).

Jorge De La Rosa y col citan ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en su estudio realizado en las aguas termales de Puente Viesgo. (DE LA ROSA, Jorge, et al., 2007, p.260).

Según João P. S. Cabral el género *Pseudomonas aeruginosa* tiene una extraordinaria capacidad de adaptación y se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y se puede aislar de muestras de suelo, aguas de piscinas contaminadas, plantas y animales (CABRAL, Joao, 2010).

Entonces sabemos que diariamente estamos en contacto con *Pseudomonas aeruginosa*, incluso se encuentra en bajas cantidades en los alimentos y hasta en artículos de limpieza, también se han logrado aislar *Pseudomonas aeruginosa* de heces de personas sanas, con este antecedente podemos decir que la presencia de este microorganismo en las aguas termales El Tingo puede deberse a cualquiera de estos factores pues el contacto con esta bacteria es cotidiano, y solo representa una amenaza para nuestra salud en condiciones especiales.

#### *Staphilococcus aureus*

Para *Staphilococcus aureus* tenemos un 100% de confianza que se trata de esta bacteria, pues todas las pruebas realizadas (tabla13) coincidieron, con la bibliografía de Jean MACFADDIN que manifiesta que son Cocos Gram positivos, Coagulasa variables, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, Catalasa variables; por lo común positivos, Oxidasa variables; por lo común negativos, O/F de la glucosa: F (fermentativos). (MACFADDIN Jean, 2004, p.511)

Jorge De La Rosa y col citan en un estudio realizado en el Balneario Puente Viesgo que no se han encontrado microorganismos indicadores de contaminación fecal entre estos *Staphilococcus aureus*. (DE LA ROSA, Jorge.et al, 2007, p.260).

Se puede justificar la presencia de estas bacterias ya que se encuentran en el ambiente y pudieron haber llegado al balneario a través del aire, el suelo y la lluvia. (LECLERC, H. and MOREAU, A. 2002).

#### *Moraxella spp.*

Para el género *Moraxella* tenemos con un nivel de confianza de 81.29% (ANEXO P) de que se trata de este microorganismo según las pruebas que se les realizaron por el sistema Microgen, se le realizó esto puesto que con las pruebas bioquímicas no se logró identificar el género y especie de la misma. (Tabla 8-3),

En estudios realizados por la Dra. Sandra Flores en los manantiales hipertermales de Santa Apolonia y Mitisús en Merida Venezuela y también análisis de Jorge De La Rosa en el balneario de Puente Viesgo de aguas mesotermales, en ningún caso se reporta la presencia de esta bacteria. (DE LA ROSA, J. et al. 2007; FLORES, S., 2013).

Por lo general estas especies de *Moraxella* están normalmente presentes en la orofaringe, las membranas mucosas, piel y tracto genital y se pueden propagar de persona a persona, la contaminación ambiental y la transmisión por aerosoles también son posibles formas de transmisión, y por cualquiera de estas vías pudieron haber llegado a las aguas termales de este sitio.

## CONCLUSIONES

Se logró aislar e identificar las bacterias presentes en el agua de las termas del balneario El Tingo, se aislaron 6 colonias de las cuales ahora sabemos que hay una mayor proporción de bacterias Gram negativas (66.7%), y un pequeño porcentaje de bacterias Gram positivas (33.3%).

Se determinó propiedades físico-químicas del agua del manantial termal el Tingo cuyas características se prestan para que las bacterias encontradas tengan un buen desarrollo. Además que se comprobó que se trata de un manantial termal puesto que hay una diferencia de 25°C con relación a la temperatura ambiente del sitio.

Gracias a las pruebas bioquímicas y por el sistema de identificación Microgen se logró determinar género y especie de las cepas bacterianas aisladas.

Se encontró tres tipos de bacterias, de las cuales hay un predominio de *Pseudomonas aeruginosa* (50%), seguido de *Staphylococcus aureus* (33%), y en menor proporción *Moraxella* spp (17%).

## **RECOMENDACIONES**

El balneario de agua mineromedicinal El Tingo es muy concurrido por sus propiedades terapéuticas, por lo que se recomienda al GAD Municipal de Sangolqui realizar un control microbiológico periódicamente, para así evitar posibles riesgos de causar enfermedades por la presencia de microorganismos patógenos.

Se recomienda realizar una capacitación sobre POES a los empleados del balneario, para que puedan realizar una adecuada sanitización de las instalaciones, con lo que se evitaría posibles infecciones por la presencia de microorganismos patógenos.

Sería de enorme utilidad que se creara una norma ecuatoriana para aguas termales estableciéndose parámetros de calidad sanitaria, ya que estas por sus propiedades medicinales y recreativas son muy concurridas.

Con los resultados de este estudio microbiológico es necesario proponer una reflexión a los responsables del balneario en este caso en específico al municipio de la localidad, ya que la detección de estos microorganismos en el agua obliga a tomar mejoras de carácter inmediato para su eliminación y prevención para neutralizar las causas de tal contaminación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ECUADOR.** Instituto Ecuatoriano de Normalización. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:2013. Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras. Quito-Ecuador. 2013. pp. 1-3.
2. **ECUADOR.** Instituto Ecuatoriano de Normalización. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176:2013. Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo. Quito-Ecuador. 2013. pp. 1-3.
3. **SANTANA, J., RODRÍGUEZ, N., VELIZ, T.** *Análisis y caracterización de Fangos termales para evaluar sus uso en el posible tratamiento de salud en humanos.* InSTEC. AICA Laboratorio farmacéutico, Contribución a la Educación y la protección Ambiental. Vol. 5. 2004. [Consulta: 29-09-2014.]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-bal/fangos100a.pdf>
4. **RODRÍGUEZ, J., RUBIO, C., CAMPOS, J.** *Las aguas minerales, minero-medicinales y termales de la provincia de Jaén, Madrid, Instituto Geológico y Minero de España.* 2003. p. 176.
5. **ANGELES, R., et al.** *Microbiología de los manantiales mineromedicinales del Balneario Cervantes.* [en línea]. Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense.Madrid.2006. pp.285-304. . [Consulta: 29-09-2014.].Disponible en: <http://www.analesranf.com/ranf/index.php/aguas/article/viewFile/329/348#page=59>.
6. **ESPAÑA.** Serie: *Hidrología y Aguas Subterráneas.* [en línea].Nº6. ISBN: 84-7840-473-2. [Consulta: 28-09-2014.]. Disponible en: [http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=vh\\_EJvZs7kMC&oi=fnd&pg=PA7&dq=análisis+microbiológico+de+aguas+termales+&ots=b65gEvSCXz&sig=1NmbDBFGnjCpLTget8pJMo7s6zA&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=vh_EJvZs7kMC&oi=fnd&pg=PA7&dq=análisis+microbiológico+de+aguas+termales+&ots=b65gEvSCXz&sig=1NmbDBFGnjCpLTget8pJMo7s6zA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
7. **CASTILLO, J, GONZALEZ, P.** *Aguas naturales, minerales y mineromedicinales.* [en línea].pp.2-6. [Consulta: 28-09-2014.]. Disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/mednat/docs/aguas.pdf>.

8. **FAGUNDO, J., GONZÁLEZ, M., SUÁREZ, L.** *Fundamentos del termalismo con énfasis en la Hidroquímica*, Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional Ministerio de Salud Pública de Cuba. 2000. pp.1-4. [en línea]. [consulta: 2014-10-28] Disponible en:  
[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/curso\\_de\\_termalismo.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/curso_de_termalismo.pdf).
9. **FAGUNDO, A., CIMA, A., GONZALEZ, P.** *Revisión Bibliográfica sobre Clasificación de LAS AGUAS Minerales y Mineromedicinales*, Centro Nacional de Termalismo “Victor Santamarina”, pp.1-21- [En línea]. [Consulta: 2014-10-28] Disponible en:  
[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-bal/clasificacion\\_aguas\\_minerales.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-bal/clasificacion_aguas_minerales.pdf).
10. **DE LA ROSA, C.; MOSSO, M.; PRIETO, M.** *Microbiología del agua mineromedicinal del Balneario “El Paraíso” de Manzanera(Teruel)*, Departamento de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense.28040. Madrid. 2009.p.3
11. **DE LA ROSA JORGE, M., SÁNCHEZ BELTRÁN, M., RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ, C., & MOSSO ROMEO, M.** capítulo IV, *Microbiología del manantial mineromedicinal del balneario puente viesgo*. Estudios sobre el balneario de puente viesgo .Cantabria. 2013. p.251.
12. **DE LA ROSA JORGE, M., GARCÍA, C., RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ, C., & MOSSO ROMEO, M.** *Análisis microbiológico de las aguas termales del Balneario El Raposo*. Badajoz. Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía 32, Farmacia. 2013. p.11
13. **CALDERÓN, E.,** *Aguas termales calidad microbiológica*. Instituto de Ingeniería Sanitaria. Universidad de Buenos Aires, [en línea]. pp. 1-27. [consulta: 2014-10-28]. Disponible en:  
[http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/salud\\_ambiente/file/aguas\\_termales.pdf](http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/salud_ambiente/file/aguas_termales.pdf).
14. **DE LA ROSA J., MOSSO R.** *Diversidad microbiana de las aguas minerales Termiales*. Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid, 2000. [en línea] .pp.153-157. [consulta: 2014-10-28]. Disponible en:  
<http://aguas.igme.es/igme/publica/pdfart3/diversidad.pdf>, el 27 de Octubre de 2014.

15. **ANDUEZA, F.** *Microbiología del agua*. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes Mérida. Venezuela. 2014. [consulta: 2014-10-28]. Disponible en:  
[http://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/\\_XVI%20Congreso%20Farmac%3%A9utico%20Nacional%20\(PDF\)/Clase%201%20M%3%A9todos%20fisicoqu%3ADmicos%20y%20microbiol%3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20de%20agua.pdf](http://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/_XVI%20Congreso%20Farmac%3%A9utico%20Nacional%20(PDF)/Clase%201%20M%3%A9todos%20fisicoqu%3ADmicos%20y%20microbiol%3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20de%20agua.pdf).
16. **ESPAÑA.** Madrid. *Métodos oficiales de análisis fisicoquímicos para aguas potables de consumo público*. 1987. p.35. [en línea]. [consulta: 2014-10-28]. Disponible en:  
<http://cidta.usal.es/calidad/documentos/leg/05Metodos%20oficiales%20de%20análisis%20fq.pdf>.
17. **ARMIJO, F., MARAVER, F., SAN MARTÍN, J.** *Análisis de las aguas de Baños de Montemayor*. Anal Bromatol, 40(1). 1988. pp.147-153.
18. **BEL'KOVA, N. et.al.** *Biodiversity and activity of the microbial community in the Kotelnikovsky Hot Springs (Lake Baikal)*. Biology Bulletin, 32(6). 2005. pp.549-555.
19. **GONZÁLEZ, D., & URBANI, F.** *Estudio hidroquímico de los manantiales: cumbotico y cumbote, colonia tovar, estado aragua, venezuela*. Ecotrópicos, 13(2). 2000. pp.81-89.
20. **ROMEO, M. A. M., & DE LA ROSA, M. D. C.** *Historia de las aguas mineromedicinales en España*. Observatorio medioambiental. 2004. pp. 117-137.
21. **BURROWS, W.et al.** *Tratado de microbiología. Interamericana*. 1974. pp. 915-920.
22. **BROOKS, G. F., BUTEL, J. S., & MORSE, S. A.** *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. El Manual Moderno*. 2005.
23. **PULIDO, M.et al.** *Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua*. Nova, Vol. 3 Núm. 4. 2005.
24. **PORTERO, F.** *Protocolos de Microbiología Clínica, Rutinas de Identificación Bacteriana*. Espoch, Bioquímica y Farmacia. 2011. pp. 20-40
25. **ALVAREZ, M., BOQUET E.** *Manual de Técnicas de Microbiología Clínica*. Graficard Cia. Ltda, Quito. 1995. pp. 21-26, 28-38.

26. **PRICAJAN, A.** *La geología en la investigación y valoración de las aguas minerales y termales.* Geotermia. 6 al 10(7). 1982. p. 12-20.
27. **GARCIA, V.** *Introducción a la microbiología* (2da ed.) editorial EUNED (editorial universidad estatal a distancia). 2000.
28. **MACFADDIN J.** *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*, tercera edición, editorial médica panamericana, Buenos Aires-Argentina. 2004. Pag.511.
29. **SØGAARD, M.; NØRGAARD, M.; SCHØNHEYDER, H.** *First notification of positive blood cultures: high accuracy of the Gram stain report*», artículo en la revista Journal of Clinical Microbiology. 45. 2007. p. 1113.
30. RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS. GUÍA DE INTERPRETACIÓN PETRIFILM<sup>™</sup>. **Microbiology Products Laboratoires 3M.** 2009. [Consulta: 2014-10-20]. Disponible en:  
[http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm%20guias.pdf)
31. RECuento DE AEROBIOS. GUÍA DE INTERPRETACIÓN PETRIFILM<sup>™</sup>. **Microbiology Products Laboratoires 3M.** 2009. [Consulta: 2014-10-20]. Disponible en:  
[http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm%20guias.pdf)
32. RECuento DE E. COLI/COLIFORMES. GUÍA DE INTERPRETACION. GUÍA DE INTERPRETACIÓN PETRIFILM<sup>™</sup>. **Microbiology Products Laboratoires 3M.** 2009. [Consulta: 2014-10-20]. Disponible en:  
[http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm%20guias.pdf)

## ANEXOS

**Anexo A:** Vista panorámica del balneario municipal El Tingo.



**Anexo B:** Piscina principal del balneario municipal El Tingo.



**Anexo C:** Ojo de agua (sitio de muestreo 1)



**Anexo D:** Cascada (sitio de muestreo 2)



**Anexo E:** Medición de parámetros físico-químicos in situ (ojo de agua)



**Anexo F:** Medición de parámetros físico-químicos in situ (cascada)



**Anexo G:** Toma de muestras ( ojo de agua)



**Anexo H:** Toma de muestras ( cascada)

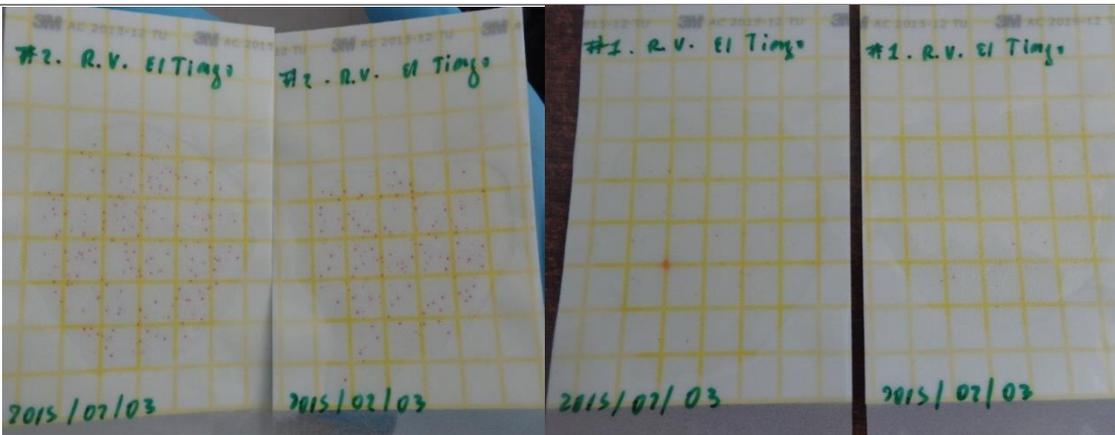


**Anexo I:** Siembra en placas Petrifilm



**Anexo J:** Resultados a las 72horas( #1=ojo de agua; #2= cascada)

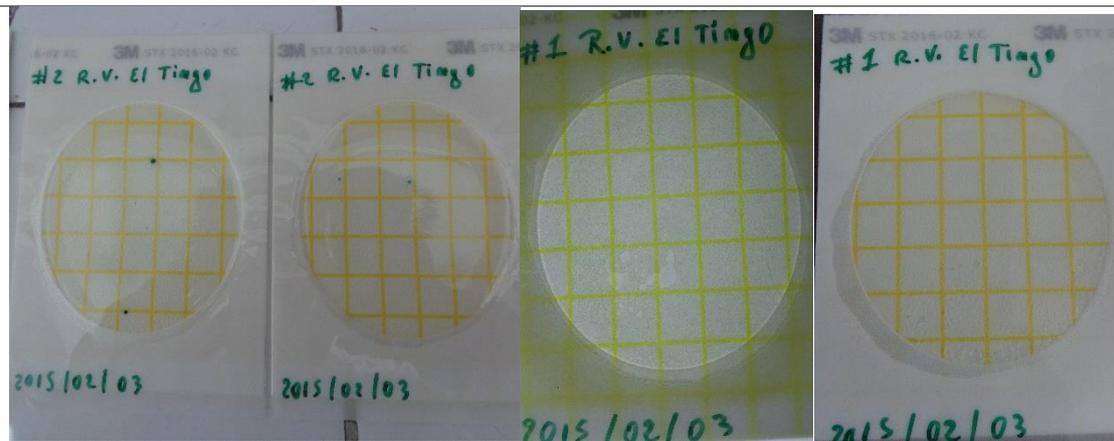
Aerobios mesófilos



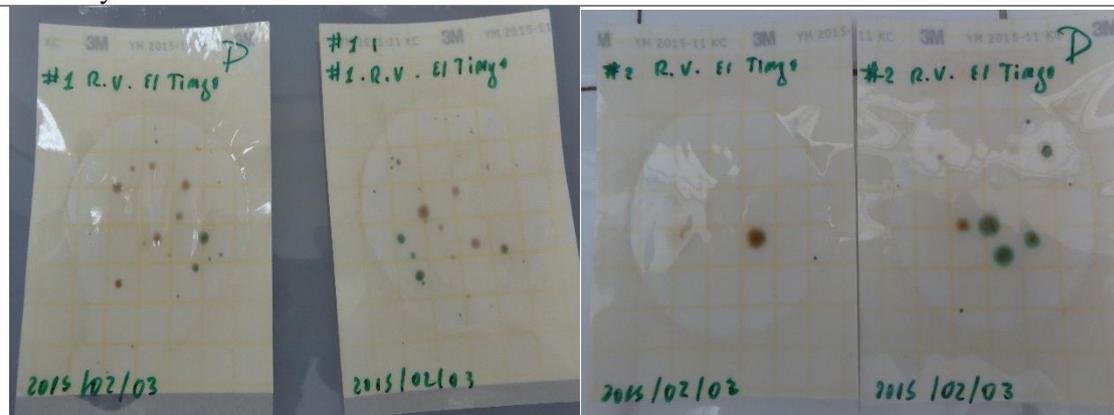
*E. coli*, coliformes



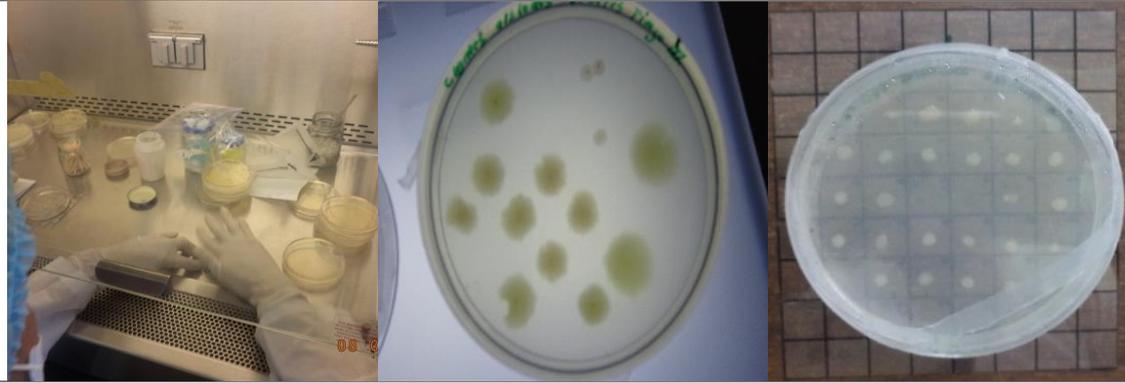
STX



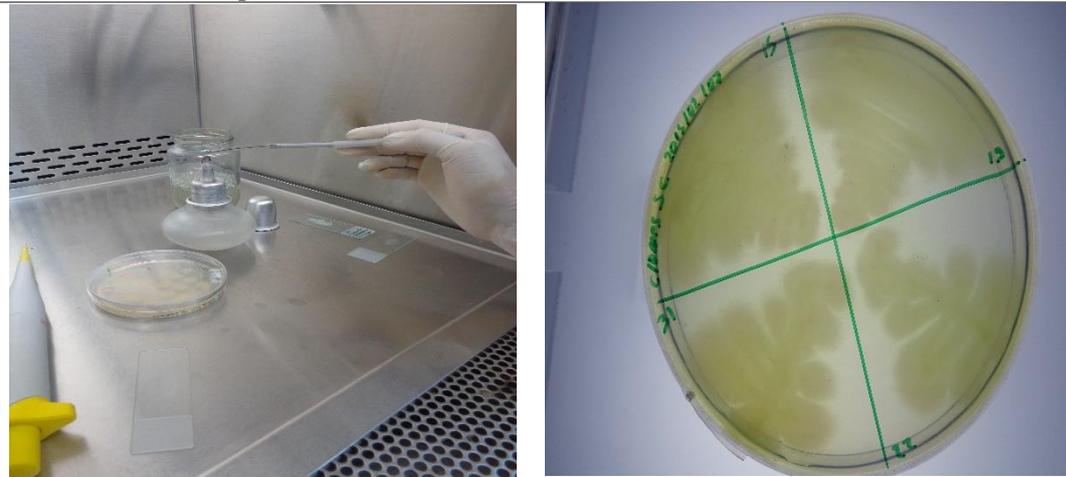
Mohos y levaduras



**Anexo K: Repiques**



**Anexo L: Siembra por estria**

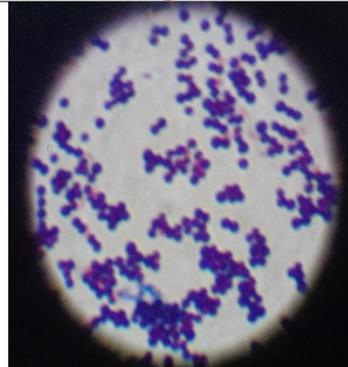


**Anexo M: Análisis morfológico y de coloración**

Observación al microscopio

Cocos Gram positivos

Bacilos Gram negativos



### Anexo N: Pruebas bioquímicas

Prueba Bioquímica	SC22 (2)	SCII
KLIGER		
SIM		
UREA		
CITRATO		

### Anexo O: Pruebas por el sistema Microgen



**Microgen ID**

**Microgen GNA + B Oxidase Positive**

**Specimen Details**

Lab Ref.: SC11

Name: RAUL VINUEZA

Specimen Type:

Source (ward/location):

Date:

**Results Entry**

Octal Code: 540040000

+ OXI Oxidase	- MOT Motility	+ NIT Nitrate Reduction
+ LYS Lysine Decarboxylase	- ORN Ornithine Decarboxyl	- H2S H2S Production
- GLU Acid from Glucose	- MAN Acid from Mannitol	- XYL Acid from Xylose
- ONP ONPG	- IND Indole	- UR Urea Hydrolysis
+ VP Voges Proskauer	- CIT Citrate Utilization	- TDA Tryptophan Deaminase
- GEL Gelatin Liquefaction	- MAL Malonate Inhibition	- INO Acid from Inositol
- SOR Acid from Sorbitol	- RHA Acid from Rhamnose	- SUC Acid from Sucrose
- LAC Acid from Lactose	- ARA Acid from Arabinose	- ADO Acid from Adonitol
- RAF Acid from Raffinose	- SAL Acid from Salicin	- ARG Arginine Dihydrolase

**Identification Analysis**

	<i>Moraxella spp.</i>	<i>V.alginolyticus</i>	<i>A.faecalis type 11</i>	<i>V.damsela/ P.damsela</i>	<i>A.xylooxidans</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/17,365	1/101,313	1/475,305	1/962,550	1/5,772,025
Percent Probability	81.29%	13.93%	2.97%	1.47%	0.24%
Likelihood	0.1%	0.03%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	No	Yes	Yes
<b>Tests against</b>					
Test 1	VP (0.1%)	MOT (99.9%)	VP (0.1%)	GLU (99.9%)	MOT (99.9%)
Test 2			MOT (91%)	ARG (95%)	VP (0.1%)
Test 3				ARA (93%)	CIT (80%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Ferment of Glucose	0.1%	99.9%	0.1%	99.9%	0.1%
Growth on SS Agar	0.1%	77%	78%	0%	98%
Growth on MacConkey	70%	99.9%	99.9%	0%	99.9%
Growth in 0% NaCl	43%	0.1%	99.9%	0.1%	99.9%
Growth at 42C	24%	27%	75%	0%	84%
Additional Comments			2	12	1
	1 Previously <i>Alcaligenes xylooxidans</i> . Microbiol Immunol (1998) 42: 429 - 438				
	2 Previously <i>A.faecalis</i> . Usually isolated from the environment				
	12 Int. J. Syst. Bacteriol. (1991) 41:529 - 534				

**Identification Comments**

Acceptable Identification of *Moraxella spp.*

The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices

ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.