



Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Microbiología Y Parasitología.



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE MANANTIALES DE AGUAS
MINERALES TERMALES DEL SECTOR SANTA APOLONIA, MUNICIPIO
TULIO FEBRES CORDERO DEL ESTADO MÉRIDA.**

Autor: Dohely A., Escalante G.

Tutor: Félix Andueza

Enero, 2014



Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Microbiología Y Parasitología.



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE MANANTIALES DE AGUAS
MINERALES TERMALES DEL SECTOR SANTA APOLONIA, MUNICIPIO
TULIO FEBRES CORDERO DEL ESTADO MÉRIDA.**

www.bdigital.ula.ve
Trabajo de grado presentado para optar al título de

Licenciado en Bioanálisis

Autor: Dohely A., Escalante G.

Tutor: Félix Andueza

Enero, 2014

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	iv
ÍNDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
BASES TEÓRICAS	4
Concepto y generalidades de las aguas termales o mineromedicinales	4
Antecedentes históricos	5
Clasificación de las aguas termales o mineromedicinales	8
Características físicoquímicas de las aguas termales o mineromedicinales	12
Uso terapéutico de las aguas termales o mineromedicinales	17
Características microbiológicas	21
Microorganismos en ambientes extremófilos	24
Tipos de microorganismos presentes en las aguas minerales termales o mineromedicinales	31
Clasificación taxonómica	32
ANTECEDENTES DE LA HIPÓTESIS	33
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	36
MATERIALES Y MÉTODOS	38
Materiales	38
Población y Muestra	38
Medios de Cultivo	40

Reactivos	40
Metodología	41
RESULTADOS	43
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXOS	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de las aguas minerales según su temperatura	9
Tabla 2. Propiedades terapéuticas atribuibles a diferentes tipos de agua	20
Tabla 3. Clasificación de las aguas minerales de acuerdo a su composición química	21
Tabla 4. Bacterias Heterótrofas Aerobias Mesófilas, Coliformes Totales y Coliformes Fecales de muestras de agua de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida	43
Tabla5. Tipos de colonias bacterianas identificadas a nivel de coloración de Gram	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Bacterias Heterótrofas Aerobias Mesófilas, Coliformes Totales y Coliformes Fecales de muestras de agua de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida	43
Gráfico2. Tipos de colonias bacterianas identificadas a nivel de coloración de Gram	46

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Ubicación de los manantiales de aguas termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida	37
Anexo 2: Toma de muestras de las aguas termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida	38
Anexo 3. Entrada a las Aguas Termales de Santa Apolonia	61
Anexo 4. Muestras	62
Anexo 5. Aislamiento de Colonias	63
Anexo 6. Cepas	64
Anexo 7. Observación	65
Anexo 8. Petrifilm	66

www.bdigital.ula.ve

RESUMEN

En el territorio del Estado Mérida, las características geomorfológicas de los suelos, permiten el brote de varios manantiales de aguas termales, siendo una de estas locaciones Santa Apolonia. No obstante, hasta la presente fecha no se han elaborado trabajos de investigación que den cuenta de la población de microorganismos que habitan aguas de esta zona. El objetivo fundamental de la presente investigación fue determinar algunos de los componentes de la población de microorganismos presentes en estas aguas así como la posible existencia de bacterias patógenas; en este sentido se ha formulado la siguiente pregunta ¿Qué microorganismos se encuentran en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida? Para poder dar respuesta se procedió a realizar un muestreo en el margen, nacimiento y parte central en la piscina de aguas termales en Santa Apolonia, donde se detectaron cepas de Bacilos Gram Positivos Formadores de Esporas, no se encontraron coliformes totales ni coliformes fecales en ninguna de las muestras.

I. INTRODUCCIÓN

En Venezuela se desconoce la microbiota de las aguas termales, así como su calidad sanitaria, lo cual no solo representa un riesgo para la salud de quienes hacen uso y disfrute de los manantiales termales, sino que representa un freno para su conservación. En aquellos países donde no existe un control microbiológico de sus aguas, las tasas de incidencia y prevalencia de enfermedades de origen hídricas son altas. La sociedad, en la búsqueda de espacios alternativos que provean esparcimiento y mejoras a la calidad de vida, ha convertido los manantiales de aguas termales como lugares a los cuales acuden los individuos en búsqueda de alivio a sus dolencias. Los individuos que frecuentan las aguas termales en ocasiones son personas inmunocomprometidas por lo cual se hace necesario garantizar la calidad microbiológica del agua a fin de prevenir brotes de enfermedades infecciosas.

En el territorio del Estado Mérida, las características geomorfológicas de los suelos, permiten el brote de varios manantiales de aguas termales, siendo una de estas locaciones Santa Apolonia. No obstante, hasta la presente fecha no se han elaborado trabajos de investigación que den cuenta de la población de microorganismos que habitan aguas de esta zona. El objetivo fundamental de la presente investigación fue determinar algunos de los componentes de la población de microorganismos presentes en estas aguas así como la posible existencia de bacterias patógenas.

El proceso de evolución y adaptación de los microorganismos les ha permitido ocupar una diversidad de espacios y ambientes, los cuales en ocasiones resultan extremos bien sea por los aspectos físicos o por las

condiciones químicas en las cuales debe sobrevivir dicho organismo. En este proceso de adaptación han modificado sus componentes macromoleculares para obtener el mayor grado de eficiencia, produciéndose como consecuencia una extraordinaria diversificación, lo cual implica estudios detallados que permitan conocer las múltiples variedades de microorganismos, así como su organización y función dentro del ecosistema que les rodea. En la actualidad se ha incrementado el interés del estudio de los microorganismos extremófilos con el propósito de determinar las características que les permiten sobrevivir en hábitats de condiciones extremas.

Las aguas minerales termales de los balnearios son uno de estos hábitats extremos ya que poseen altas temperaturas, elevadas concentraciones de sales y otras condiciones desfavorables para la vida de muchos seres vivos. Sin embargo, se conoce que estas aguas minerales, como cualquier ecosistema acuático, poseen una población microbiana autóctona que suele ser característica de cada tipo de agua y que depende de sus propiedades fisicoquímicas (temperatura, pH, sales minerales, nutrientes). También pueden encontrarse en ellas microorganismos alóctonos, procedentes de otros hábitats (suelo, heces, vegetales), considerados contaminantes pero que coexisten con los anteriores, adaptándose a las condiciones adversas, siendo los de mayor interés sanitario *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Legionella*. Los recientes estudios sobre la microbiota de manantiales termales, elaborados en diversos países han originado un cambio sobre la visión de la biodiversidad microbiana, de su composición, estructura y función. En este sentido se ha formulado la siguiente pregunta

¿Qué microorganismos se encuentran en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida?

www.bdigital.ula.ve

II. BASES TEÓRICAS

II.1. CONCEPTO Y GENERALIDADES DE LAS AGUAS TERMALES O MINEROMEDICINALES

Se llaman aguas termales a las aguas minerales que salen del suelo con más de 5°C que la temperatura superficial; proceden de capas subterráneas de la Tierra que se encuentran a mayor temperatura, las cuales son ricas en diferentes componentes minerales y permiten su utilización en la terapéutica como baños, inhalaciones, irrigaciones, y calefacción. Por lo general se encuentran a lo largo de líneas de fallas ya que a lo largo del plano de falla pueden introducirse las aguas subterráneas que se calientan al llegar a cierta profundidad y suben después en forma de vapor (que puede condensarse al llegar a la superficie, formando un géiser o de agua caliente [1].

Cualquier país puede presentar dentro de sus límites aguas termales. Algunas localizaciones importantes están en áreas volcánicas de Nueva Zelanda, México, Islandia, Japón, Colombia, Bolivia, Chile, Perú, Panamá, el Parque Yellowstone en Estados Unidos y el pueblo de Coamo en Puerto Rico [2].

También existen aguas termales al norte de Uruguay, en los departamentos de Artigas, Salto y Paysandú, y en Venezuela cerca de Tabay en el estado Mérida y en Trincheras en el estado Carabobo. En Argentina las más importantes están en la provincia de Entre Ríos, en la ciudad de Termas de Río Hondo y en Copahue. Al norte del Perú en el distrito de Curgos afloran grandes manantiales de aguas calientes, sulfurosas y ferrosas con muchas propiedades curativas sobre todo para casos de reumatismo,

situadas en el Edén, en Yanasaray en Churin. En España son conocidas, entre otros muchos lugares, las fuentes de Las Burgas, en la ciudad de Orense. También destacan las aguas del Valle del Tea, en la provincia de Pontevedra. Se encuentra allí uno de los balnearios más emblemáticos del país: Mondariz.[3].

II.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Según cuentan antiguas leyendas, las propiedades medicinales de las aguas termales fueron descubiertas por animales como los osos, ciervos y jabalíes, además de aves como cisnes, grullas y garzas, que solían visitar los manantiales termales para curar sus patas o las alas heridas. Es así como los humanos aprendieron a apreciar los “dones” de este regalo de la naturaleza, pues en épocas remotas no había medicamentos apropiados para atender las diferentes enfermedades [1].

Aunque se estima que el hombre primitivo de la edad de piedra, ya conocía de las propiedades beneficiosas a la salud de las aguas minerales, se considera que los primeros balnearios de aguas minero medicinales que se conocen datan de hace 2000 a.C. Se ha encontrado evidencias arqueológicas de la existencia en la ciudad india de Mojenjo-Daro y en la ciudad de Epidauros, en la Antigua Grecia. También han aparecido instalaciones en la isla griega de Creta (entre 1700 y 1400 a.C.) y en la ciudad egipcia de Tel El-Amarna (1360 a.C.) [1].

En la antigua Grecia, la mayoría de los centros médicos disponían de manantiales que facilitaban las técnicas hidroterapéuticas. Entre ellos se destacaron los de Peloponeso, Cos, Pérgamo, Cnido y Rodas. Por aquella

época ya se le confería propiedades terapéuticas al agua mineromedicinal, pero en forma similar a como lo llevaban a cabo los pueblos primitivos. Las termas originales sólo disponían de agua fría y se aplicaba en tinas para baño. A finales del siglo V a.C., se empiezan a construir complejas instalaciones independientes. En Grecia y en Roma los baños se convertían en complejos rituales y se acompañaban de ejercicios y masajes [1].

Las termas romanas más antiguas que se conservan hasta hoy son las de Stabiano en la ciudad de Pompeya. Fueron construidas en el siglo II a.C., el agua que abastecía las termas, en ocasiones se traía desde fuentes lejanas. Además, por aquella época se crearon en Roma muchas termas públicas, las cuales tenían una función social y política. Durante la dominación romana, se expandieron por Europa sus hábitos y normas, incluyendo las termas, con lo cual se difundió la práctica de las curas balnearias. La iglesia cristiana, por su parte, daba más prioridad a la limpieza espiritual que a la limpieza corporal y consideraba las termas romanas como un lugar de perversión [1].

Durante toda la etapa medieval se hizo poco uso de las aguas mineromedicinales, incluso escaseaba el abasto de agua y las cañerías y fue habitual el poco aseo personal. En Escandinavia, donde el cristianismo tardó en imponerse, cada casa contaba con una instalación denominada sauna, donde se aplicaban primero baños de agua templada y luego de agua helada [1].

Con la invasión de los árabes al sur de Europa, se reintegraron los baños públicos y las curas termales. Todas las ciudades importantes dispusieron al menos de un baño público. Entre estos se destaca El Baño Real de la Alambra en Granada. Después de la reconquista de España por los reyes

católicos y la expulsión de los musulmanes del territorio ibérico, se volvió a restringir las prácticas de las curas balnearias, relacionándose esas costumbres con actos herejes, moriscos y judeo conversos [1].

En Constantinopla, durante el imperio bizantino, se mantuvieron las costumbres romanas, las cuales perduraron y se reforzaron durante el dominio turco [1].

Las Cruzadas dieron también un florecimiento a las curas termales. Las aguas mineromedicinales fueron utilizadas para la cura de los heridos y combatir las enfermedades contraídas en Oriente [1].

El Renacimiento, que surge a partir del siglo XV, no trajo avances significativos en el campo de la balneoterapia, a pesar de los adelantos significativos que significó para la Medicina en general. Sin embargo, los nuevos descubrimientos geográficos pusieron de manifiesto el uso de las aguas termales por parte de los pobladores del Nuevo Mundo [1].

En los siglos VIII y XIX se produce una recuperación de la cultura clásica y se generaliza la costumbre del uso del agua termal y de los baños en general como una de las medidas higiénicas. Sin embargo, debido al hacinamiento de las personas en las grandes ciudades europeas, en el siglo XIX se produjo un brote de cólera, se puso de manifiesto la necesidad de construir baños privado y públicos como medida de higiene [1].

Actualmente la Hidrología Médica como rama de la Terapéutica, se ha nutrido de los avances de la ciencia y se apoya en otras disciplinas, tales como las Ciencias Naturales, la Química, la Física, la Fisiología, la Farmacia, etc. Hoy se conoce la composición química de las aguas, sus orígenes, sus

funciones en el organismo, etc. Sin embargo, a pesar de que las curas termales han perdido en empirismo de antaño, las curas hidrotermales no ocupan hoy el lugar privilegiado que ocupaban en otras épocas, lo cual es debido al desarrollo de la Medicina en su conjunto, especialmente de la Cirugía y la terapéutica medicamentosa [1].

Recién en 1986 las aguas termales se declararon como una herramienta alternativa para gozar de buena salud física y mental. Así surgió una nueva disciplina, la hidrología médica –parte de las ciencias naturales que trata de las aguas-, aceptada como medicina complementaria por la Organización Mundial de la Salud [1].

II.3. CLASIFICACIÓN DE LAS AGUAS TERMALES O MINEROMEDICINALES

El criterio de clasificación de las aguas termales y minerales puede ser asumido desde diversos puntos de vista: físico, químico, físico-químico, bacteriológico y otros [4].

Con relación a la temperatura, pueden ser hipotermas (con temperaturas inferiores a 20 °C) y termales propiamente dichas (con temperaturas superiores a 20 °C) [4].

Por lo general, se consideran termales en relación con la temperatura, aquellas aguas subterráneas que en su punto de emergencia poseen una temperatura mayor que la temperatura media anual. Esta diferencia deber ser superior a 5 °C [4].

Se han establecido muchas clasificaciones de las aguas termales. Así por ejemplo, se han empleado los prefijos hipo, meso e hiper con estos fines; así como clasificaciones más sencillas como la adoptada en Venezuela por Urbani (1991). Este especialista denominó agua fría a aquella que posee en la emergencia una temperatura menor o igual a la temperatura media anual; agua tibia con un intervalo desde la temperatura media anual hasta 37 °C; agua caliente cuando varía desde 37 a 60 °C, y agua muy caliente desde 60 a 100 °C [4].

Tabla 1. Clasificación de las Aguas Minerales según su Temperatura

Según la temperatura en el punto de surgencia:	
HIPERTERMALES	$T > T_{ma} + 4^{\circ} \text{C}$ o $T > T_s + 2^{\circ} \text{C}$
ORTOTERMALES	$T = T_{ma} + 4^{\circ} \text{C}$ o $T = T_s + 2^{\circ} \text{C}$
HIPOTERMALES	$T < T_{ma} + 4^{\circ} \text{C}$ o $T < T_s + 2^{\circ} \text{C}$
T_{ma} : temperatura media anual del aire T_s : temperatura media del suelo	
Según la temperatura de aplicación terapéutica:	
HIPOTERMALES	$< 35^{\circ} \text{C}$
MESOTERMALES	entre 35 y 37° C
HIPERTERMALES	$> 37^{\circ} \text{C}$

Fuente. Red de Cooperación para el Desarrollo Termal en el Sudoe [5].

Dependiendo de su origen geológico las aguas termales se dividen en [6]:

- ✓ **Aguas magmáticas:** Aguas cuyo origen es de carácter eruptivo y el caudal constante en composición y temperatura.

- ✓ **Aguas telúricas:** Su caudal varía dependiendo de la época del año ya que proviene de la infiltración de las lluvias.

De acuerdo a composición química la podemos dividir [7]:

- ✓ Manantiales de aguas ácidas: pH menor de 7.
- ✓ Manantiales de aguas neutras: pH igual a 7.
- ✓ Manantiales de aguas alcalinas: pH mayor de 7.

En relación a su composición en minerales se pueden dividir en:

- ✓ **Aguas Bicarbonatadas:** Aguas de baja mineralización, alcalinas y frías. Su uso es por ingesta, actuando sobre el metabolismo de manera que alcaliniza el pH gástrico si se toma en ayunas, disminuyendo la acidez y ayudando en el proceso digestivo. También estimula la secreción pancreática y tiene funciones diuréticas alcalinizando la orina [8].
- ✓ **Aguas Cloruradas:** Aguas en cuya composición predomina el cloruro. Pueden ser de baja mineralización, dando lugar a aguas termales o de alta mineralización, que serán aguas frías. Están indicadas en afecciones dermatológicas, aumentando las defensas de la piel. También tienen efecto antiinflamatorio si en su composición se encuentra sodio. Su aplicación puede ser por vía oral, provocando estimulación gástrica y del peristaltismo intestinal, o por vía externa, indicadas en casos de estrés por su importante efecto sedante, disminución de la hipertonía muscular, aumento del flujo sanguíneo y como efecto analgésico y antiinflamatorio. También están indicadas

para afecciones del aparato locomotor, como las contracturas musculares [8].

- ✓ **Aguas Ferruginosas:** Aguas en cuya composición se encuentra principalmente hierro, aunque suelen acompañarse de bicarbonatos o sulfatos. Están indicadas en casos de anemias ferropenia y otros tipos de anemias, ya que este tipo de agua está considerada como reconstituyente. Otras indicaciones son en caso de obesidad, reumatismos, afecciones hepáticas, biliares y algún tipo de afecciones dermatológicas, así como para trastornos de desarrollo infantil [8].
- ✓ **Aguas Sulfurosas:** Agua híper termal, cuyo pH es de 6,5 y mineralización media sulfatada-sulfurosa. Se encuentra en suelos fangosos y está indicada para afecciones articulares como procesos reumáticos y post-operatorios del aparato locomotor, anemias, neuralgias, dermatosis pruriginosas, inflamaciones alérgicas y afecciones respiratorias como el asma. Las aguas sulfurosas están contraindicadas en casos de hipertensión y hemoptisis [8].
- ✓ **Aguas Sulfatadas:** Este tipo de aguas se caracteriza por que su temperatura y mineralización. Tienen una importante acción laxante. Otras indicaciones son para las afecciones dermatológicas, prurito e incluso en algunos casos de intoxicación medicamentosa o alimenticia. Sulfatadas cálcicas: indicadas en afecciones gástricas, intestinales, hepatopatías y biliares produciendo una importante acción diurética y la eliminación de ácido úrico, importante en casos de gota [8].

- ✓ **Aguas Radioactivas:** Aguas en cuyo contenido se encuentra radón-gas radioactivo de origen natural. Este tipo de agua utilizada en termalismo no tiene ningún efecto negativo. Al contrario, están indicadas para afecciones del sistema neurovegetativo, endocrino y para alteraciones en el sistema autoinmune, así como afecciones respiratorias crónicas, reumatológicas y dérmicas. Se toman en baños o inhalaciones y están muy indicadas en tratamientos anti estrés, depresiones y alteraciones del sistema nervioso, ya que el radón tiene características sedativas y analgésicas [8].
- ✓ **Aguas Sulfuradas:** Agua en cuya composición predomina el azufre, lo que le da un olor característico. Su administración se realiza por medio de ingesta aunque no se debe descartar otro tipo de aplicaciones. En su composición pueden ir acompañadas de sodio o calcio. Están indicadas principalmente para procesos reumáticos, dermatológicos como eczemas, queratosis, psoriasis o pruritos y respiratorios crónicos, como laringitis, rinitis, bronquitis, asma. Son utilizadas en post-operatorios del aparato locomotor y traumatismos. Tienen efecto también sobre las afecciones hepáticas [8].

II.4. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LAS AGUAS TERMALES O MINEROMEDICINALES

Las aguas naturales adquieren su composición química mediante un proceso complejo, donde intervienen factores de tipo químico-físico, geológico, hidrogeológico, geomorfológico, pedológico, climático, antrópico y otros [9].

Se debe esperar que la infiltración por percolación de las precipitaciones en rocas salinas, origine aguas superficiales y subsuperficiales (acuíferas) de tipo cloruradas alcalinas; en los depósitos de yeso o anhidrita, sulfatadas cálcicas; en las calizas y dolomías, bicarbonatadas cálcicas o cálcico-magnesianas; en las secuencias con abundante pirita, aguas con alto contenido de ion sulfato; en los granitos y otras rocas insolubles ácidas, aguas del tipo alcalinas o alcalino-térreas según el catión dominante, mientras que en las rocas ultrabásicas, éstas son bicarbonatadas magnesianas [10].

Sin embargo, en el caso de las aguas minerales, su composición por lo general no refleja las propiedades del material acuífero de la zona de alimentación, sino más bien, las características del propio acuífero confinado, de las capas confinantes y de los flujos hidrotermales [10].

Los principios químico-físicos están regidos por las leyes termodinámicas que controlan la disolución de los minerales, estos factores desempeñan un papel importante en la forma en que las aguas naturales adquieren su composición química. Entre estos se destacan: la solubilidad de los minerales, el contenido de gases disueltos, las condiciones del sistema (abierto o cerrado) en que la disolución tiene lugar, el pH, el potencial redox, el efecto salino o de fuerza iónica y otros [10].

Los factores geológicos se relacionan con la litología (composición de los minerales de las rocas), el estado de yacencia de las secuencias estratigráficas, la tectónica, el agrietamiento, la textura y porosidad de las rocas, etc. La litología determina, por lo general, las facies hidroquímica dominantes en una región determinada, es decir, el tipo de agua. Así por ejemplo, en los terrenos cálcicos carbonatados las aguas suelen ser del tipo

bicarbonatadas cálcicas. Los aspectos vinculados al agrietamiento y porosidad de las rocas influyen de manera determinante en el estado de división de las partículas, mientras más pequeña sea ésta, poseerá mayor superficie y se facilitará la disolución del mineral. Las aguas que drenan a través de rocas calcáreas, muy trituradas por los procesos tectónicos, adquieren un contenido mayor de calcita disuelta que aquéllas que drenan a través de calizas más compactas [10].

Los factores hidrogeológicos están relacionados con la permeabilidad del acuífero, el tipo de flujo, su velocidad, así como la zona por donde se mueve el agua [10].

Todos estos aspectos inciden en el tiempo de contacto entre el agua y el mineral, por ejemplo, si el flujo tiene lugar en condiciones difusas a través de las rocas, el tiempo de interacción del agua con los minerales es más lento y, por tanto, la cantidad de minerales disueltos es mayor que si las condiciones de flujo son turbulentas a través de grietas más o menos amplias [10].

El contenido de CO_2 , la dureza y otras propiedades químico-físicas de las aguas naturales difieren de acuerdo con la forma en que se mueve el agua y la zona hidrogeológica que ocupa [10].

En la zona de alimentación del acuífero (visto el movimiento en sentido horizontal) o en la zona de aireación (visto en sentido vertical), el contenido de CO_2 de las aguas es relativamente elevado, puesto que en estos lugares tienen lugar los intensos procesos de descomposición bacteriana de la materia orgánica. El pH en esta zona suele no ser elevado y la dureza pequeña [10].

En la zona de conducción del acuífero el nivel de CO_2 suele ser menor, porque una parte del gas es consumido, como consecuencia de la interacción del agua con los minerales del medio rocoso. El agua en esta zona adquiere una mayor mineralización y un pH más elevado. Esta evolución se hace más evidente si, por ejemplo, se muestrea un perfil de pozos desde la zona de alimentación hasta la de emisión del acuífero. A medida que el agua se aleja de la zona de alimentación decrece el CO_2 y aumentan el pH, así como el contenido de calcita disuelta [10].

En la zona saturada, las aguas adquieren una mayor mineralización. Sin embargo, como resultado de los procesos de mezcla de aguas, éstas pueden hacerse agresivas nuevamente y continuar disolviendo minerales [10].

En la zona de circulación profunda, las aguas se caracterizan por presentar elevados contenidos de CaCO_3 , CaSO_4 y NaCl disueltos. En ocasiones aún poseen cantidades elevadas de CO_2 y H_2S , y en los manantiales por donde emergen precipita el exceso de calcita y yeso. Además, las aguas poseen, por lo general, una temperatura más elevada y estable que las de tipo meteóricas, la circulación es más lenta y su caudal menor, el tiempo de interacción con los minerales es mayor. En estas condiciones pueden cambiar su típico patrón hidrogeoquímico [10].

Las aguas naturales con elevados contenidos de cloruro (Cl^-) se suelen encontrar en regiones llanas que presentan gran agrietamiento o fallas, donde los horizontes acuíferos someros se ponen en contacto con otros más profundos. También en algunos pozos artesianos, que se han abierto a grandes profundidades durante los trabajos de prospección geológica o de búsqueda petrolífera; así como en las zonas litorales donde las aguas del acuífero cársico se mezclan con las de mar y como resultado de este

proceso se incrementa la solubilidad de los minerales carbonatados (efecto de mezcla de agua y efecto salino o de fuerza iónica) [10].

Los factores de tipo geomorfológico también influyen en la composición química de las aguas, en especial, el escarpe de los macizos, el tipo de vegetación, el grado de erosión de los terrenos y la naturaleza de las propias formas del relieve. A pesar de que las formas de adsorción (dolinas, sumideros, etc.), se pueden considerar el resultado de los procesos cárnicos, una vez creadas esas formas, éstas facilitan o limitan la ulterior acción de corrosión química sobre el medio, lo cual se refleja en la composición química de las aguas [10].

Otros factores que también influyen sobre la composición química de las aguas naturales son los de tipo pedológicos, los cuales están asociados al tipo de suelo que yace sobre las secuencias estratigráficas. El suelo puede ser el resultado del intemperismo de la roca o tratarse de una cobertura de origen fluvial, pluvial o glaciar; su espesor puede variar desde un grosor apreciable hasta llegar a ser muy escaso o ausente. De sus características y condiciones climáticas depende la actividad microbiológica asociada, así como de la producción de gases y ácidos disponibles, que luego son arrastrados por las lluvias o las nieves al fundirse, haciendo posible la disolución de los minerales que forman parte del paquete de rocas subyacentes. En el caso de un macizo desnudo, el agua de las precipitaciones puede adquirir el CO_2 directamente de la atmósfera, pero en una proporción menor que la que se produce en el suelo [10].

La microbiota del suelo está compuesta de poblaciones de algas, actinomicetos, bacterias nitrificantes, des nitrificantes, des integrantes de la celulosa, sulfobacterias y productoras de pigmentos, hongos y protozoos.

Los factores climáticos intervienen de forma activa en la dinámica de la meteorización mecánica y química de los macizos, al permitir en el primer caso la fragmentación, traslado y acarreo de los minerales lejos del lugar de origen, así como facilitar en el segundo caso, la disolución de los minerales de las rocas. Mientras más intensa sea la acción mecánica, más ayudará al agua su acción corrosiva [10].

Los elementos del clima más determinantes en el modo en que las aguas adquieren su composición química son: la temperatura, humedad relativa, intensidad y duración de las precipitaciones, intensidad y duración de las radiaciones, velocidad del aire, entre otros [10].

Por último, se debe destacar el papel que desempeña el factor antrópico en la composición química de las aguas [10].

II.5. USO TERAPÉUTICO DE LAS AGUAS TERMALES O MINEROMEDICINALES

La hidrología médica o medicina termal puede definirse como lo establece la Comisión Nacional de la Especialidad de España, como el estudio de las aguas minero-medicinales, marinas y potables ordinarias, y sus acciones sobre el organismo humano en estado de salud y enfermedad [11].

El agua mineral puede ser utilizada interna o externamente, o de ambas formas. Las terapias internas consisten en el consumo metódico acompañado por una dieta adecuada. Resultan útiles en muchas condiciones internas, pero no se utilizan generalmente para tratar dolencias

dermatológicas. Esta se trata principalmente de forma externa, de modo tradicional: baños, hidromasajes, duchas de alta presión y fango terapia [12].

La terapia de baño implica la inmersión de todo o una parte del cuerpo, como las manos y los pies, generalmente durante 15 a 30 minutos diarios en ciclos de 15 a 20 sesiones. Son dos los factores que intervienen para producir la curación: la temperatura del agua y sus sales. La absorción de las sales a través de la piel parece ser limitada, aunque no existen datos precisos sobre el tema. Por lo tanto, el efecto terapéutico radica en una interacción local entre el agua mineral y la estructura de la superficie de la piel. Para las enfermedades de la piel se indican las aguas arsénicas, cloradas, sulfurosas y puras, siempre y cuando se utilicen correctamente [13].

Las formas especiales de baños, que añaden una acción mecánica a los efectos termale, incluyen el hidromasaje y las duchas de alta presión con aguas termale. Esta última se realiza con duchas con orificios de 0,4 mm de diámetro [12].

Los baños con fango consisten en aplicaciones de material alcalino mezclado con aguas minerales. El fango puede aplicarse en zonas limitadas, como la cara, en las llamadas máscaras faciales para tratamientos cosméticos [12].

En cualquier caso es el agua, concretamente en su estructura y en las sustancias que porta en disolución o en suspensión, en donde radica el trascendental papel de la misma en las actividades vitales en las actividades terapéuticas y/o preventivas [11].

Las vías de administración de las aguas mineromedicinales pueden ser:

Vía oral: Ingesta de agua. La composición mineral de las aguas va a indicarnos para que patologías están más indicadas. Las principales son las digestivas, hepáticas, biliares, renales y dérmicas [12].

Vía tópica: Aplicación sobre la piel. Está demostrado que los minerales penetran por la piel pudiendo llegar hasta el sistema circulatorio. Las patologías principales que se tratan con técnicas tópicas son las del aparato locomotor, sistema circulatorio y dermatopatías, pero siempre debemos tener en cuenta la composición de las aguas para ver cuáles son las indicadas en cada caso [12].

Vía inhalatoria: este tipo de aplicación ya es más específica. Se suele realizar por medio de duchas nasales para patologías respiratorias. En este tipo de aplicaciones, el agua se puede utilizar tanto por sus propiedades minero-medicinales como para ser portadora de fármacos específicos [12].

En cuanto a los beneficios que producen los tratamientos termales se tiene:

- ✓ En la mayoría de los casos, las aguas termales no se contradicen con las terapias habituales.
- ✓ Casi no poseen efectos indeseables.
- ✓ Permiten que se reduzca y en algunos casos se eliminen los medicamentos que se ingieren.
- ✓ Actúa en enfermedades crónicas, donde es muy difícil encontrar alivio por otros medios.
- ✓ No cura totalmente, pero si detiene procesos dolorosos crónicos.

- ✓ Permite su uso para estética y prevención de enfermedades comunes.
- ✓ Estimula la circulación periférica.
- ✓ Provocan relajación muscular.
- ✓ Facilitan la actividad cardio-respiratoria.
- ✓ Producen notable sensación de bienestar.
- ✓ Estimulan las defensas del organismo.
- ✓ Depuran la sangre, eliminando toxinas por sudoración y diuresis.
- ✓ Reactivan el metabolismo.
- ✓ Reeducan el sistema termorregulador.
- ✓ Provocan una dilatación en la red vascular, con el correspondiente flujo sanguíneo, tornando al organismo, resistente al frío.
- ✓ Tienen efectos revitalizadores sobre células y tejidos.
- ✓ Se obtienen resultados analgésicos y antiespasmódicos.
- ✓ Son sedantes del sistema nervioso [14].

Tabla 2. Propiedades terapéuticas atribuibles a diferentes tipos de agua.

Tipo de Agua	Acción Terapéutica
Sulfuradas	Antialérgicas, desintoxicantes
Cloruradas	Anticatarrales, antiinflamatorias
Sulfatadas	Colagogas, purgantes
Cálcicas	Antialérgicas, sedantes, antiinflamatorias
Ferruginosas	Antianémicas y reconstituyentes
Radiactivas	Equilibradoras, sedantes
Oligométálicas	Diuréticas

Fuente. Aguas naturales, minerales y mineromedicinales [4].

Tabla 3. Clasificación de las aguas minerales de acuerdo a su componente químico mayoritario.

Grupos	Características
Aguas Sulfuradas	Presencia de sulfuro y sulfuro de hidrógeno
Aguas Sulfatadas	El anión sulfato es predominante
Aguas Cloruradas	El anión cloruro es predominante
Aguas Bicarbonatadas	El anión bicarbonato es predominante
Aguas Oligominerales	Son ligeramente mineralizadas (menos de 1 g/l)

Fuente. Aguas naturales, minerales y mineromedicinales [4].

II.6. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

La población microbiana total, en el punto de emergencia de estos manantiales, puede ser alta, con una media de 10^6 por ml, pero muchos de estos microorganismos están en estado durmiente, son metabólicamente inactivos y no se multiplican por lo que el número de los viables suele ser pequeño, de 10^{-10} por ml, dependiendo de la temperatura de incubación y de los medios de cultivo empleados en su detección. Las bacterias autóctonas de las aguas crecen mejor en medios pobres en carbono y con tiempos de incubación prolongados [15].

El número de bacterias esporuladas es bajo, de 10 a 10^2 por ml. Hay bacterias termófilas que crecen a más de 45°C pero la mayoría son mesófilas con temperaturas óptimas a 37°C , que se adaptan a estas condiciones de elevada temperatura. Según sus requerimientos nutricionales predominan las bacterias heterótrofas oligotróficas, con escasos requerimientos de carbono y nitrógeno (oligocarbofilicas y oligonitrofilicas) [15].

En menor número se han encontrado microorganismos autótrofos, tanto quimiolitotrofos como fototrofos (cianobacterias, bacterias verdes y rojas). La 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 celulolíticas. Estos tipos de bacterias se consideran beneficiosas ya que intervienen en la autodepuración de las aguas si, de una forma accidental, sufren un aporte de materia orgánica [15].

En manantiales de aguas sulfurosas se encuentran bacterias que oxidan el azufre y el sulfhídrico (*Beggiatoa*, *Thermothrix*, *Thiobacillus*), así como bacterias sulfatorreductoras (*Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio*). Estas últimas se consideran perjudiciales ya que pueden producir corrosión en las conducciones de hierro debido a la producción de sulfhídrico [15].

En aguas ferruginosas es frecuente la presencia de bacterias que oxidan el ión ferroso a férrico obteniendo energía (*Clonothrix*, *Leptothrix*, *Leucothrix*, *Sphaerotilus*). Muchas de ellas son filamentosas y producen precipitados de óxido e hidróxido férrico que pueden originar obstrucciones y biocorrosiones en las conducciones. En manantiales clorurado sódicos e hipertónicos es frecuente la presencia de bacterias halófilas moderadas (*Halomonas*, *Micrococcus*, *Vibrio*) y halotolerantes (*Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Planococcus*) que resisten una elevada osmolaridad debido a complejos mecanismos de regulación interna [15].

En relación con las bacterias heterótrofas, las aguas hipertermales presentan una mayor proporción de bacterias Gram positivas mientras que en las mesotermas predominan los bacilos Gram negativos y los cocos

Gram positivos. La elevada temperatura de las aguas hipergeotermales puede ser la causa de esta diferencia ya que las bacterias Gram positivas son más resistentes al calor [15].

Los principales géneros identificados han sido: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* y *Arthrobacter*. El género *Pseudomonas* es muy ubicuo y se encuentra en ambientes acuáticos con pocos nutrientes, considerando a las especies del grupo fluorescente encontradas en estas aguas, como *P. fluorescens* y *P. putida*, población autóctona de manantiales meso e hipotermales. En estas aguas con menor temperatura también es frecuente la presencia de otros bacilos Gram negativos como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Aeromonas* [16].

Las numerosas especies del género *Bacillus* están ampliamente distribuidas y pueden proceder del suelo o de las propias aguas. La presencia de los cocos Gram positivos, *Staphylococcus* y *Micrococcus*, es frecuente en aguas minerales ya que resisten concentraciones altas de sal, aunque no se detectan especies propias del hombre. Otros géneros de cocos presentes en estas aguas son *Vagococcus*, *Planococcus* y *Marinococcus*, típicos de ambientes acuáticos dulces y marinos [16].

El género *Enterobacter*, a pesar de su pertenencia a la familia enterobacteriaceas, se considera que forma parte de la micropoblación autóctona ya que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. En ocasiones, principalmente en aguas hipergeotermales o carbónicas, se encuentran bacilos Gram positivos irregulares como *Arthrobacter*, *Kurthia*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Exiguobacterium*, *Rubrobacter*, y otros

difíciles de identificar, cuyo hábitat puede ser el suelo pero que se han adaptado a vivir en condiciones adversas [16].

II.7. MICROORGANISMOS EN AMBIENTES EXTREMÓFILOS

Los ambientes extremos tienen a niveles hostiles para el desarrollo de formas de vida compleja uno o varios de los parámetros ambientales de mayor relevancia para los seres vivos (temperatura, acidez, salinidad, presión o radiación). Los organismos que viven en estos ambientes se denominan extremófilos, son básicamente microorganismos y están perfectamente adaptados a estas duras condiciones. Los termófilos toleran temperaturas de hasta 115°C, los halófilos se desarrollan en salmueras, los piezófilos crecen a presiones de hasta 1100 atmosferas, los psicrofilos se reproducen a temperaturas inferiores a 5°C, los acidófilos viven a pH inferior a 5, y los alcalófilos pueden desarrollarse a pH superior a 9. [17]

Los ambientes capaces de albergar vida microbiana reflejan el amplio espectro de la evolución de estos organismos. Se han encontrado especies que viven a temperaturas comprendidas entre el punto de congelación y el punto de ebullición del agua, en agua salada y en agua dulce, en presencia y en ausencia de aire. Algunos han desarrollado ciclos de vida que incluyen una fase de latencia en respuesta a la falta de nutrientes [18].

Los microorganismos se hallan capacitados para acometer una extensa gama de reacciones metabólicas y adaptarse a muchos ambientes diferentes. Por su poco peso pueden ser transportados por las corrientes de aire y estar en todas partes, sin embargo, las características del ambiente determinan cuáles especies pueden multiplicarse. Existen varias clases de

microorganismos: mohos, levaduras, bacterias, actinomicetos, protozoos, algas, virus [18].

Los microorganismos extremófilos son microorganismos que viven en condiciones extremas, entendiéndose por tales aquellas que son muy diferentes a las que nosotros vivimos. Estos organismos cuentan con enzimas (catalizadores biológicos) que ayudan a funcionar en las circunstancias extremas de su entorno. Se distinguen porque sus procesos metabólicos son mediados por enzimas y proteínas que funcionan bajo condiciones extremas [19]. En este sentido Rodríguez, Alfaro y Oliart, expresan que “los termófilos se desarrollan a temperaturas por arriba de 45°C, como *Pyrolobus* quien prolifera a 113°C y poseen enzimas que pueden ser extremadamente termoestables, resistentes a los agentes químicos desnaturalizantes, solventes orgánicos y pH extremos” [20].

Entre los microorganismos extremófilos se encuentran las bacterias que son la forma de vida más antigua de la tierra y quizá la más abundante, estos organismos se adaptan a ambientes extremos y hostiles. Organismos Inferiores se encuentran “en el agua, en aguas residuales, en el suelo, en el polvo, en muchos alimentos, incluso en los llamados ambientes extremos, como las aguas termales, las aguas saturadas de sales o las profundidades oceánicas”. Las bacterias que viven en las fuentes termales o en las grietas hidrotermales de las profundidades marinas, lo hacen gracias a que su metabolismo depende del azufre [21].

La Red Nacional de Microorganismos Extremófilos, de España, sostiene la siguiente clasificación de los organismos extremófilos:

Termófilos: A medida que la temperatura ambiente aumenta, la velocidad a que se desarrollan las reacciones enzimáticas aumenta de forma proporcional, lo que implica un desarrollo más rápido del organismo. Esto sucede hasta llegar a una temperatura máxima, por encima de la cual ciertos componentes de la célula comienzan a degradarse de forma irreversible, cesando el crecimiento y sobreviniendo la muerte celular. Así mismo los hipertermófilos como el *Sulfolobus acidocaldarius* se desarrollan en temperaturas por encima de los 85° C. El más resistente al calor de estos microbios es el *Pyrolobus fumarii* que crece en las paredes de las fumarolas hidrotermales submarinas. Se reproduce mejor en ambientes de 105° C y se puede multiplicar en temperaturas de hasta 113° C. Curiosamente, deja de crecer a temperaturas por debajo de 90° C [17].

Psicrófilo: Se desarrollan en ambientes con temperaturas en torno a los 0° C, siempre que el agua se encuentre en estado líquido, gracias a que evitan la formación de cristales de hielo en su interior. *Chlamydomonas nivalis* es un alga microscópica que aparece en zonas de nieve dándole a ésta un intenso color verde o rojo. Esto es así porque vive en el interior de las capas de nieve en estado vegetativo y cuando las condiciones se vuelven imposibles, esporula en grandes cantidades y sus esporas son de color rojo. La *Polaromonas vacuolata* cuenta con una temperatura óptima para el crecimiento de 4° C [17].

Algunos psicrófilos hallados por investigadores en un túnel de Alaska volvieron a la vida una vez que se derritió el hielo que los rodeaba. Estas bacterias habían soportado estar congeladas durante 32.000 años y pudieron regresar a la vida "como si nada hubiera sucedido" a medida que se descongelaban [19].

Barófilos: son seres vivos que se desarrollan en ambientes con presión muy alta. Un ejemplo es el que se da en bacterias que habitan las fumarolas o brechas de la corteza terrestre en el suelo marino, a miles de metros de profundidad. Extraen su energía del sulfato de hidrógeno y de otras moléculas que emergen del suelo marino mediante la quimiosíntesis, que no requiere de la luz [17].

Tal como las plantas, las bacterias utilizan su energía para elaborar azúcares a partir de dióxido de carbono y agua. Los azúcares les proveen combustible y materia prima para el resto de las actividades de los microbios, que, a su vez, sirven de alimento a camarones, gusanos tubulares, almejas, peces, cangrejos y pulpos [19].

Todos ellos están adaptados a un ambiente extremo de oscuridad total; temperatura del agua variando entre 2° y 400° C (en las bocas de las fumarolas) y presiones cientos de veces superiores que las de la superficie del mar; además de altas concentraciones de sulfatos y otros elementos nocivos [19].

Alcalófilos: Se desarrollan en ambientes tan alcalinos (básicos) que parecen un detergente concentrado, y suelen estar asociados a sedimentos con una alta concentración de metano, recordando a lugares como Marte, los cometas, o las lunas heladas de Júpiter o Saturno [17].

Radiófilos: Soportan gran cantidad de radiación, tal como el hongo negro que vive en las paredes de Chernobyl, o como la bacteria *Deinococcus radiodurans*. Descubierta a 3,2 kilómetros de profundidad, asentadas en rocas de uranio, de manera que se alimentaban de su

radiación, además de elementos químicos similares a la lejía y de la roca sólida de su entorno [17].

Metanógenos: son capaces de generar metano (CH_4), un gas combustible, en condiciones anaeróbicas (sin oxígeno). Estos organismos viven en el fondo de depósitos acuáticos y en el rumen de algunos mamíferos herbívoros [17].

Halófilos: Se desarrollan en ambientes hipersalinos, como las del género *Halobacterium*, que viven en entornos como el Mar Muerto y tienen forma cuadrada. En organismos normales, la sal hace que mueran por deshidratación debido a la ósmosis. Si el entorno es salino, con mucha concentración de sales, el agua del interior de las células tiende a salir hacia su exterior [17].

Es decir, se desecan y mueren. Los halófilos cuentan con mecanismos que albergan en el interior de sus tejidos concentraciones de un soluto, compatible a las sales, mayores que en el exterior. Así, el agua penetra por ósmosis [19].

Anhidrobiosis: Viven en ausencia de agua. Ejemplo es el *Selaginellale pidophylla*[19].

Xerófilos: estos organismos se desarrollan en ambientes con muy baja humedad. En el desierto de Atacama y a una altura de 5.800 metros se ha localizado en el volcán Socompa una comunidad de microorganismos que viven gracias al dióxido de carbono (CO_2), agua y metano que les proporcionan las fumarolas volcánicas [19].

Acidófilos: Se desarrollan en ambientes de alta acidez, como el *Picrophilus*. En California, se han descubierto microbios increíblemente diminutos que viven cómodamente en un nivel de pH tan bajo como 0,5, equivalente al ácido de una batería, en el drenaje de las minas [19].

Los polisacáridos bacterianos pueden ser utilizados como espesantes, emulgentes o como principios activos válidos para diversos tipos de industria, como por ejemplo la alimentaria, la farmacéutica y la cosmética. Las bacterias halófilas, por otro lado, tienen un interés industrial, sobre todo en el mundo de los detergentes [22].

Por ejemplo, las proteasas y las lipasas son dos enzimas que el grupo de la *Hispalense* pretende caracterizar, y ambas son muy importantes para la mejora de los efectos de los detergentes, ya que la lipasa sirve para eliminar mejor las manchas de grasa, y la proteasa para eliminar las manchas de proveniencia proteica [19].

En los años 70, Thomas Brock, encontró en una fuente termal del Parque Nacional de Yellowstone la bacteria *Thermus aquaticus*. Su resistencia al calor permitió la creación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Este sistema permite hacer copias de ADN, fundamental para el desarrollo de la investigación biológica y genética (por ejemplo, para detectar genes de cáncer), el diagnóstico médico o los análisis forenses. Las enzimas resistentes al calor (termófilas) se han usado para obtener ciclodextrinas a partir del maíz, lo que ha permitido estabilizar sustancias volátiles, mejorar la toma de medicamentos y enmascarar olores desagradables [19].

Los organismos psicrófilos han dado lugar a mejoras en sectores relacionados con el frío, como las industrias del procesado de alimentos, los fabricantes de perfumes y fragancias o los de detergentes para lavado en frío. Los acidófilos permiten mejorar la digestibilidad de granos en el estómago de los animales, encontrándose de forma natural en yogures y otros alimentos [19].

Los alcalófilos similares a la lejía, se emplean para fabricar detergentes o para producir prendas vaqueras "al lavado de piedra". Los halófilos, propios de ambientes hipersalinos, se utilizan para aumentar la cantidad de crudo extraído de los yacimientos petroleros [19].

La habilidad de la vida de aprovechar estos tipos de energía geotérmica, genera interesantes posibilidades en otros mundos, como la luna Europa de Júpiter, que probablemente alberga agua líquida bajo su superficie de hielo. Europa es estrujada y estirada por fuerzas gravitacionales de Júpiter y los demás satélites galileanos. Es posible que la fricción de las mareas, caliente el interior de Europa lo suficiente como para mantener lo que podría ser el océano de agua líquida más grande del Sistema Solar [19].

La protoglobina (una forma primitiva de hemoglobina), hallada en el extremófilo *Aeropyrum pernix*, se apunta como un posible apoyo para la creación de sangre artificial [19].

II.8. TIPOS DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN LAS AGUAS MINERALES TERMALES O MINEROMEDICINALES

La diversidad de las especies que existen en un determinado hábitat es una consecuencia de la relación entre los organismos y el ambiente, y desde un punto de vista ecológico, nos interesa conocer porqué existe esta diversidad, cómo está organizada en la comunidad microbiana y qué valor tiene para la estructura y función de toda la comunidad [15].

Actualmente existe un gran interés por el estudio de la biodiversidad de los ambientes extremos con el fin de determinar cuáles son las características peculiares que permiten a estos microorganismos sobrevivir y qué papel tienen en los ciclos de la naturaleza. Las aguas minerales termales de los balnearios son uno de estos hábitats extremos ya que tienen altas temperaturas y elevadas concentraciones de sales, condiciones desfavorables para la vida de muchos seres vivos [15].

Sin embargo, desde hace tiempo se conoce que estas aguas minerales, como cualquier ambiente acuático natural, poseen una población microbiana autóctona que suele ser característica de cada tipo de agua y que depende de sus propiedades fisicoquímicas (temperatura, pH, sales minerales, nutrientes) [15].

También pueden encontrarse en ellas microorganismos alóctonos, procedentes de otros habitats (suelo, heces, vegetales), considerados contaminantes pero que coexisten con los anteriores, adaptándose a las condiciones adversas, siendo los de mayor interés sanitario *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella*, *Leptothrix*, *Beggiatoa*, *Micrococcus* y *Bacillus* [15].

II.9. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Durante mucho tiempo, el grupo de bacilos Gram Positivos anaerobios capaces de formar esporas se ha englobado en el género *Clostridium*. Este género se define por los cuatro rasgos siguientes: 1) presencia de endoesporas; 2) metabolismo anaerobio estricto; 3) incapacidad de reducir sulfato a sulfito, y 4) pared celular grampositiva. Incluso al aplicar este sistema general de clasificación, algunas especies del género dotadas de importancia médica se pueden clasificar de forma incorrecta [23].

Rara vez se logra demostrar la presencia de esporas en el caso de algunas especies (*Clostridium perfringens*, *Clostridium ramosum*), otras especies son aerotolerantes y son capaces de crecer en medios de agar expuestos a aire (como *Clostridium tertium*, *Clostridium histolyticum*), y algunos clostridios se tiñen de manera constante como gramnegativos (por ejemplo, *Clostridium ramosum*, *Clostridium clostridioforme*) [23].

El método tradicional para clasificar una cepa en el género *Clostridium* se basaba en la combinación de pruebas diagnósticas, que incluían la demostración de esporas, el crecimiento óptimo en condiciones anaerobias, un patrón complejo de reacciones bioquímicas y la detección de ácidos grasos volátiles característicos mediante cromatografía gaseosa. Con estos procedimientos se han definido 177 especies [23].

No obstante, debido a que la reclasificación de estos anaerobios formadores de esporas no ha finalizado aún y no disfruta de una aceptación generalizada [23].

III. ANTECEDENTES DE LA HIPÓTESIS

De la Rosa y colaboradores en un estudio realizado para determinar la microbiota de las aguas de los manantiales del balneario de Alicun de las Torres en España, señalan que ante la ausencia de indicadores fecales y microorganismos patógenos en ellas y dado el bajo número de bacterias viables en dichos manantiales concluyen que cumple con la normativa de agua para consumo humano y que la protección de los mismos es adecuada [24].

En otro trabajo, De la Rosa y colaboradores estudiaron dos manantiales de aguas bicarbonatadas hipotermas del balneario de Cervantes, en España. Los principales géneros de bacilos Gram negativos que identificaron fueron de los géneros *Burkholderia*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Ochrobactrum*. Los cocos Gram positivos fueron *Staphylococcus*, y los bacilos Gram positivos *Bacillus*. No encontraron indicadores fecales ni microorganismos patógenos [25]. De igual forma en otro estudio realizado por estos investigadores en el balneario Puente Viesgo (Cantabria), el agua mostro un número de microorganismos totales muy bajo, la mayoría vivos. La cepas de bacterias heterótrofas aisladas corresponden en su mayoría a bacilos Gram negativos, principalmente de la clase de Gammaproteobacteria y en menor proporción bacilos y cocos Gram positivos. Las principales especies identificadas fueron *Pseudomonas alcaligenes*, *P. stutzeri* y *Bacillus licheniformis* [26].

Mosquera realizo en el año 2012 un estudio donde evaluó el efecto antagónico de 17 cepas del género *Pseudomonas*, aisladas de tres piscinas del balneario “Aguas de Moisés”, Municipio Ribero, estado Sucre, Venezuela,

contra cuatro cepas indicadoras provenientes del centro venezolano de colecciones de microorganismos (CVCM) en distintos sustratos, también, midió la acción de diferentes sustratos en la actividad inhibitoria, en relación a la fase de crecimiento de las cepas productoras a cuatro horas distintas de incubación. Las 17 cepas del género *Pseudomonas* mostraron actividad antagónica contra cepas indicadoras *Escherichiacoli* K12 CVCM 178, *Pseudomonas aeruginosa* CVCM 787, *Bacillus subtilis* CVCM 591 y *Staphylococcus aureus* CVCM 636. Los mayores halos de inhibición producidos por cepas de *P. aeruginosa* y otras especies de *Pseudomonas* fueron contra las cepas indicadoras *S. aureus* y *B. subtilis*. Se evidenció un mayor efecto antagónico por el género *Pseudomonas* contra cepas de distintos géneros bacterianos, estas cepas de *P. aeruginosa* y *Pseudomonas spp.* Produjeron un mayor efecto inhibitorio en los medios con glucosa añadida en relación a los demás sustratos empleados [27].

En el año 2009, Alarcón y Correa realizaron un estudio de aislamiento y caracterización de microorganismos termófilos presentes en la fuente termal de aguas calientes Estado Táchira, recolectaron 8 muestras de agua tomada de 5 fuentes termales, se aislaron los clones, y hubo crecimiento a diferentes temperaturas a 55°C, a 37°C y a 25°C, con esto se conoció cuales clones eran termófilos y termo tolerantes, luego se evaluó el crecimiento en medios suplementados con azufre en concentraciones 0,5% y 2,5% gr/100 ml de azufre y en todos los medios hubo crecimiento de clones, luego de un nuevo repique incrementando la concentración de azufre a un 7,5% m/v, se realizaron 2 repiques cada 48 horas observándose un crecimiento muy lento, en este repique solo se mantuvieron el 62% de los clones y se observaron colonias considerablemente pequeñas respecto al medio anterior, se realizó un nuevo repique y no se observó crecimiento hasta 96 horas después de realizado el repique. Luego de mantener por varias semanas los

microorganismos en cultivo se observó una disminución en el crecimiento. De manera general de los 48 clones aislados en cada una de las 4 concentraciones en la que hubo un mejor crecimiento fue en la de 0,5% m/v el cual fue del 22,92% luego le siguió 2,5% m/v con el 12,5% de los clones y un 8,33% de crecimiento en 5% m/v, en la concentración más alta no se registró crecimiento [25].

www.bdigital.ula.ve

IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

IV.1. Hipótesis.

En el presente estudio se plantea como hipótesis que existe una microbiota bacteriana heterótrofa aerobia característica y escasa en las aguas de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero del Estado Mérida.

www.bdigital.ula.ve

IV.2. Objetivos

Objetivo General

Aislar e identificar bacterias heterótrofas aerobias en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida

Objetivos Específicos

- Aislar y cuantificar las bacterias heterótrofas aerobias presentes en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.
- Determinar y cuantificar la cantidad de coliformes presentes en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.
- Identificar taxonómicamente las colonias bacterianas aisladas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1. Materiales

A. Población y muestra

La población muestral estuvo conformada por muestras de agua del manantial de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.



Anexo 1: Mapa de la Ubicación geográfica de los manantiales de aguas termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida.



Anexo 2: Toma de muestras de agua de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, Estado Mérida.

Obtención de las muestras

Se realizaron dos muestreos donde se recolectaron tres muestras en envases de vidrio estériles, la primera de las muestras fue tomada del margen, la segunda de la naciente y la tercera de la parte central, con un volumen de 250 ml de agua termal; rotulándose e identificándose como M1, M2 y M3. Estas fueron trasladadas a temperatura ambiente y en la oscuridad al laboratorio, siendo analizadas antes de las 24 horas luego de la recolección.

B. Medios de cultivos

Se utilizaron medios de cultivos deshidratados provenientes de las casas comerciales así como los medios preparados directamente por el fabricante, como los medios Petrifilm. En el caso de los medios deshidratados, se esterilizaron a 15 PSI de presión y 120°C durante 30 minutos [25],

Agar Triptona Soja (TSA).

Agar Eosina Azul de Metileno.

Agar Levine.

Agar BHI.

C. Reactivos

Los reactivos utilizados fueron de grado analítico.

V.2. Metodología

V.2.1. Aislamiento y cuantificación de las bacterias heterótrofas aerobias presentes en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.

La cuantificación de bacterias heterótrofas aerobias se efectuó, por la técnica de dilución en placa. Se utilizó el medio Petrifilm, incubando a 22° C por 5 días. El volumen de muestra utilizado fue de 1 ml de agua del manantial termal sin diluir.

Una vez que se termina la incubación, se cuantificaron las colonias crecidas mediante la ayuda de un contador de colonias Quebec. Los resultados se expresaron como medias aritméticas de las unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml).

Algunas de las colonias más representativas y con morfología diferente se aislaron en Agar soya tripticasa (TSA) para su posterior identificación.

V.2.2. Cuantificación de la cantidad de coliformes presentes en las aguas de los manantiales termales ubicados en Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.

Se efectuó por la técnica de filtración a través de membrana. Se filtraron 100 ml de las muestras de agua a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,45 μ m de poro (Milipore) que se transfirió sobre Agar Eosina Azul de Metileno, contenido en una placa Petri. Se incubó a 37° C para coliformes totales y 44,5° C para coliformes fecales durante 24-48 horas. Finalizado el

tiempo de incubación se contaron las colonias crecidas, mediante la ayuda de un contador de colonias Quebec. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro de agua (ufc/ml).

Las colonias con morfología diferente se sembraron en Agar Levine para su posterior identificación.

V.2.3. Identificación taxonómicamente de las colonias bacterianas aisladas.

Las cepas aisladas de bacterias se identificaron por características morfológicas y fisiológicas. Las pruebas se realizaron según Barrow y Feltham [29] y fueron las siguientes:

www.bdigital.ula.ve

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las distintas determinaciones microbiológicas realizadas se resumen en la Tabla 4 y se muestran en el Gráfico 1.

Al observar los valores de la Tabla 4 se puede indicar que la cantidad de colonias de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas estuvieron presentes en todas las muestras analizadas, con valores entre 0 a 9 unidades formadoras de colonias por mililitro de agua (ufc/ml). Correspondiendo los mayores valores a la muestra de agua de la parte de la piscina (Tabla 4 y Gráfico 1).

No se encontró presencia de coliformes totales.

Para el caso de los coliformes fecales no se logró detectar su presencia en ninguna de las muestras analizadas (Tabla 4).

Tabla4. Bacterias heterótrofas aerobias mesófilas, coliformes totales y coliformes fecales en muestras de agua de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.

MUESTRAS	BACTERIAS		
	HETEROTROFAS	COLIFORMES	COLIFORMES
	AEROBIAS	TOTALES	FECALES
	MESOFILAS (UFC/ml)	(UFC/ml)	(UFC/ml)
M1	0	0	0
M2	3	0	0
M3	9	0	0

Fuente: Datos obtenidos del cuaderno de protocolo de reportes de laboratorio.

(ufc/ml): Unidades formadoras de colonias por mililitro. M1: Margen, M2: Naciente, M3: Parte Central

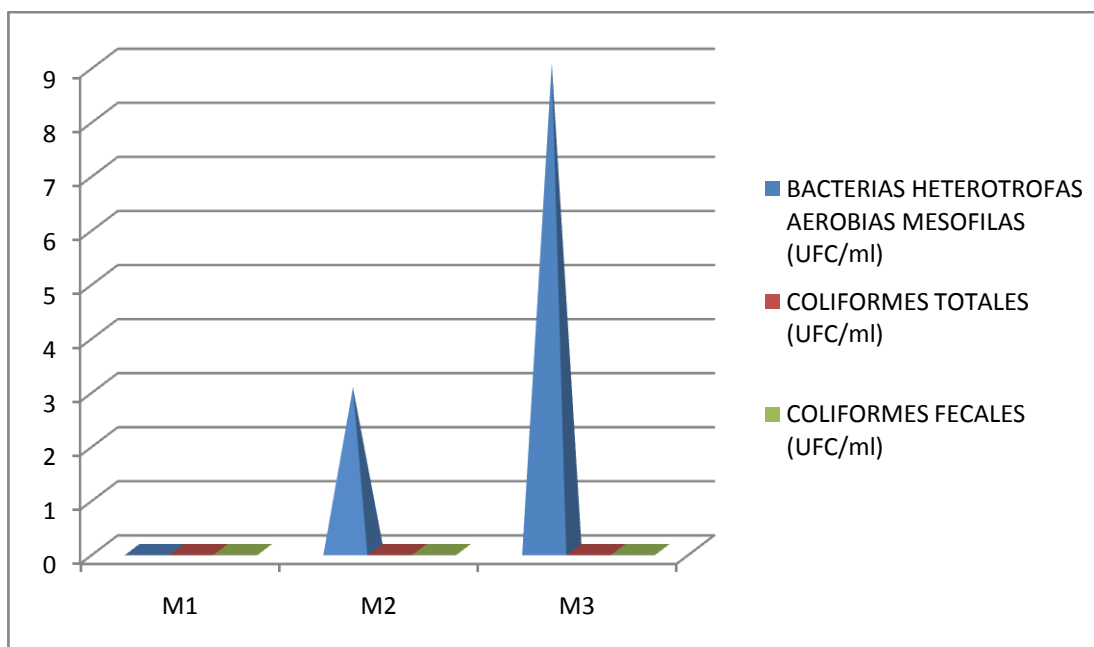


Gráfico 1. Bacterias heterótrofas aerobias mesófilas, coliformes totales y coliformes fecales de muestras de agua de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero, del Estado Mérida.

Fuente: Datos obtenidos del cuaderno de protocolo de reportes de laboratorio.

De las determinaciones microbiológicas realizadas se logró aislar un total de 12 cepas de bacterias, de las cuales 6 (50%) no pudieron sub cultivarse por lo que no pudieron ser identificadas a nivel de coloración de Gram. Lográndose identificar solo un total de 6 cepas (50%), correspondiendo 6 cepas a bacterias Bacilos Gram positivos Formadores de Esporas (Tabla 5 y Gráfico 2).

www.bdigital.ula.ve

Tabla5. Tipos de colonias bacterianas identificadas a nivel de coloración de Gram.

MUESTRA	CEPA	TIPO DE COLONIA
M2	1	Forma Explosiva
M2	2	Forma Explosiva
M2	3	Roja Sola
M3	4	Forma Explosiva
M3	5	Roja Sola
M3	6	Roja Sola
M3	7	Forma Explosiva
M3	8	Roja Sola
M3	9	Forma Explosiva
M3	10	Roja Sola
M3	11	Roja Sola
M3	12	Forma Explosiva

Fuente: Datos obtenidos del cuaderno de protocolo de reportes de laboratorio

M1: Margen, M2: Naciente. M3: Parte Central.

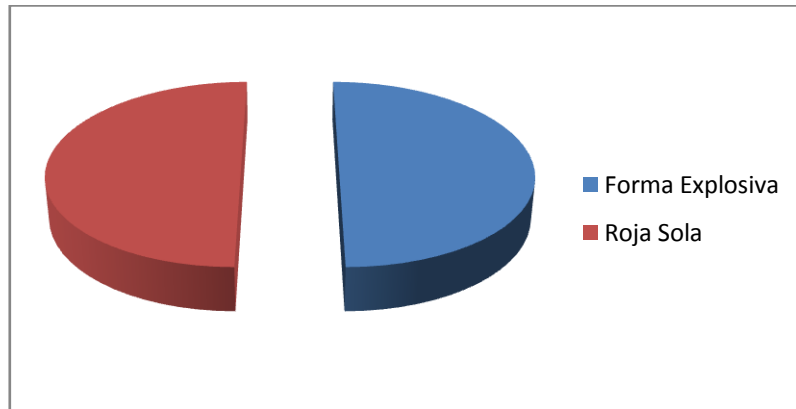


Gráfico2.Tipos de colonias bacterianas identificadas a nivel de coloración de Gram.

Fuente: Datos obtenidos del cuaderno de protocolo de reportes de laboratorio.

De las 6 colonias que pudieron ser identificadas a nivel de coloración de Gram, solo se pudieron identificar un total de 6 colonias (100%), Bacilos Gram positivos formadores de esporas.

VII. DISCUSIÓN

Dentro de las aguas naturales deben destacarse las denominadas aguas minerales. Se distinguen del resto de las aguas naturales en que poseen prácticamente invariables su caudal, temperatura y composición química y bacteriológica. Cuando presentan reconocida acción terapéutica estas aguas se denominan mineromedicinales [4].

El estudio de la biodiversidad microbiana de los ambientes extremos es un tema que ha despertado gran interés en la actualidad, esto con el fin de establecer las características distintivas de los microorganismos que se adaptan y sobreviven siendo parte indispensable en los diferentes ciclos naturales. En este caso por tratarse de aguas minerales termales, es un hábitat extremo de altas temperaturas, donde la población microbiana es autóctona debido a que cada tipo de agua termal tiene diferentes tipos de propiedades fisicoquímicas [15].

La composición química de las aguas subterráneas, al cabo de un determinado tiempo, se encuentra en equilibrio químico-físico con el contenido de gases y de fases sólidas disueltas. Estos equilibrios dependen de la temperatura y de la presión del sistema y cualquier

cambio en esas condiciones produce una variación en la composición química, que da lugar a una mayor disolución de los minerales o a la precipitación [4].

Las aguas minerales, su composición por lo general no refleja las propiedades del material acuífero de la zona de alimentación, sino más bien, las características del propio acuífero confinado, de las capas confinantes y de los flujos hidrotermales [10].

También puede haber en ellas microorganismos alóctonos, procedentes de otros hábitats, considerados contaminantes, que coexisten con los anteriores, pero es rara la presencia de indicadores fecales y bacterias patógenas. En los manantiales hipotermas predominan las bacterias Gram positivas mientras que en los mesotermas son los bacilos Gram negativos y los cocos Gram positivos [15].

Las bacterias autóctonas de las aguas crecen mejor en medios pobres en carbono y con tiempos de incubación prolongados. Hay bacterias termófilas que crecen a más de 45°C pero la mayoría son

mesófilas con temperaturas óptimas a 37°C, que se adaptan a estas condiciones de elevada temperatura [15].

Para la realización de este trabajo se realizó la toma de muestras en el año 2013, donde en las muestras de aguas analizadas, se detectaron la presencia de Bacilos Gram Positivos Formadores de Esporas contrario a los resultados de microbiología del manantial mineromedicinal del Balneario Puente Viesgo, donde se encontraron .Bacilos Gram Negativos no fermentadores, principalmente *Gammaproteobacteria*, del género *Pseudomonas* (43,2%), que son las bacterias predominantes en ese manantial, lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores en aguas minerales [25].

Los Bacilos Gram Positivos formadores de esporas pueden vivir varios años, se agrupan formando cadenas y las esporas se encuentran dentro de los Bacilos [31].

Si bien dentro de los bacilos Gram Positivos se encuentran algunos de los patógenos más agresivos para el ser humano, la gran mayoría de las especies bacterianas de este grupo no son patógenos primarios. Muchos forman parte de la flora normal del cuerpo humano (piel, tracto

gastrointestinal, cavidad oral) y se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Por este motivo, se debe ser cuidadoso en la interpretación del hallazgo de un Bacilo Gram Positivo en un estudio microbiológico, ya que frecuentemente se trata de contaminantes [20].

Los Bacilos son capaces de sobrevivir en medios hostiles mediante la formación de una estructura muy resistente, la endospora, la estructura con vida más resistente a los agentes físico químicos, y por tanto, a la esterilización y desinfección. La endoespora puede, en condiciones favorables, germinar y dar lugar a la célula vegetativa [17].

www.bdigital.ula.ve

Los Bacilos para su crecimiento utilizan fuentes de nitrógeno y carbono sencillas, las esporas son resistentes a los cambios del ambiente, soportan el calor seco, desinfectantes químicos durante períodos moderados [31].

Deben diferenciarse las esporas bacterianas, que constituyen una forma de resistencia y no tienen función reproductora, de la de los hongos, que tienen función reproductora, son externas, numerosas y que no confieren resistencia [17].

La enumeración de las bacterias heterótrofas aerobias provee una estimación del número total de bacterias viables y da información acerca de la calidad sanitaria del agua. De igual forma, permite juzgar la eficiencia de los sistemas de protección de los acuíferos en contra de la contaminación externa [32].

Se interpreta que cuando el resultado del número de bacterias heterótrofas viables es superior a 200 ufc/ml, se ha desarrollado algún problema bacteriano durante el almacenamiento o distribución del agua [33].

www.bdigital.ula.ve

Según sus requerimientos nutricionales predominan las bacterias heterótrofas oligotróficas, con escasos requerimientos de carbono y nitrógeno [15].

Los resultados del presente trabajo son comparables a los obtenidos por algunos investigadores en aguas minerales naturales europeas [34; 35;36].

Las aguas minerales termales constituyen ecosistemas oligotróficos donde los niveles de materia orgánica son sumamente bajos y con una

limitada biodisponibilidad. La población microbiana de estos ecosistemas son en su mayoría bacterias heterótrofas, que debido a los problemas en la carencia de nutrientes, entran en un estado de sobrevivencia denominado “viables no cultivables” [37; 38] y por ello se consiguen valores muy bajos cuando se intenta aislarlas en medios de cultivos apropiados [39].

Un gran número de las bacterias que se encuentran en estas aguas presentan un crecimiento lento y requerimientos nutricionales muy específicos y sólo se detectan de un 5-10 % de las bacterias [40; 41].

El hecho de tener un bajo número de bacterias heterótrofas viables indica que el perímetro de protección de los manantiales es el adecuado. El crecimiento desmesurado de las ciudades, aunado a la creciente intervención del hombre sobre su entorno, ha traído como consecuencia que muchas de las fuentes naturales de agua mineral se hayan contaminado, alterando de esta manera su composición química y microbiológica. Sin embargo, otras son vigiladas cuidadosamente para evitar que cualquier intervención perjudicial altere sus características organolépticas y microbiológicas, como los manantiales analizados [49].

Las bacterias heterótrofas no suelen fermentar los azúcares pero son proteolíticas, amilolíticas, amonificantes y en menor número celulolíticas. Estos tipos de bacterias se consideran beneficiosas ya que intervienen en la autodepuración de las aguas si, de una forma accidental, sufren un aporte de materia orgánica [15].

En los resultados obtenidos en el análisis de las 3 muestras no encontramos la presencia de coliformes fecales. La escasa presencia de bacterias de origen entérico en los ecosistemas acuáticos se debe a que su supervivencia se ve afectada por diferentes factores bióticos y abióticos: temperatura, concentración de nutrientes y sales [42; 43; 44] incluso las bacterias autóctonas ejercen un efecto inhibitorio sobre ellas [45; 46]. Por esta razón numerosos autores no las han detectado en aguas mineromedicinales españolas [47; 48].

La población microbiana total, en el punto de emergencia de estos manantiales, puede ser alta, con una media de 10^6 por ml, pero muchos de estos microorganismos están en estado durmiente, son metabólicamente inactivos y no se multiplican por lo que el número de los viables suele ser pequeño, de $10-10^3$ por ml, dependiendo de la

temperatura de incubación y de los medios de cultivo empleados en su detección [15].

En comparación con los balnearios de Jaraba son similares ya que en ambos estudios no se encontraron indicadores fecales ni microorganismos patógenos [49].

Los manantiales termales poseen una gran diversidad microbiana aunque no es específica de cada uno de ellos. Los manantiales con pH alcalino tienen poca diversidad microbiana, encontrándose *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Exiguobacterium* que pueden vivir a estos pH y los de pH ácido presentan un número de bacterias muy pequeño, principalmente bacilos Gram positivos irregulares. En los manantiales hipotermales predominan las bacterias Gram positivas y en los hipertónicos, con alto contenido en cloruro sódico, abundan los microorganismos halófilos moderados [15].

Las aguas minerales naturales contienen generalmente un número importante de bacterias, pero sólo una pequeña porción son cultivables. La microbiota autóctona de estas aguas es oligotrófica y crece con pequeñas cantidades de nutrientes [49]

Los compuestos liberados por la lisis de las células bacterianas muertas parece ser suficiente para permitir el crecimiento bacteriano [49].

En comparación con la microbiología del agua mineromedicinal del Balneario "El Paraiso" de Manzanera, el número de bacterias viables tanto en el punto de emergencia como en el agua de bebida ha sido muy bajo y cumple los límites de las aguas potables. Se detectan más bacterias en el medio con menor contenido en nutrientes (R_2A) y no se han encontrado a 37°C lo que demuestra que son bacterias autóctonas del agua, mesófilas y oligotróficas. Estas cifras son menores que las encontradas en otros manantiales fríos, salinos (9, 12) y carbónicos (13). La presencia de un pequeño número de bacterias autóctonas indica una buena protección el manantial [35].

Desde el punto de vista sanitario, las aguas termales no suelen tener bacterias patógenas ni indicadores fecales pero en algunos manantiales se han detectado coliformes, enterococos, *Costridium* 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 formando "biofilms" [15]

Los manantiales termales estudiados poseen una gran diversidad microbiana aunque no es específica de cada uno de ellos. Sin embargo, se observa cierta relación entre algunos microorganismos y las aguas con características fisicoquímicas más extremas de pH, temperatura, salinidad y radiactividad, donde se presentan un número de bacterias muy pequeño, principalmente Bacilos Gram Positivos [15].

En los manantiales hipertermales predominan las bacterias Gram Positivas y en los hipertónicos, con alto contenido en cloruro sódico, abundan microorganismos halófilos moderados. Los manantiales carbónicos presentan mayor proporción de bacterias anaeróbicas facultativas que aerobias estrictas ya que la cantidad de oxígeno disuelto es bajo [15].

VIII. CONCLUSIONES

Las aguas naturales adquieren su composición química mediante un proceso complejo, donde intervienen factores de tipo químico-físico, geológico, hidrogeológico, geomorfológico, pedológico, climático, antrópico y otros [4].

Las aguas minerales de balnearios termales presentan una gran diversidad de microorganismos autóctonos característicos de cada tipo de agua y que dependen de sus propiedades fisicoquímicas. Predominan las bacterias heterótrofas oligotróficas del género *Bacillus*. En menor número se encuentran microorganismos autótrofos (quimilitotrofos y fototrofos). También puede haber en ellas microorganismos alóctonos, procedentes de otros hábitats, considerados contaminantes, que coexisten con los anteriores, pero es rara la presencia de indicadores fecales y bacterias patógenas. En los manantiales hipertermales predominan las bacterias Gram positivas mientras que en los mesotermas son los bacilos Gram negativos y los cocos Gram positivos [15].

Se observa una cierta relación entre algunos microorganismos y las aguas con características fisicoquímicas más extremas de pH, temperatura,

salinidad y radiactividad. Los manantiales con pH alcalino tienen poca diversidad microbiana, encontrándose *Bacillus* que pueden vivir a estos pH y los de pH ácido presentan un número de bacterias muy pequeño, principalmente bacilos Gram positivos irregulares. En los manantiales hipertermales predominan las bacterias Gram positivas [15].

En las aguas minerales termales del Sector Santa Apolonia el perímetro de protección de los manantiales es el adecuado y las aguas no mostraron signos de contaminación fecal y por lo tanto son aptas para su uso como balneario de aguas termales.

www.bdigital.ula.ve

En los manantiales existe un claro predominio de Bacilos Gram Positivos, lo cual lleva a pensar en una colonización de este microorganismo en ese ecosistema.

Se comprueba la hipótesis del trabajo, puesto que si existe una microbiota bacteriana heterótrofa aerobia característica y escasa en las aguas de manantiales termales de Santa Apolonia, Municipio Tulio Febres Cordero del Estado Mérida.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Méndez Flores Avilio. Aguas termales. [Documento en línea]. Venezuela. 2012. [Fecha de acceso 23 de Marzo, 2012]. URL disponible en: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/853>
2. Rodríguez, Alfaro y Oliart. Aislamiento y caracterización parcial de microorganismos de aguas termales. [Documento en línea]. [Fecha de acceso: 25 de marzo, 2012] URL Disponible en: www.smbb.com.mx/congreso%20smbb/veracruz01.
3. Urbani Franco. Fuentes de Aguas Termales en Venezuela. PDVSA. Venezuela. 1991.
4. Fagundo C. Juan R., Gonzáles H. Patricia. Aguas naturales, minerales y mineromedicinales. [Documento en línea]. [Fecha de acceso 13 de Agosto, 2013]. URL disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/mednat/docs/aguas.pdf>
5. TERMARED. Red de Cooperación para el Desarrollo Termal en el Sudoe. [Página Web]. [Fecha de acceso 24 de Septiembre, 2013].

URL disponible en:

http://www.termared.com/Investigacin/seccion=1178&idioma=es_ES.d
[o](#)

6. Bonfada, P.; Lopes, B. (2011). El turismo de salud y el uso terapéutico del agua. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Vol. 20.
7. Parada, G. (2012). El Agua Virtual: Concepto y Aplicaciones. Universidad de los Andes Mérida Venezuela. Orinoquia Vol 16.
8. Saz, P.; Galvez, J.; Ortiz, M.; Saz S. (2011). Agua y Salud. Balneoterapia. Rev. Offarm. Vol. 30.
9. Fagundo C. Juan R. (1990). Evolución química y relaciones empíricas en aguas naturales. Efecto de los factores geológicos, hidrogeológicos y ambientales, Hidrogeología.
10. Fagundo C. Juan R. (1999). Propiedades físico-químicas de las aguas minerales y origen de su composición. Centro Nacional de Termalismo "Víctor Santamarina". [Documento en línea]. [Fecha de acceso 16 de Agosto, 2013]. URL disponible en:
<http://www.fagundojr.com/documentos/Conferencia%203.pdf>

11. Maraver E. Francisco y Colaboradores. Vandemécum de Aguas Mineromedicinales Españolas. Instituto de Salud Carlos III. Madrid – España.
12. Lagarto, A.; Bernal, I. (2002). Utilización terapéutica de las aguas y fangos mineromedicinales. Rev. Cubana Farm. Vol. 36.
13. Martinez, M.; Abellan, J.; Leal, M.; Gomez, P., Ortin, E. (2009). Influencia de la balneoterapia sobre la presión arterial. Estudio balneotens. Cátedra de Riesgo Cardiovascular de la Universidad Católica de Murcia, Murcia, España. Rev. Hipertensión y Riesgo Vascular. Vol. 30.
14. Gubert, Agustín F. (2008). “Termalismo en Argentina”. Termasalud.com - Cámara Argentina de Termalismo y Turismo Salud. [Página Web]. [Fecha de acceso 28 de Septiembre, 2013]. Disponible en:
www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacionbal/termalismo_en_argentina.pdf

15. De La Rosa María y Mosso María. Diversidad microbiana de las aguas minerales termales. Panorama actual de las Aguas Minerales y Minero-medicinales en España. [Documento en línea]. España. 2000. [Fecha de acceso 23 de Marzo, 2012]. URL disponible en: <http://aguas.igme.es/igme/publica/pdfart3/diversidad.pdf>
16. Mosso María, De La Rosa María, Vivar Carolina y Medina María. Poblaciones de bacterias heterotróficas en las aguas minerales de los manantiales termales de España J. App. Bacteriol. España. 1994.
17. Red Nacional De Microorganismos Extremófilos. X Reunión De La Red Nacional De Microorganismos Extremófilos. Programa y Abstracts. Santa Susanna, España. 2010.
18. Carrillo Leonor Carrillo. Microorganismos. [Documento en línea]. Argentina. 2003. [Fecha de acceso 27 de Marzo, 2012]. URL disponible en: www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micogricap/.pdf.
19. Amils Ricardo. Ciencia Popular. [Documento en línea]. 2008. [Fecha de acceso 25 de Marzo, 2012]. URL disponible en: http://www.cienciapopular.com/n/Biologia_y_Fosiles/Extremofilos/Extremofilos.php

20. Rodríguez, Alfaro y Oliart. Aislamiento y caracterización parcial de microorganismos de aguas termales. [Documento en línea]. [Fecha de acceso: 25 de marzo, 2012] URL Disponible en: www.smbb.com.mx/congreso%20smbb/veracruz01.
21. OrganizationPhp web quest. Organismos Inferiores. [Documento en línea]. [Fecha de acceso: 23 de marzo, 2012] URL Disponible en: <http://phpwebquest.org>
22. La Flecha. Tu diario de ciencia y tecnología. [Documento en línea]. 2011. [Fecha de acceso: 23 de marzo, 2012] URL Disponible en: www.laflecha.net.
23. Murray, Patrick R., Rosenthal, Ken S. y Pfaller Michael A. (2008). Microbiología Médica. Barcelona España. 5ta Edición.
24. De la Rosa M, (2009). Microbiología de los manantiales mineromedicinales del balneario Alicun de las Torres, Madrid. España. Anales de la Real Academia de Farmacia. Volumen 75.

25. De la Rosa M, Sanchez M, Rodriguez C, Mosso M. (2007). Microbiología del manantial mineromedicinal del Balneario Puente Viesgo.
26. Alarcón F, Correa W. (2009). Aislamiento y Caracterización de Microorganismos termófilos presentes en la fuente termal de aguas calientes estado Táchira. Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Mérida, Venezuela.
27. Mosquera, J. Efecto Antagónico de *Pseudomonas* spp. aisladas de las Pozas Termales “Aguas de Moises”, Cariaco, Municipio Riber Estado Sucre. Universidad de Oriente Nucleo Sucre. Documento en línea]. 2012. [Fecha de acceso: 23 de marzo, 2012] URL Disponible en: http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/3904/1/TESIS_JM.pdf.
28. Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación*. (2ª. ed.). Caracas Venezuela: Episteme.
29. Barrow, G. Feltham, RKA (1993). (Cowan and Steel's manual for the identification of medical Bacteria) Ed. Cambridge University Press, Cambridge UK..

30. Gastón de Iriarte, E (1975). Microbiología Técnicas, controles y análisis clínicos. Ed. Augusta. Barcelona España.
31. Díaz, L. (2007). Bacilos Gram Positivos formadores de esporas. Bacillus y Clostridium. Universidad Iberoamericana.
32. Leclerc, H.; Moreau, A. (2002). Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS.Microbiol. Rev.* 26: 207-222.
33. Mosso, M.A.; De la Rosa, M.C.; Díaz, F.; Gastón de Iriarte, E. (1981). Microbiología del agua de Carabaña.
34. Defives, C.; Guyard, S.; Oulare, .M.; Mary, P.; Hornez, J.P. (1999). Total counts, culturable and viable, and non-culturable microflora of a French mineral water: A case study. *J. Appl. Microbiol.* 86: 1033-1038.
35. De la Rosa, M.C; Mosso, M.A.; Prieto, M.P. (2001). Microbiología del agua mineromedicinal del Balneario “El Paraíso” de Manzanera (Teruel). *An. R. Acad. Farm.* 67: 173-183.

36. Mosso, M.A.; Sánchez, M.; de la Rosa, M.C. (2002). Microbiología del agua mineromedicinal de los balnearios de Alhama de Granada. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 68: 381-405.
37. Byrd, J.; Xu, H.; Colwell, R. (1991). Viable but nonculturable bacteria in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 875-878.
38. Mukamolova, G.; Kaprelyants, A.; Kell, D.; Young, M. (2003). Adoption of the transiently non-culturable state a bacterial survival strategy. *Adv. Microb. Physiol.* 47: 65-129.
39. Leclerc, H.; Moreau, A. (2002). Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiol. Rev.* 26: 207-222
40. Massa, S.; Caruso, M.; Trovatielli, F.; Tosques, M. (1998). Comparison of plate count agar and R₂A medium for enumeration of heterotrophic bacteria in natural mineral water. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 727-730.
41. Rappe, M.; Giovannoni, S. (2003). The uncultured microbial majority. *Annu. Rev. Microbiol.* 57: 369-394.

42. Burge, S.; Hunter, P. (1990). The survival of enteropathogenic bacteria in bottled mineral water. *Riv. Ital. Ig.* 50: 401-406.
43. Boualam, M.; Mathieu, L.; Fass, S.; Cavard, J.; Gatel, D. (2002). Relationship between coliform culturability and organic matter in low nutritive waters. *Water Res.* 36: 2618-2626.
44. Signorile, G.; Bagordo, F.; De Donno, A.; Montagna, M. (2002). Evolution of microbial flora and organic matter in bottled mineral water. *Ig. Sanita. Pubbl.* 58: 55-62.
45. Vachee, A.; Mossel, D.; Leclerc, H. (1997). Antimicrobial activity among *Pseudomonas* and related strains of mineral water origin. *J. Appl. Microbiol.* 83: 652-658.
46. Messí, P.; Guerrieri, E.; Bondi, M. (2005). Antibiotic resistance and antibacterial activity in heterotrophic bacteria of mineral water origin. *Sci. Total Environ.* 346: 213-219.
47. De la Rosa, M.C.; Mosso, M.A.; Díaz, F.; Castellanos, J. (1987). *Microbiología de los manantiales de aguas mineromedicinales del*

balneario de Fortuna. Memoria N° 13. Real Academia de Farmacia.
Madrid. España.

48. De la Rosa, M.C.; Mosso, M.A.; Vivar, C.; Medina, M.R.; Arroyo, G.;
Díaz, F. (1993). *Microbiología de las aguas mineromedicinales del
Balneario de la Toja*. Memoria N° 19. Real Academia de Farmacia.
Madrid. España.

49. De la Rosa, M.C.; Andueza, F.; Mosso, M.A.; Rodríguez, M.C. y
Sánchez, M.C. (2004). *Microbiología de las aguas mineromedicinales
de los Balnearios de Jaraba*. Real Academia de Farmacia. Madrid.
España.

www.bdigital.ula.ve **ANEXOS**

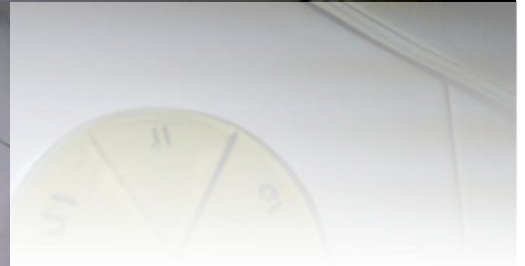
Anexo 3. Entrada a las Aguas Termales de Santa Apolonia.



Anexo 4. Muestras



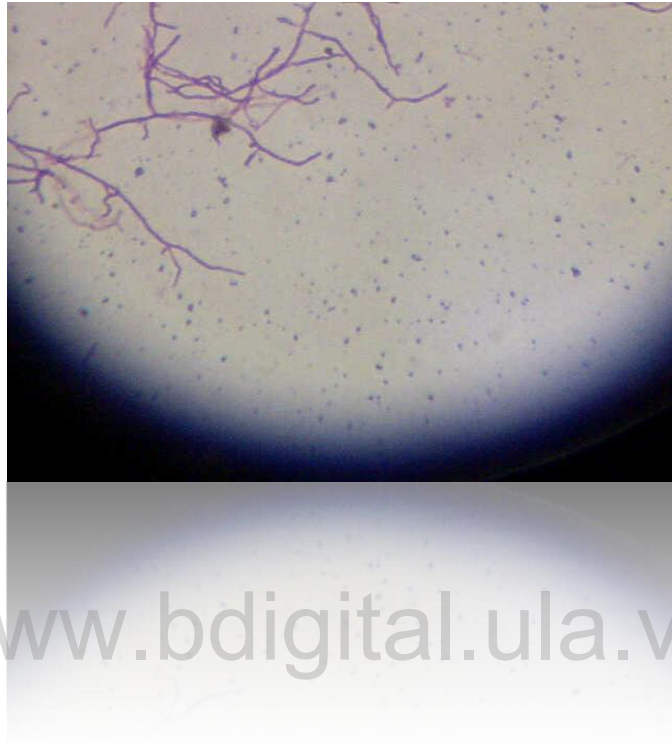
Anexo 5. Aislamiento de Colonias.



Anexo 6. Cepas.



Anexo 7. Observación.



www.bdigital.ula.ve

Anexo 8. Petrifilm.

