



Evaluación prospectiva de la actividad proteolítica en bacterias provenientes de los pantanos artificiales de aguas residuales, Shushufindi- Ecuador

Prospective evaluation of proteolytic activity in bacteria from artificial wastewater swamps, Shushufindi- Ecuador

Avaliação prospectiva da atividade proteolítica em bactérias de pântanos artificiais, Shushufindi- Equador

Liliana Carlota Soria-Noroña¹
liliana_soria_1994@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0761-4876>

Correspondencia: liliana_soria_1994@hotmail.com

Ciencias técnicas y aplicadas
Artículo de investigación

*Recibido: 20 de febrero de 2020 *Aceptado: 11 de mayo de 2020 * Publicado: 31 de mayo de 2020

I. Máster Universitario en Hidrología y Gestión de los Recursos Hídricos, Ingeniera en Biotecnología Ambiental, Instituto Superior Pedagógico Intercultural Bilingüe Martha Bucaram De Roldos, Ecuador.

Resumen

En este trabajo de fin de máster se tuvo como objetivo evaluar prospectivamente la actividad proteolítica en las bacterias de los pantanos artificiales de aguas residuales, Shushifindi, para esto se tomaron tres muestras representativas de cada una de las ocho lagunas artificiales escogidas. Se analizó física y químicamente de forma ex situ de las muestras tomadas de la última laguna artificial correspondiente a aquella donde se considera terminado el tratamiento. Se procedió a sembrar en placas con medio PCA, realizando un recuento cada 24 horas de las colonias bacterianas inoculadas a 30°C. Se seleccionaron 48 colonias bacterianas y se repicaron hasta su estabilización (3 veces). Se realizaron pruebas enzimáticas de degradación en medios con PCA más leche descremada y se identificaron aquellos aislados bacterianos capaces de degradar caseína. Se procedió a determinar el índice de potencia enzimática proteolítica de los aislados bacterianos identificados anteriormente. Se realizó tinción Gram en 51 clones bacterianos y se aislaron ocho clones representativos de las lagunas artificiales muestreadas. Se emplearon pruebas bioquímicas para la identificación de los ocho clones bacterianos aislados, los mismos que corresponden a los siguientes géneros: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Gardnerella*, *Plesiomonas*, *Kurthia* y *Citrobacter* y *Moraxella*. Como recomendación en la toma de muestras se debe procurar no afectar el sitio o zona de muestreo con el fin de que cada muestra sea representativa del lugar.

Palabras claves: Biotecnología; proteolítica; pantanos artificiales; Shushufindi.

Abstract

The objective of this master's thesis was to prospectively evaluate the proteolytic activity in the bacteria of the artificial wastewater swamps, Shushifindi, for this, three representative samples were taken from each of the eight chosen artificial lagoons. and chemically ex situ from the samples taken from the last artificial lagoon corresponding to the one where the treatment is considered finished. Plating was carried out on plates with PCA medium, making a count every 24 hours of the bacterial colonies inoculated at 30°C. 48 bacterial colonies were selected and planted until stabilized (3 times). Enzymatic degradation tests were performed in media with PCA plus skim milk and those bacterial isolates capable of degrading casein were identified. The proteolytic enzyme potency index of the previously identified bacterial isolates was determined.

Gram staining was performed in 51 bacterial clones and eight representative clones were isolated from the sampled artificial lagoons. Biochemical tests were used to identify the eight isolated bacterial clones, which correspond to the following genera: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Gardnerella*, *Plesiomonas* *Kurthia* and *Citrobacter* and *Moraxella*. As a recommendation when taking samples, care should be taken not to affect the sampling site or area so that each sample is representative of the place.

Keywords: Biotechnology; proteolytic; artificial swamps; Shushufindi.

Resumo

O objetivo desta dissertação de mestrado foi avaliar prospectivamente a atividade proteolítica nas bactérias dos pântanos artificiais, Shushifindi. Para isso, foram coletadas três amostras representativas de cada uma das oito lagoas artificiais escolhidas. e quimicamente ex situ das amostras colhidas na última lagoa artificial correspondente àquela em que o tratamento é considerado finalizado. O revestimento foi realizado em placas com meio PCA, contando a cada 24 horas as colônias bacterianas inoculadas a 30°C. 48 colônias bacterianas foram selecionadas e plantadas até estabilizar (3 vezes). Testes de degradação enzimática foram realizados em meio com PCA mais leite desnatado e os isolados bacterianos capazes de degradar a caseína foram identificados. Foi determinado o índice de potência da enzima proteolítica dos isolados bacterianos identificados anteriormente, a coloração de Gram foi realizada em 51 clones bacterianos e oito clones representativos foram isolados das lagoas artificiais amostradas. Testes bioquímicos foram utilizados para identificar os oito clones bacterianos isolados, que correspondem aos seguintes gêneros: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Gardnerella*, *Plesiomonas* *Kurthia* e *Citrobacter* e *Moraxella*. Como recomendação ao colher amostras, deve-se tomar cuidado para não afetar o local ou a área de amostragem, de modo que cada amostra seja representativa do local.

Palavras-chave: Biotecnologia; proteolítico; pântanos artificiais; Shushufindi.

Introducción

En nuestro mundo existe una extensa diversidad de microorganismos, de los cuales sólo se conoce el 3% y pocos se han estudiado con profundidad (Montaño et al., 2010: p. 16). Las

bacterias fueron las primeras formas de vida en colonizar la Tierra, adaptándose hasta obtener una capacidad para usar distintas fuentes de energía.

El agua es uno de los recursos que constituye la base para el desarrollo de la vida y el adelanto de los pueblos. Sin embargo uno de los graves problemas que aquejan al ambiente son las descargas de aguas residuales, en las corrientes y cuerpos superficiales de agua lo cual conduce al deterioro de la calidad de dichas aguas, hasta un grado tal que las puede inutilizar como fuente de abastecimiento para la comunidad, además de alterar y perturbar el equilibrio ecológico del ecosistema. (Néstor, et al, 2011).

En las aguas residuales se depositan contaminantes como lácteos, proteínas, grasas, aceites, detergentes, pesticidas, entre otros. Muchas veces estas aguas residuales no son debidamente tratadas antes de ser vertidas a las diferentes cuencas hidrográficas y al ambiente en general, produciendo alteraciones que pueden provocar resistencia a estos contaminantes en los microorganismos presentes en los diferentes ecosistemas.

Los pantanos artificiales o humedales artificiales se pueden definir como sistemas de depuración en los que se reproducen los procesos de eliminación de contaminantes, que tienen lugar en las zonas húmedas naturales. La depuración de las aguas residuales tiene lugar al hacerlas circular a través de estas zonas húmedas artificiales, en las que tienen lugar procesos físicos, químicos y biológicos, que van reduciendo los contaminantes presentes, pero al presentarse un descuido de estos lugares, su eficiencia y remoción de los mismos decae más de un 60 %. (Pérez et al, 2007)

Por cada mililitro de residuo orgánico mezclado con en las aguas residuales se albergan alrededor de 50. 000 millones de bacterias entre estas están las proteolíticas que tienen la capacidad de degradar proteínas mediante enzimas específicas (Arias I.2011) Estudios bio-tecnológicos que aprovechen este tipo de residuos hacen que se encuentren nuevas alternativas como aporte a la solución de problemas ambientales del que es objeto de este trabajo de titulación.

Por eso es importante publicar y dar a conocer los patrones, tendencias y nuevos estudios de actividad proteolítica en las bacterias existentes en los diferentes ambientes del país y el mundo para aplicar y ganar ventaja sobre ellas (Cornejo Juárez, 2007). Se plantea realizar un estudio bio-prospectivo para determinar la presencia de microorganismos que se encuentra en los pantanos artificiales de Shushufindi para dar respuesta y aportar a la comunidad información relevante:

¿Pueden las bacterias de los pantanos artificiales para tratamiento de aguas residuales tener actividades proteolíticas?

Las bacterias y otros microorganismos pueden crecer en los ambientes diversos. Su capacidad y eficiencia metabólica permitieron que ellos colonizaran la superficie terrestre, el aire, el agua y prácticamente todas las regiones geográficas del planeta.

Siendo el Ecuador una de las 17 regiones de mayor mega diversidad en el mundo, es una fuente de nuevos e innumerables microorganismos y sustancias con aplicaciones médicas, alimentarias e industriales, con un enorme potencial de generación de riqueza y bienestar. Por lo que la búsqueda de actividad lipolítica y proteolítica en aguas termales es de interés científico en nuestro país, ya que la biodiversidad, en cuanto a bacterias y sus enzimas aisladas a partir de estos cuerpos de agua, es un tema no explorado.

El enfoque actual de las nuevas investigaciones, en concordancia con la evolución de los procesos productivos a nivel industrial, está en la producción y purificación de enzimas, con el fin de reducir costos y optimizar los procesos industriales, y generar nuevas tecnologías por ejemplo en el área de las bio-transformaciones aplicables a nivel industrial y bio-tecnológico.

A su vez el enfoque actual de las nuevas investigaciones, en concordancia con la evolución de los procesos productivos a nivel industrial, está en la producción y purificación de enzimas, con el fin de reducir costos y optimizar los procesos industriales, generando nuevas tecnologías por ejemplo en el área de las bio-transformaciones aplicables a nivel industrial y bio-tecnológico. (López y Soria, 2018, p: 2).

La estrategia ha sido continuar la búsqueda de nuevos microorganismos que presenten actividades enzimáticas interesantes, como las proteolíticas, y que estas mismas enzimas mediante su purificación ayuden a tratamientos de aguas residuales con diferentes contaminantes. Las enzimas proteolíticas o proteasas catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas, estas enzimas rompen un mismo tipo de enlace, el enlace amida o peptídico. Las proteasas se han convertido en las principales enzimas industriales, y constituyen más del 65% del mercado mundial de enzimas. Estas enzimas son ampliamente empleadas en la industria alimenticia, farmacéutica, textil, del cuero y para tratamiento de aguas residuales (Haki & Rakshit, 2003 citado en Rubiano, 2006: pp. 25-26).

Cabe destacar que en la actualidad también se está usando enzimas purificadas para tratamiento de aguas residuales y la descomposición de sus contaminantes, como parte de los tratamientos biológicos que estas reciben. (Durán, 2010 citado en Pazmiño Flores, 2016: pp. 9-11).

Una de las características importantes que presentan los lagos y lagunas contaminados es la elevación del pH del agua (Aguilar-Ibarra, 2010) Debido a esto, se plantea el estudio de microorganismos provenientes de los pantanos artificiales de Shushufindi buscando actividad proteolítica cuyas enzimas son de gran valor industrial, al presentar ventajas asociadas a su mayor estabilidad por ejemplo, pH extremos y agentes desnaturalizantes, lo que permitiría una mayor eficiencia en los procesos industriales.

Las proteasas presentan un gran potencial de aplicación bio-tecnológica en la industria y como una alternativa al tratamiento de aguas residuales.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar prospectivamente la actividad proteolítica en las bacterias de los pantanos artificiales de aguas residuales, Shushifindi.

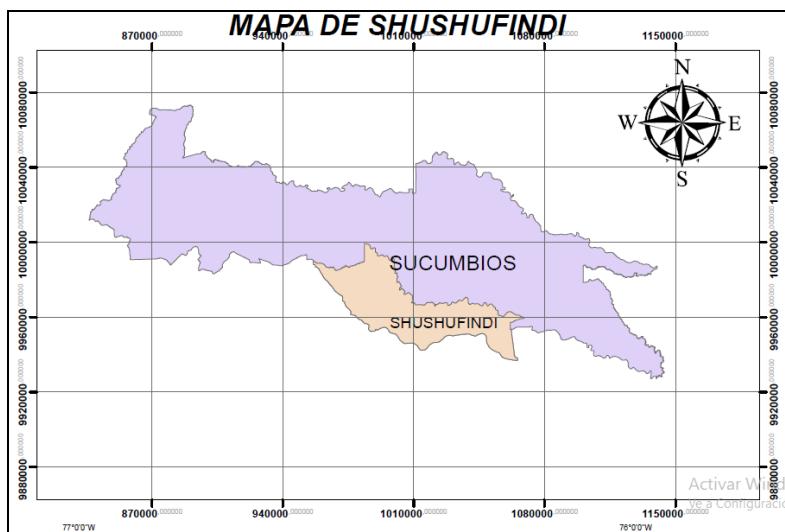
Como objetivos secundarios se plantean:

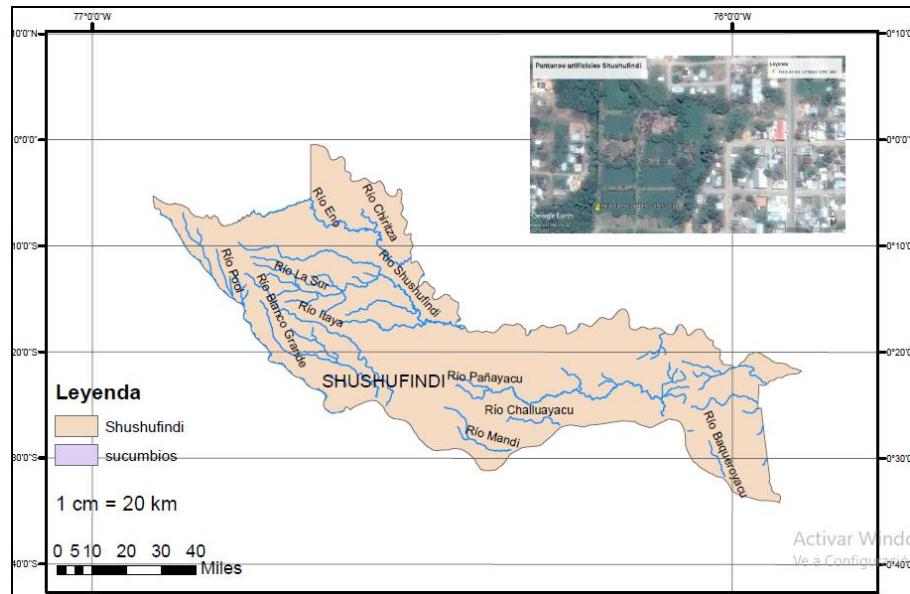
- Caracterizar físico y químicamente el agua de los pantanos artificiales.
- Aislara las colonias bacterianas de las aguas provenientes de los pantanos artificiales.
- Realizar pruebas de actividad proteolítica e identificar las colonias bacterianas mediante pruebas bioquímicas.

Metodología

Lugar de muestreo.

Pantanos Artificiales de Shushufindi





El sitio de colecta de las aguas residuales se encuentra ubicado en la parroquia de San Francisco perteneciente a Shushufindi, provincia Sucumbíos. (GAD Sucumbíos, 2018).

Las aguas residuales fueron tomadas de los pantanos artificiales que sirven como tratamiento biológico de las mismas, se ubican a una latitud de $0^{\circ}10'53.88''S$ y una longitud de $76^{\circ}38'54.29''O$. Brinda solución a aproximadamente 400 usuarios, entre los habitantes del centro poblado y dos campamentos ubicados en este sector. Donde anteriormente contaban con un sistema de biodigestores nada funcional, por lo que cada morador trataba las aguas servidas de forma individual con acequias en sus terrenos, sin embargo, sobrepasada su capacidad, generaban problemas de insalubridad en el lugar. (GAD Sucumbíos, 2018).

El sistema de tratamiento de aguas residuales cuenta con 8 lagunas artificiales donde se decidió tomar 3 muestras por cada laguna, para dar seguimiento al proceso biológico.

La zona correspondiente al estudio (figura 1 y 2).

Caracterización física de las muestras de agua

La Caracterización física de las muestras de agua se realizó in situ y se analizaron los siguientes parámetros:

Tabla 1. Parámetros evaluados

Parámetros	Unidad
T	°C
pH	
Conductividad eléctrica	us/cm
Sólidos Totales Disueltos	mg/l
Turbiedad	NTU
Hierro	mg/l
Aluminio	mg/l
Manganeso	mg/l
Sulfatos	mg/l
Cianuro	mg/l

Fuente: elaboración propia

Preparación del medio de cultivo utilizado

- Medio leche descremada (LD): en un matraz Erlenmeyer se disolvieron 20g/L de leche descremada en $\frac{1}{4}$ del volumen total a preparar, se esterilizó a 121°C. En otro matraz se preparó 16g/L de agar PCA en los $\frac{3}{4}$ de volumen restante, se calentó hasta ebullición durante un minuto y se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. En condiciones asépticas se mezcló la leche descremada con el agar PCA y se vació en las cajas de Petri estériles (Ramírez y Luna., 1996).

Determinación de la actividad proteolítica

Inoculación de las cepas bacterianas

Se inocularon las respectivas cepas por cada laguna artificial mediante la técnica de sembrado por picadura en placas Petri en el medio leche descremada (LD) a 30°C.

Medición del índice de potencia de actividad enzimática

Se identificó aquellos clones bacterianos que presentaron halos de hidrólisis en el medio utilizado (LD).

Se realizaron 3 réplicas con los clones identificados por cada laguna artificial, que presentaron crecimiento bacteriano, se procedió a incubar a una temperatura de 30°C. A las 24 horas de crecimiento, se registró el halo de hidrólisis.

Aislamiento por agotamiento de las bacterias.

Se seleccionó un clon bacteriano por cada laguna artificial. Como criterios para la selección de cada clon se tuvo en consideración su color y la presencia de un mayor halo de hidrólisis proteolítico.

Caracterización microscópica y macroscópica de los aislados bacterianos

Microscópica

Se realizó una Tinción Gram de 51 clones bacterianos, los cuales mostraron un halo de hidrólisis y de 10 clones bacterianos que no mostraron halo de hidrólisis. Se procedió con la observación al microscopio con el fin de identificar forma y la clase bacteriana, Gram+ o Gram- (Tortora, Funke & Case, 200: pp. 55-74).

Macroscópica

En la identificación macroscópica se tomó en consideración color y tamaño, de los 8 clones bacterianos aislados por agotamiento (Tortora, Funke & Case, 200: pp. 55-74).

Pruebas bioquímicas.

A cada clon bacteriano aislado, se le realizaron cinco pruebas bioquímicas las cuales fueron:

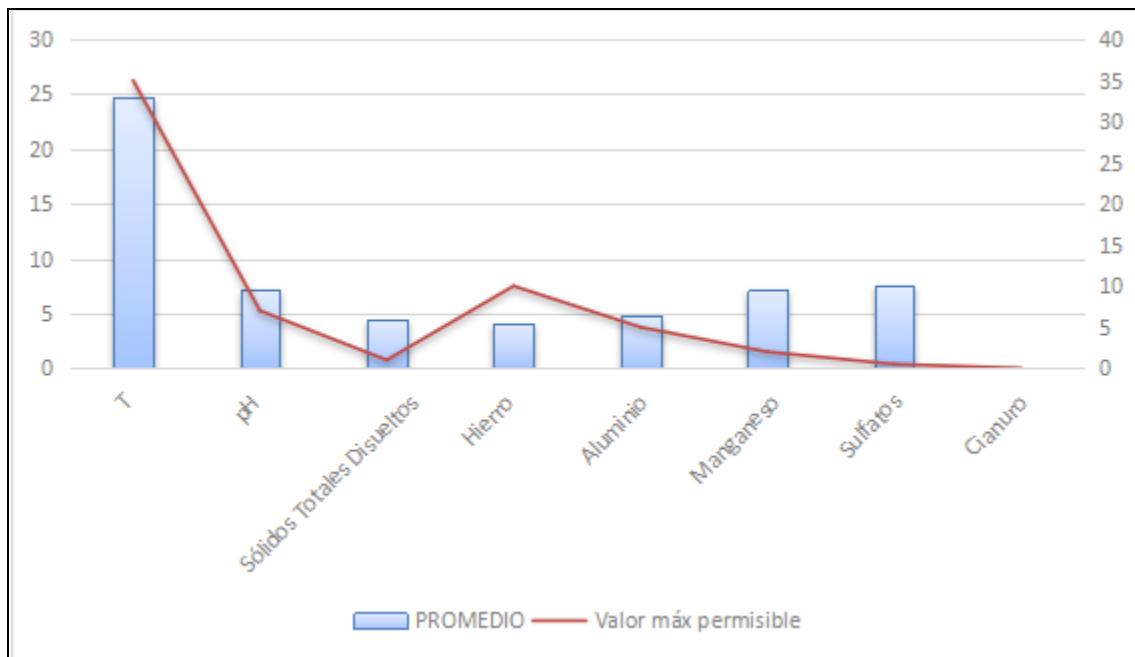
- Catalasa
- Medio SIM
- Prueba de la urea
- Medio con manitol salado
- Medio TSI

Resultados y Discusión

Caracterización física de las muestras de agua

A continuación, se muestran los resultados:

Gráfico 1: Comparación del promedio de los parámetros físicos y químicos de las muestras tomadas con respecto a la normativa vigente



Fuente: Elaboración propia

Representa una comparación del promedio obtenido en los diferentes parámetros tanto físicos como químicos de la última laguna artificial con el fin de dar tratamiento de aguas residuales con respecto a la norma técnica para el control de descargas líquidas, donde se indica que los parámetros como el pH, sólidos totales disueltos, aluminio, manganeso y sulfatos se encuentran por encima del valor máximo permisible para descargas, y que único parámetro que cumple con la norma es el hierro encontrándose cercano al valor máximo.

Los valores a considerar con mayor preocupación son los correspondientes a sulfatos y manganeso, los mismos que respecto a la norma técnica para el control de descargas líquidas, son los más elevados, lo que no sucede con el cianuro o el hierro cumplen con los límites máximos permisibles.

Al verter el agua con estas condiciones físicas y químicas directamente a afluente, indica que se está produciendo una contaminación de las mismas. Estos resultados también se evidencian en el estudio para el diseño de un sistema de tratamiento de aguas residuales en la parroquia Sibambe, realizado por (Berrones Deysi, 2013), por lo que en este estudio se intenta implementar un sistema de tratamientos a las aguas, dándonos a pensar que en las lagunas artificiales el tratamiento que se da, está actuando de forma deficiente, no cumpliendo las necesidades de la ciudad donde se encuentra. Recuento de las colonias bacterianas.

Recuento de las colonias bacterianas

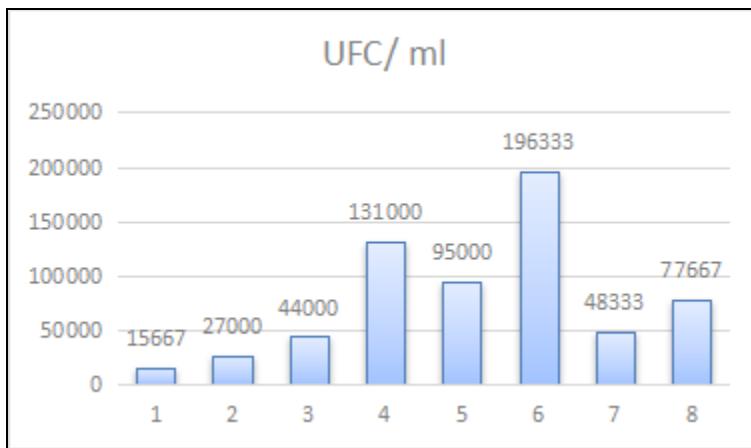


Gráfico 2 Unidades formadoras de colonia por mililitro vs laguna artificial muestreada
Fuente: Elaboración propia

En promedio de las tres muestras tomadas por cada laguna artificial el mayor recuento bacteriano a las 72 horas corresponde a 196333 UFC/mL de la laguna 6 y el menor recuento bacteriano es de 15667 UFC/mL de la laguna 1. Los resultados presentados puede deberse a contaminación externa debido a que algunas lagunas se encontraban rebozando.

Pruebas de degradación de caseína con las bacterias de las lagunas artificiales Shushufindi

Tabla 2. Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 1

Aislado	Promedio IP
1	2,8
2	3,2
3	3,1
4	2,7
5	1,0
6	1,4
7	1,0
8	1,1
9	2,9
10	1,4
11	3,0
12	2,0
13	2,5
14	2,3

Fuente: elaboración propia

Tabla 3 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 2

Aislado	Promedio IP
15	2,6
16	2,6
17	2,4
18	2,7
19	2,8
20	2,5
21	1,3
22	1,2
23	1,0
24	2,8
25	1,0
26	2,6
27	2,4
28	1,7
29	2,0

Fuente: elaboración propia

Tabla 4 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 3

Aislado	Promedio IP
30	3,2
31	1,7
32	1,9
33	1,9
34	2,1
35	1,0
36	2,1
37	3,0
38	1,2
39	2,3
40	2,3

Fuente: elaboración propia

Tabla 5 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 4

Aislado	Promedio IP
41	1,7
42	1,8
43	1,4
44	1,0
45	2,9
46	2,6
47	2,9
48	3,0
49	2,0
50	1,4
51	2,7
52	2,6
53	2,6
54	2,7
55	2,8

Fuente: elaboración propia

Tabla 6 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 5

Aislado	Promedio IP
56	2,4
57	3,0
58	2,8
59	3,1
60	2,6
61	2,6
62	2,2
63	2,2
64	2,5
65	2,2
66	2,0
67	2,6
68	2,3
69	2,4
70	2,7

Fuente: elaboración propia

Tabla 7 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 6

Aislado	Promedio IP
71	1,7
72	1,6
73	3,9
74	1,0
75	2,4
76	3,0
77	2,9
78	1,0
79	2,6
80	2,5
81	2,5
82	2,3

Fuente: elaboración propia

Tabla 8 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 7

Aislado	Promedio IP
83	1,2
84	3,0
85	1,6
86	2,5
87	3,3
88	3,2
89	2,3
90	2,3
91	1,4
92	2,3
93	2,9
94	2,6
95	2,8
96	1,4

Fuente: elaboración propia

Tabla 9 Promedio de la determinación del índice de potencia de actividad proteolítica (IPP) mostrado por los aislados bacterianos en la laguna artificial 8

Aislado	Promedio IP
98	1,5
99	1,9
100	1,5
101	2,3
102	1,8
103	1,7
104	1,5
105	1,0
106	1,5
107	1,7
108	1,8
109	1,6
110	1,7
111	2,6
112	1,5

Fuente: elaboración propia

El mayor índice de potencia registrado en la fuente 1 pertenece al aislado bacteriano 2 con un valor de 3.2, a su vez en la laguna artificial 2 el aislado bacteriano 19 exhibe un valor de IP máximo de 2.8, en la laguna 3 el aislado con el máximo IP es el 30 con un valor de 3.2, el aislado 48 de la laguna 4 tiene el valor de IP mayor de 3.0, en la laguna 5 el mayor IP fue de 3.1 correspondiente al aislado bacteriano 59, el 73 perteneciente a la laguna 6 con un IP de 3.9, en la laguna 7 el mayor IP fue de 3.3 presentado por el aislado bacteriano 87 y por último, en la laguna 8 el mayor IP observado es de 2.6 registrado en el aislado bacteriano 111.

Comparando la actividad proteolítica en las diferentes lagunas artificiales se concluye que el mayor IP registrado pertenece al aislado bacteriano 73 de la fuente 6 ya que posee un valor de IP de 3.9.

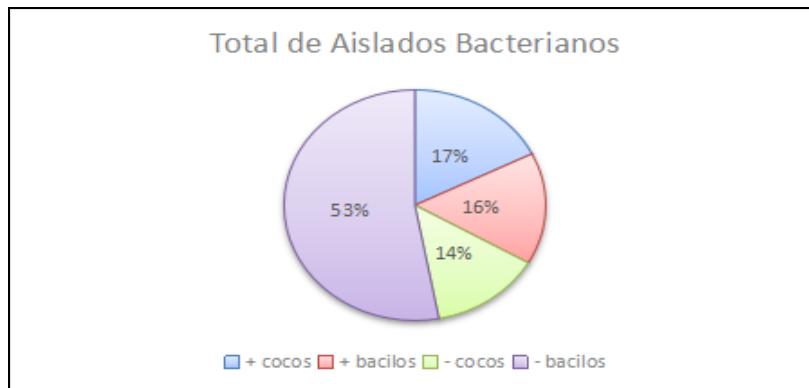
Pascual Domínguez (2014: p. 48), obtiene un IP de 1,9 a las 48 horas de crecimiento y 32°C para la cepa *Bacillus licheniformis*, este valor es menor a los reportados en este trabajo de investigación para las evaluaciones con el medio leche descremada a 24 horas y 30°C, ya que el mayor índice de potencia obtenido fue de 3,9 del aislado bacteriano 73, perteneciente a la laguna 6, siendo este valor el doble del reportado por Pascual Domínguez.

Mientras que en un estudio de la actividad proteolítica desarrollado por **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** obtienen un IP proteolítico de 3.86 a 35°C, en la cepa de *Plesiomonas* resultado que es similar al presentado en este trabajo investigativo.

Evaluación microscópica de los aislados bacterianos

Evaluación microscópica de los aislados bacterianos

Gráfico 3 Porcentaje de aislados bacterianos según su forma y diferenciación entre Gram + y Gram -



Fuente: Elaboración propia

La evaluación física de las fuentes termales de los Ilinizas mostró una temperatura y pH máximo de 30,3°C y 6,3 respectivamente, para la fuente termal 1. La temperatura ambiente del lugar fue de 6°C, la diferencia entre la temperatura De los 51 aislados bacterianos seleccionados, el 53% fueron identificados como Bacilos Gram -, mientras que el 16% fueron Bacilos Gram +, seguido del 14% que fueron cocos Gram – y por último el 17% como cocos Gram +.

A diferencia Córdova (2010: p. 60) y (Soria y López, 2018) que reportan el 68% y 60% respectivamente fueron identificadas como Bacilos Gram -, mientras que el 12% y 16 % fueron Bacilos Gram +, seguido del 20% y 13% que fueron cocos Gram + y por último el 0% y 11% como cocos Gram - en sus estudios, siendo estos porcentajes relativos a los presentados en este trabajo investigativo

Tabla 10 Género de los clones bacterianos aislados

Clon Bacteriano Aislado	Género
2	Micrococcus
19	Staphylococcus
30	Proteus
48	Gardnerella
59	Plesiomonas
73	Kurthia
87	Citrobacter
111	Moraxella

Fuente: Elaboración propia

Sobre los ocho clones que mostraron mayor actividad enzimática proteolítica, se procedió a realizar su identificación mediante una serie de pruebas bioquímicas, las cuales permitieron una identificación presuntiva de los géneros microbianos aislados, comparándolos con la descripción estándar del Manual de *Bergey* sobre bacteriología determinativa (2000), Diagnóstico Microbiológico de *Koneman* (2008.) y demás bibliografía. Los aislamientos se identificaron hasta el nivel de género; obteniendo como resultado bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Gardnerella*, *Plesiomonas* *Kurthia* y *Citrobacter* y *Moraxella*.

Conclusiones

La evaluación física y química de las lagunas artificiales para tratamiento de aguas residuales de Shushufindi mostró una caracterización de parámetros físicos un promedio de O₂ de 415.7; T de 24, 7°C, un pH de 7.2, CE de 923.3us/cm; STD 4.4mg/l y turbiedad de 27.4 NTU; mientras que en los parámetros químicos obtuvo un promedio de hierro igual a 4.10 mg/l, aluminio 4.8 mg/l, manganeso 7.1mg/l; sulfatos 7.6mg/l y nulo en cianuros, sólo se analizó la fuente 8 debido a que en esta fuente se considera culminado el tratamiento de las aguas y posteriormente se vierten en el efluente más cercano. La mayoría de los parámetros analizados no cumplen con la normativa para fuentes de descargas a excepción de la cantidad de hierro que se encuentra próximo al límite máximo permisible.

Se aislaron 48 colonias bacterianas por laguna artifical, en total se obtuvieron un total de 384 aislados bacterianos los cuales se estabilizaron 3 veces en medio con PCA

Se realizaron pruebas de degradación de caseína a los aislados bacterianos en tratamientos con medio PCA, evaluando que la mayor parte de aislados bacterianos presentaron halos de degradación en las pruebas de caseína con una actividad enzimática muy alta, siendo en un 50% superior a 2,50

El mayor índice de potencia en actividad Proteolítica corresponde al clon 73 con un valor de 3,9 con este valor de índice se puede concluir que las bacterias provenientes de las lagunas artificiales para aguas residuales en la ciudad de Shushufindi tienen una alta actividad enzimática por lo que se debería utilizar estos aislados en los diferentes procesos industriales no alimenticios a fin de ganar mayor beneficios a menor costo.

Se aislaron géneros bacterianos correspondientes a *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Gardnerella*, *Plesiomonas Kurthia* y *Citrobacter* y *Moraxella*.

Referencias

1. Anwar, A.; & Saleemuddin, M. "Alkaline proteases: a review". Revista Bioresource technology [en línea], 1998 (Ámsterdam- Netherlands), 64 (3), pp. 175-183. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085249700182X>

2. Atlas, R. M., & Bartha, R. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 4^a ed. Madrid-España: Pearson-Addison Wesley, 2002, pp. 15-20.
3. Benavides Campaña, C. L. Análisis microbiológico de las aguas termales en la comunidad Cunuyacu ubicado en la parroquia Pastocalle perteneciente a la provincia de Cotopaxi [en línea] (Tesis)(Maestría). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador, 2017, p. 88. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en:
<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6932/1/56T00735.pdf>
4. Canganella, Francesco; Wiegel, Juergen. “Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond”. The Science of Nature- Naturwissenschaften [en línea], 2011 (Berlín- Alemania), 98(4), pp. 253-279. Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-011-0775-2>
5. Carrascal, A., Páez, A., & Burbano, M. Manual de laboratorio: microbiología de alimentos. Bogotá- Colombia: Centro editorial javeriano CEJA, 2003, pp. 5-10.
6. Carrión Espín, Mayra Alejandra. Las aguas termales y su impacto en el desarrollo turístico de la parroquia San Juan de Pastocalle del cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi [en línea] (Tesis)(Maestría). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Humanas y de la Educación. Ambato- Ecuador, 2014, p. 3. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6755/1/FCHE-TH-160.pdf>
7. Castrillón Rivera, Laura Estela; Palma Ramos, Alejandro; Macín Cabrera, Susana. “Papel de la lactoferrina en enfermedades periodontales”. Revista odontológica mexicana [en línea], 2011 (Ciudad de México- México), 15(4), pp. 231- 238. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-199X2011000400005&script=sci_arttext
8. Dinorín Téllez Girón, Jabel. Evaluación de la actividad de lipasas a partir de cultivos de microorganismos aislados de suelos y su aplicación en la transesterificación de aceites de desecho [en línea] (Tesis)(Maestría). El Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada. Tepatitlán- México, 2012, p. 93. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en:
<http://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/6935/1/TESIS%20JABEL%20DINORI%20TELLEZ%20GIRON.pdf>

9. Escajadillo, Jesús Ramón. Oídos, nariz, garganta y cirugía de cabeza y cuello. 4^a ed. Ciudad de México- México: Editorial El Manual Moderno, 2014, pp. 3.
10. Espinosa, Ivette, et al. "Caracterización bioquímica y antigénica de diferentes aislamientos de *Gardnerella vaginalis*" [en línea], 2005 (La Habana- Cuba). Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 24(2), pp. 1-8. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v24n2/ibi03205.pdf>
11. Flores Orbe, Jeniffer Alexandra; Salazar Herrera, Tania Yadira. Elaboración de una guía didáctica de la reserva ecológica los Ilinizas para el área de campismo y recreación del laboratorio de interpretación turística para la carrera de ingeniería en ecoturismo de la uacaren de la Universidad Técnica de Cotopaxi, (fase ii) [en línea] (Tesis)(Maestría). Universidad Técnica de Cotopaxi, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Latacunga- Ecuador, 2014, pp. 9-11. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2612/1/T-UTC-00148.pdf>
12. García López, Isabel, et al. Incidencia y caracterización de *Psychrobacter spp* en alimentos de origen animal [en línea] (Tesis)(Maestría). Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, 2011, p. 38. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/810/2009GARC%C3%8DA%20L%C3%93PEZ%2C%20ISABEL.pdf?sequence=1>
13. Gómez, Patricia; Cabrera, Roberto; Cravioto, Alejandro. "Haemophilus Influenzae B: Una revisión sobre los determinantes de patogenicidad y de la respuesta inmune a la infección". Revista Salud Pública de México [en línea], 1991 (Ciudad de México- México), 33(5), pp. 504-512. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/106/10633508.pdf>
14. González Bacerio, Jorge; Rodríguez Hernández, Jairo; Monte Martínez, Alberto. "Las lipasas: enzimas con potencial para el desarrollo de biocatalizadores inmovilizados por adsorción interfacial". Revista Colombiana de Biotecnología [en línea], 2010 (Bogotá - Colombia), 12(1), pp. 124-140. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15574/38075>
15. Guayllasaca, Ramos; Elizabeth, Yesenia. Estudio microbiológico de las aguas termales del Balneario Turístico Yanayacu ubicado en el Cantón La Troncal perteneciente a la provincia

- de Cañar [en línea] (Tesis)(Maestría). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 22. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4463/1/56T00570%20UDCTFC.pdf>
16. Haki, G. D., & Rakshit, S. K. "Developments in industrially important thermostable enzymes: a review". Revista Bioresource technology [en línea], 2003 (Ámsterdam-Netherlands), 89(1), pp. 17-34. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852403000336>
17. Lee, C. W., et al. "Aislamiento y caracterización de bacterias cultivables de aguas costeras tropicales". Revista Ciencias Marinas [en línea], 2009 (California- Estados Unidos), 35(2), pp. 153-167. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v35n2/v35n2a3.pdf>
18. Loza Orozco, M. E., & Jiménez Marcos, G. (2006). Incidencia de rotura prematura de membranas en gestantes con Gardnerella vaginalis diagnosticado mediante muestra de papanicolaou durante el control pre natal y efecto del tratamiento. Instituto Nacional Materno Perinatal [en línea] (Tesis)(Maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Lima- Perú, 2006, p. 15-20. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1146/1/Jimenez_mg.pdf
19. Mast Group Ltd. Plate Count Agar [en línea], 2017, Londres-Reino Unido. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU342_SPA.pdf
20. Méndez Flores, A. Aguas Termales [blog]. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/853>
21. Montaño N, Sandoval A. Camargo S, Sánchez J. "Los microorganismos: pequeños gigantes". Revista Elementos [en línea], 2010 (Ciudad de México- México), 77(1), pp. 15-23. [Consulta: 04 abril 2018]. Disponible en: <http://www.elementos.buap.mx/num77/pdf/15.pdf>
22. Naranjo Pambabay, M. Estudio microbiológico de las aguas termales Reina del Rosario de Cununyacu, parroquia Pilahuin, provincia Tungurahua. [en línea] (Tesis)(Maestría). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 55. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4508/1/56T00572%20UDCTFC.pdf>

23. Navas L, Amadío A, Fuxan I, & Zandomeni R. “ Identificación de genes codificantes de enzimas de interés industrial en una cepa de bacteria termofílica aislada de aguas termales de Salta (Argentina).”, RIA. Revista de investigaciones agropecuarias, [en línea], 2014 (Buenos Aires, Argentina), 40(1), pp. 46-53. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86430499009>
24. Oliart Ros, Manresa Presas Á. & Sánchez Otero M. “Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico.”, CienciaUAT, ., [en línea], 2016, (Victoria, México), 11(1), pp. 79-90. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-8582016000200079&script=sci_arttext#B3
25. Olivas E. Manual de Prácticas de Microbiología I y II y Parasitología., Buenos Aires-Argentina: UACJ, 2014, pp 40 -48.
26. Ollis y cols. The hydrolase. Verschueren, K. H. G. and Goldman, Ciudad de México-México, 1992, p.5.
27. Pascual Dominguez M. Aislamiento y purificación de metabolitos de (bacillus licheniformis y trichoderma harzianum) con potencial nematicida. [en línea] (Tesis)(Maestría). Universidad autónoma agraria antonio narro, Saltillo – México, 2013, p. 48, [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1538/AISLAMIENTO%20Y%20PURIFICACI%c3%93N%20DE%20METABOLITOS%20DE%20%28Bacillus%20licheniformis%20y%20Trichoderma%20harzianum%29%20CON%20POTENCIAL%20NEMATICIDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Paullier M., & Munyo A. “Patología otológica frecuente.”, Puesta al día en O.R.L. [en línea], 2013 (Montevideo, Uruguay), pp. 1-3 [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: http://www.tendenciasenmedicina.com/Imagenes/imagenes42/art_22.pdf
29. Ponce C., Armenteros A., Villoch C, Montesdeoca N, & Carreras J. “Evaluación de riesgos microbiológicos y químicos de la activación del sistema lactoperoxidasa en leche cruda.”, Unidad de Análisis y Tendencias en Salud, La Habana, [en línea], 2005, (La Habana - Cuba), p.2, [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/uats/rtv_files/2005/rtv0505.pdf
30. Puente E. Expresión y estudio de enzimas termoestables de interés biotecnológico. [en línea] (Tesis) (Doctoral). Universidad Autónoma de Madrid., Madrid- España, 2011, p 40.

[Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en:
https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/6774/39834_Ferreras_Puente_Eloy_Roberto.pdf?sequence=1

31. Pulido H, et al, Análisis y diseño de experimentos. Ciudad de México-México: McGraw-Hill, 2004, pp 16-18.
32. Ramírez N, Serrano J, & Sandoval H. “Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México”. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, [en línea], 2006, (Ciudad de México- México), p. 37. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937307.pdf>
33. Ramírez S. “Las fronteras de la vida desde la perspectiva de los extremófilos” . Inventio, la génesis de la cultura universitaria en Morelos [en línea], 2010, (Camberra - Australia) (11)., pp. 56-66. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3235770.pdf>
34. Reed C, et al. Protein adaptations in archaeal extremophiles. Archaea- México, 2013 pp. 1-14.
35. Rodríguez, & Antillón . “Aeromonas spp. y Plesiomonas shigelloides en bivalvos, cieno y aguas del Golfo de Nicoya, Costa Rica”. Revista de biología tropical. [en línea], 1989, (San José- Costa Rica), pp. 1-5, [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23618/23820>
36. Rojas Triviño . Conceptos y práctica de microbiología general. Bogotá- Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2011, pp. 26-40
37. Ruiz M. Detección y caracterización de *Campylobacter* procedentes de animales, alimentos y agua residual. [en línea] (Tesis)(Maestría) Universidad complutense de madrid. Madrid-España, 2015, p. 31, [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870199X2011000400005&script=sci_arttext
38. Sarmiento F, Peralta R, & Blamey J. “Cold and hot extremozymes: industrial relevance and current trends”. Frontiers in bioengineering and biotechnology, [en línea], 2015 (Santiago, Chile) p. 3. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2015.00148/full>
39. Schlegel G. General Microbiology. 7ed. New York- Estados Unidos: Cambridge University Press, 1993, pp. 15-20.

40. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. Introducción a la Microbiología, 2007, Buenos Aires - Argentina: Ed. Médica Panamericana.
41. Trujillo García, M. Biofilms microbianos. [en línea] (Tesis)(Doctoral). Universidad de la laguna. San Cristóbal de La Laguna – España, 2017, p. 16. [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en:
<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5023/biofilms%20microbianos.pdf?sequence=1>
42. Villamil Cajoto, et al, "Neumonía comunitaria por *Proteus mirabilis*". In Anales de Medicina Interna. [en línea], 2006, (Madrid- España), p. 47 [Consulta: 05 abril 2018]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992006000300016

References

1. Anwar, A .; & Saleemuddin, M. "Alkaline proteases: a review". Bioresource technology magazine [online], 1998 (Amsterdam-Netherlands), 64 (3), pp. 175-183. [Consultation: 04 April 2018]. Available at:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085249700182X>
2. Atlas, R. M., & Bartha, R. Microbial ecology and environmental microbiology. 4th ed. Madrid- Spain: Pearson-Addison Wesley, 2002, pp. 15-20.
3. Benavides Campaña, C. L. Microbiological analysis of the thermal waters in the Cunuyacu community located in the Pastocalle parish belonging to the province of Cotopaxi [online] (Thesis) (Master's). Higher Polytechnic School of Chimborazo, Faculty of Sciences, School of Biochemistry and Pharmacy. Riobamba-Ecuador, 2017, p. 88. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6932/1/56T00735.pdf>
4. Canganella, Francesco; Wiegel, Juergen. "Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond". The Science of Nature- Naturwissenschaften [online], 2011 (Berlin-Germany), 98 (4), pp. 253-279. Consultation: 04 April 2018]. Available at:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-011-0775-2>
5. Carrascal, A., Páez, A., & Burbano, M. Laboratory manual: food microbiology. Bogotá- Colombia: CEJA Editorial Center in Javer, 2003, pp. 5-10.

6. Carrión Espín, Mayra Alejandra. Thermal waters and their impact on the tourist development of the San Juan de Pastocalle parish in the Latacunga canton, Cotopaxi province [online] (Thesis) (Master's degree). Ambato Technical University, Faculty of Human Sciences and Education. Ambato- Ecuador, 2014, p. 3. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6755/1/FCHE-TH-160.pdf>
7. Castrillón Rivera, Laura Estela; Palma Ramos, Alejandro; Macín Cabrera, Susana. "Role of lactoferrin in periodontal diseases". Revista odontológica mexicana [online], 2011 (Mexico City-Mexico), 15 (4), pp. 231-238. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-199X2011000400005&script=sci_arttext
8. Dinorín Téllez Girón, Jabel. Evaluation of the activity of lipases from cultures of microorganisms isolated from soils and their application in the transesterification of waste oils [online] (Thesis) (Master). The National Polytechnic Institute, Center for Applied Biotechnology Research. Tepatitlán- México, 2012, p. 93. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/6935/1/TESIS%20JABEL%20DINORIN%20TELLEZ%20GIRON.pdf>
9. Escajadillo, Jesús Ramón. Ears, nose, throat and head and neck surgery. 4th ed. Mexico City- Mexico: Editorial El Manual Moderno, 2014, pp. 3.
10. Espinosa, Ivette, et al. "Biochemical and antigenic characterization of different Gardnerella vaginalis isolates" [online], 2005 (Havana-Cuba). Cuban Journal of Biomedical Research, 24 (2), pp. 1-8. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v24n2/ibi03205.pdf>
11. Flores Orb, Jeniffer Alexandra; Salazar Herrera, Tania Yadira. Elaboration of a didactic guide of the ecological reserve Los Ilinizas for the camping and recreation area of the tourist interpretation laboratory for the engineering career in ecotourism of the ua-caren of the Technical University of Cotopaxi, (phase ii) [online] (Thesis) (Master's). Technical University of Cotopaxi, Academic Unit of Agricultural Sciences and Natural Resources. Latacunga- Ecuador, 2014, pp. 9-11. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2612/1/T-UTC-00148.pdf>
12. García López, Isabel, et al. Incidence and characterization of Psychrobacter spp in foods of animal origin [online] (Thesis) (Master). University of León, Department of Hygiene and

- Food Technology, 2011, p. 38. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/810/2009GARC%C3%8DA%20L%C3%93PEZ%2C%20ISABEL.pdf?sequence=1>
13. Gómez, Patricia; Cabrera, Roberto; Cravioto, Alejandro. "Haemophilus Influenzae B: A Review of the Determinants of Pathogenicity and the Immune Response to Infection". Magazine Salud Pública de México [online], 1991 (Mexico City-Mexico), 33 (5), pp. 504-512. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/106/10633508.pdf>
14. González Bacerio, Jorge; Rodríguez Hernández, Jairo; Monte Martínez, Alberto. "Lipases: enzymes with potential for the development of biocatalysts immobilized by interfacial adsorption". Colombian Journal of Biotechnology [online], 2010 (Bogotá - Colombia), 12 (1), pp. 124-140. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15574/38075>
15. Guayllasaca, Ramos; Elizabeth, Yesenia. Microbiological study of the thermal waters of the Yanayacu Tourist Spa located in the Canton La Troncal belonging to the province of Cañar [online] (Thesis) (Master). Higher Polytechnic School of Chimborazo, Faculty of Sciences, School of Biochemistry and Pharmacy, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 22. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4463/1/56T00570%20UDCTFC.pdf>
16. Haki, G. D., & Rakshit, S. K. "Developments in industrially important thermostable enzymes: a review". Bioresource technology magazine [online], 2003 (Amsterdam-Netherlands), 89 (1), pp. 17-34. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852403000336>
17. Lee, C. W., et al. "Isolation and characterization of cultivable bacteria from tropical coastal waters". Marine Sciences Magazine [online], 2009 (California- United States), 35 (2), pp. 153-167. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemark/v35n2/v35n2a3.pdf>
18. Loza Orozco, M. E., & Jiménez Marcos, G. (2006). Incidence of premature rupture of membranes in pregnant women with Gardnerella vaginalis diagnosed by pap smear during prenatal control and treatment effect. Instituto Nacional Materno Perinatal [online] (Thesis) (Master). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Faculty of Medicine, Lima- Peru,

- 2006, p. 15-20. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1146/1/Jimenez_mg.pdf
19. Mast Group Ltd. Plate Count Agar [online], 2017, London-UK. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU342_SPA.pdf
20. Méndez Flores, A. Hot Springs [blog]. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/853>
21. Montaño N, Sandoval A, Camargo S, Sánchez J. "Microorganisms: small giants". Elements Magazine [online], 2010 (Mexico City-Mexico), 77 (1), pp. 15-23. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://www.elementos.buap.mx/num77/pdf/15.pdf>
22. Naranjo Pambabay, M. Microbiological study of the Reina del Rosario thermal waters of Cununyacu, Pilahuin parish, Tungurahua province. [online] (Thesis) (Master). Higher Polytechnic School of Chimborazo, Faculty of Sciences, School of Biochemistry and Pharmacy, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 55. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/4508/1/56T00572%20UDCTFC.pdf>
23. Navas L, Amadío A, Fuxan I, & Zandomeni R. "Identification of genes encoding enzymes of industrial interest in a strain of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Salta (Argentina).", RIA. Magazine of agricultural research, [online], 2014 (Buenos Aires, Argentina), 40 (1), pp. 46-53. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86430499009>
24. Oliart Ros, Manresa Presas Á. & Sánchez Otero M. "Use of microorganisms from extreme environments and their products in biotechnological development.", CienciaUAT.,, [Online], 2016, (Victoria, México), 11 (1), pp. 79-90. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-78582016000200079&script=sci_arttext#B3
25. Olivas E. Manual of Practices of Microbiology I and II and Parasitology., Buenos Aires-Argentina: UACJ, 2014, pp 40 -48.
26. Ollis et al. The hydrolase. Verschueren, K. H. G. and Goldman, Mexico City-Mexico, 1992, p.5.
27. Pascual Dominguez M. Isolation and purification of metabolites of (bacillus licheniformis and trichoderma harzianum) with nematicidal potential. [online] (Thesis) (Master). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo - Mexico, 2013, p. 48, [Consultation:

- 05 April 2018]. Available at:
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1538/AISLAMIENT%20Y%20PURIFICACI%c3%93N%20DE%20METABOLITOS%20DE%20%28Bacillus%20Olicheniformis%20y%20Trichoderma%20harzianum%29%20CON%20POTENCIAL%20NEMATICIDA.pdf?Sequence=1&isAllowed=y>
28. Paullier M., & Munyo A. "Frequent otological pathology.", Update in O.R.L. [online], 2013 (Montevideo, Uruguay), pp. 1-3 [Consultation: April 05, 2018]. Available at: http://www.tendenciaenmedicina.com/Imagenes/imagenes42/art_22.pdf
29. Ponce C., Armenteros A., Villoch C, Montesdeoca N, & Carreras J. "Evaluation of microbiological and chemical risks of activation of the lactoperoxidase system in raw milk.", Unit of Analysis and Trends in Health, Havana, [en line], 2005, (Havana - Cuba), p.2, [Consultation: 05 April 2018]. Available at: http://www.bvs.sld.cu/uats/rtv_files/2005/rtv0505.pdf
30. Bridge E. Expression and study of thermostable enzymes of biotechnological interest. [online] (Thesis) (Doctoral). Autonomous University of Madrid., Madrid- Spain, 2011, p 40. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/6774/39834_Ferreras_Puente_Eloy_Roberto.pdf?sequence=1
31. Pulido H, et al, Analysis and design of experiments. Mexico City-Mexico: McGraw-Hill, 2004, pp 16-18.
32. Ramírez N, Serrano J, & Sandoval H. "Extremophilous microorganisms. Halophilic actinomycetes in Mexico ". Mexican Journal of Pharmaceutical Sciences, [online], 2006, (Mexico City-Mexico), p. 37. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937307.pdf>
33. Ramírez S. "The Frontiers of Life from the Extremophiles' Perspective". Inventio, the genesis of university culture in Morelos [online], 2010, (Canberra - Australia) (11),, Pp. 56-66. [Consultation: 05 April 2018]. Available at: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3235770.pdf>
34. Reed C, et al. Protein adaptations in archaeological extremophiles. Archaea- México, 2013 pp. 1-14.

35. Rodríguez, & Antillón. "Aeromonas spp. and Plesiomonas shigelloides in bivalves, silt and waters of the Gulf of Nicoya, Costa Rica ". Tropical biology magazine. [online], 1989, (San José- Costa Rica), pp. 1-5, [Consultation: April 05, 2018]. Available at: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23618/23820>
36. Rojas Triviño. Concepts and practice of general microbiology. Bogotá- Colombia: National University of Colombia, 2011, pp. 26-40
37. Ruiz M. Detection and characterization of Campylobacter from animals, food and waste water. [online] (Thesis) (Master) Complutense University of Madrid. Madrid- Spain, 2015, p. 31, [Consultation: April 05, 2018]. Available at: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870199X2011000400005&script=sci_arttext
38. Sarmiento F, Peralta R, & Blamey J. "Cold and hot extrezymes: industrial relevance and current trends". Frontiers in bioengineering and biotechnology, [online], 2015 (Santiago, Chile) p. 3. [Consultation: April 05, 2018]. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2015.00148/full>
39. SchlegelI G. General Microbiology. 7ed. New York- United States: Cambridge University Press, 1993, pp. 15-20.
40. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. Introduction to Microbiology, 2007, Buenos Aires - Argentina: Ed. Medica Panamericana.
41. Trujillo García, M. Microbial biofilms. [online] (Thesis) (Doctoral). University of the lagoon. San Cristóbal de La Laguna - Spain, 2017, p. 16. [Consultation: April 05, 2018]. Available at: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5023/biofilms%20microbianos.pdf?Sequence=1>
42. Villamil Cajoto, et al, "Community pneumonia due to *Proteus mirabilis*". In Annals of Internal Medicine. [online], 2006, (Madrid- Spain), p. 47 [Consultation: April 05, 2018]. Available at: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992006000300016

Referências

1. Anwar, A .; & Saleemuddin, M. "Alkaline proteases: a review". Bioresource technology magazine [online], 1998 (Amsterdam-Netherlands), 64 (3), pp. 175-183. [Consultation: 04

- April 2018]. Available at:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085249700182X>
2. Atlas, R. M., & Bartha, R. Microbial ecology and environmental microbiology. 4th ed. Madrid- Spain: Pearson-Addison Wesley, 2002, pp. 15-20.
 3. Benavides Campaña, C. L. Microbiological analysis of the thermal waters in the Cunuyacu community located in the Pastocalle parish belonging to the province of Cotopaxi [online] (Thesis) (Master's). Higher Polytechnic School of Chimborazo, Faculty of Sciences, School of Biochemistry and Pharmacy. Riobamba-Ecuador, 2017, p. 88. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/6932/1/56T00735.pdf>
 4. Canganella, Francesco; Wiegel, Juergen. "Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond". The Science of Nature- Naturwissenschaften [online], 2011 (Berlin-Germany), 98 (4), pp. 253-279. Consultation: 04 April 2018]. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-011-0775-2>
 5. Carrascal, A., Páez, A., & Burbano, M. Laboratory manual: food microbiology. Bogotá-Colombia: CEJA Editorial Center in Javer, 2003, pp. 5-10.
 6. Carrión Espín, Mayra Alejandra. Thermal waters and their impact on the tourist development of the San Juan de Pastocalle parish in the Latacunga canton, Cotopaxi province [online] (Thesis) (Master's degree). Ambato Technical University, Faculty of Human Sciences and Education. Ambato- Ecuador, 2014, p. 3. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6755/1/FCHE-TH-160.pdf>
 7. Castrillón Rivera, Laura Estela; Palma Ramos, Alejandro; Macín Cabrera, Susana. "Role of lactoferrin in periodontal diseases". Revista odontológica mexicana [online], 2011 (Mexico City-Mexico), 15 (4), pp. 231-238. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-199X2011000400005&script=sci_arttext
 8. Dinorín Téllez Girón, Jabel. Evaluation of the activity of lipases from cultures of microorganisms isolated from soils and their application in the transesterification of waste oils [online] (Thesis) (Master). The National Polytechnic Institute, Center for Applied Biotechnology Research. Tepatitlán- México, 2012, p. 93. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/6935/1/TESIS%20JABEL%20DINORI%20TELLEZ%20GIRON.pdf>

9. Escajadillo, Jesús Ramón. Ears, nose, throat and head and neck surgery. 4th ed. Mexico City-Mexico: Editorial El Manual Moderno, 2014, pp. 3.
10. Espinosa, Ivette, et al. "Biochemical and antigenic characterization of different *Gardnerella vaginalis* isolates" [online], 2005 (Havana-Cuba). Cuban Journal of Biomedical Research, 24 (2), pp. 1-8. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v24n2/ibi03205.pdf>
11. Flores Orb, Jeniffer Alexandra; Salazar Herrera, Tania Yadira. Elaboration of a didactic guide of the ecological reserve Los Ilinizas for the camping and recreation area of the tourist interpretation laboratory for the engineering career in ecotourism of the ua-caren of the Technical University of Cotopaxi, (phase ii) [online] (Thesis) (Master's). Technical University of Cotopaxi, Academic Unit of Agricultural Sciences and Natural Resources. Latacunga- Ecuador, 2014, pp. 9-11. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2612/1/T-UTC-00148.pdf>
12. García López, Isabel, et al. Incidence and characterization of *Psychrobacter* spp in foods of animal origin [online] (Thesis) (Master). University of León, Department of Hygiene and Food Technology, 2011, p. 38. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/810/2009GARC%C3%8DA%20L%C3%993PEZ%2C%20ISABEL.pdf?sequence=1>
13. Gómez, Patricia; Cabrera, Roberto; Cravioto, Alejandro. "Haemophilus Influenzae B: A Review of the Determinants of Pathogenicity and the Immune Response to Infection". Magazine Salud Pública de México [online], 1991 (Mexico City-Mexico), 33 (5), pp. 504-512. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/106/10633508.pdf>
14. González Bacerio, Jorge; Rodríguez Hernández, Jairo; Monte Martínez, Alberto. "Lipases: enzymes with potential for the development of biocatalysts immobilized by interfacial adsorption". Colombian Journal of Biotechnology [online], 2010 (Bogotá - Colombia), 12 (1), pp. 124-140. [Consultation: 04 April 2018]. Available at: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15574/38075>
15. Guayllasaca, Ramos; Elizabeth, Yesenia. Estudo microbiológico das águas termais do Yanayacu Tourist Spa localizado no cantão La Troncal, pertencente à província de Cañar [online] (Tese) (Mestrado). Escola Politécnica Superior de Chimborazo, Faculdade de

- Ciências, Escola de Bioquímica e Farmácia, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 22. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/4463/1/56T00570%20UDCTFC.pdf>
16. Haki, G. D. & Rakshit, S. K. "Desenvolvimentos em enzimas termoestáveis industrialmente importantes: uma revisão". Revista de tecnologia Bioresource [online], 2003 (Amsterdã-Holanda), 89 (1), pp. 17-34. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852403000336>
17. Lee, C.W. et al. "Isolamento e caracterização de bactérias cultiváveis de águas costeiras tropicais". Revista de Ciências Marinhas [online], 2009 (Califórnia- Estados Unidos), 35 (2), pp. 153-167. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v35n2/v35n2a3.pdf>
18. Loza Orozco, M.E. e Jiménez Marcos, G. (2006). Incidência de ruptura prematura de membranas em gestantes com Gardnerella vaginalis diagnosticadas por exame de Papanicolaou durante o controle pré-natal e efeito do tratamento. Instituto Nacional Materno Perinatal [online] (Tese) (Mestrado). Universidade Nacional Prefeito de San Marcos, Faculdade de Medicina, Lima- Peru, 2006, p. 15-20. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1146/1/Jimenez_mg.pdf
19. Agar de contagem de placas Mast Group Ltd. [online], 2017, Londres-Reino Unido. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU342_SPA.pdf
20. Méndez Flores, A. Fontes termais [blog]. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/853>
21. Montaño N, Sandoval A. Camargo S, Sánchez J. "Microorganismos: pequenos gigantes". Revista Elements [online], 2010 (Cidade do México-México), 77 (1), pp. 15-23. [Consulta: 04 de abril de 2018]. Disponível em: <http://www.elementos.buap.mx/num77/pdf/15.pdf>
22. Naranjo Pambabay, M. Estudo microbiológico das águas termais de Reina del Rosario de Cununyacu, freguesia de Pilahuin, província de Tungurahua. [online] (Tese) (Mestrado). Escola Politécnica Superior de Chimborazo, Faculdade de Ciências, Escola de Bioquímica e Farmácia, Riobamba- Ecuador, 2015, p. 55. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/4508/1/56T00572%20UDCTFC.pdf>

23. Navas L, Amadío A, Fuxan I e Zandomeni R. "Identificação de genes que codificam enzimas de interesse industrial em uma cepa de bactérias termofílicas isoladas de fontes termais em Salta (Argentina).", RIA. Revista de pesquisa agrícola, [online], 2014 (Buenos Aires, Argentina), 40 (1), pp. 46-53. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86430499009>
24. Oliart Ros, Manresa Presas Á. & Sánchez Otero M. "Uso de microrganismos de ambientes extremos e seus produtos no desenvolvimento biotecnológico.", CienciaUAT.,, [Online], 2016, (Victoria, México), 11 (1), pp. 79-90. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-78582016000200079&script=sci_arttext#B3
25. Olivas E. Manual de Práticas de Microbiologia I e II e Parasitologia., Buenos Aires-Argentina: UACJ, 2014, pp 40 -48.
26. Ollis et al. A hidrolase. Verschueren, K. H. G. e Goldman, Cidade do México-México, 1992, p.5.
27. Pascual Dominguez M. Isolamento e purificação de metabólitos de (bacillus licheniformis e trichoderma harzianum) com potencial nematicida. [online] (Tese) (Mestrado). Universidade Autônoma Agrária Antonio Narro, Saltillo - México, 2013, p. 48, [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1538/AISLAMIENTO%20Y%20PURIFICACI%c3%93N%20DE%20METABOLITOS%20DE%20%28Bacillus%20licheniformis%20y%20Trichoder%20harzianum%29%20CON%20POTENCIAL%20NE%20MATICIDA.pdf?Sequencia=1&isAllowed=y>
28. Paullier M., & Munyo A. "Patologia otológica frequente.", Atualização em O.R.L. [online], 2013 (Montevidéu, Uruguai), pp. 1-3 [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.tendenciaenmedicina.com/Imagenes/imagenes42/art_22.pdf
29. Ponce C., Armenteros A., Villoch C, Montesdeoca N, & Carreras J. "Avaliação de riscos microbiológicos e químicos da ativação do sistema lactoperoxidase no leite cru", Unidade de Análise e Tendências em Saúde, Havana, [en line], 2005, (Havana - Cuba), p.2, [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.bvs.sld.cu/uats/rtv_files/2005/rtv0505.pdf
30. Bridge E. Expressão e estudo de enzimas termoestáveis de interesse biotecnológico. [online] (Tese) (Doutorado). Universidade Autônoma de Madri., Madri- Espanha, 2011, p 40.

[Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em:
https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/6774/39834_Ferreras_Puente_Eloy_Roberto.pdf?sequence=1

31. Pulido H, et al., Análise e desenho de experimentos. Cidade do México-México: McGraw-Hill, 2004, pp 16-18.
32. Ramírez N, Serrano J e Sandoval H. "Microrganismos extremófilos. Actinomicetos halofílicos no México ". Jornal Mexicano de Ciências Farmacêuticas, [online], 2006, (Cidade do México-México), p. 37. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57937307.pdf>
33. Ramírez S. "As fronteiras da vida na perspectiva dos extremófilos". Inventio, a gênese da cultura universitária em Morelos [online], 2010, (Canberra - Austrália) (11)., Pp. 56-66. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3235770.pdf>
34. Reed C, et al. Adaptações de proteínas em extremos arqueológicos. Archaea- México, 2013 pp. 1-14.
35. Rodríguez e Antillón. "Aeromonas spp. e Plesiomonas shigelloides em bivalves, silte e águas do Golfo de Nicoya, Costa Rica ". Revista de biologia tropical. [online], 1989, (San José-Costa Rica), pp. 1-5, [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23618/23820>
36. Rojas Triviño. Conceitos e prática da microbiologia geral. Bogotá- Colômbia: Universidade Nacional da Colômbia, 2011, pp. 26-40
37. Ruiz M. Detecção e caracterização de *Campylobacter* de animais, alimentos e águas residuais. [online] (Tese) (Mestrado) Universidade Complutense de Madri. Madri - Espanha, 2015, p. 31, [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870199X2011000400005&script=sci_arttext
38. Sarmiento F, Peralta R e Blamey J. "Extremos frios e quentes: relevância industrial e tendências atuais". Fronteiras em bioengenharia e biotecnologia, [online], 2015 (Santiago, Chile) p. 3. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2015.00148/full>
39. SchlegelI G. Microbiología Geral. 7ed. Nova York - Estados Unidos: Cambridge University Press, 1993, pp. 15-20.

40. Tortora, G.J., Funke, B.R. e Case, C.L. *Introdução à Microbiologia*, 2007, Buenos Aires - Argentina: Ed. Medica Panamericana.
41. Trujillo García, M. Biofilmes microbianos. [online] (Tese) (Doutorado). Universidade da lagoa. San Cristóbal de La Laguna - Espanha, 2017, p. 16. [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em:
<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5023/biofilms%20microbianos.pdf?Sequence=1>
42. Villamil Cajoto, et al, "Pneumonia comunitária devido a *Proteus mirabilis*". In *Annals of Internal Medicine*. [online], 2006, (Madri-Espanha), p. 47 [Consulta: 05 de abril de 2018]. Disponível em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992006000300016

©2020 por el autor. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative

Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0)

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).