

## Artículo original

# Aislamiento y caracterización de bacterias cultivables de las aguas mesotermales de La Musuy, municipio Rangel del estado Mérida, Venezuela

María Gabriela Gutiérrez<sup>a,\*</sup>, Félix Andueza<sup>b</sup>, Judith Araque<sup>a</sup>, Ángela Lugo<sup>c</sup>, Zarack Chacón<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Microbiología de Aguas, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>b</sup>Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. <sup>c</sup>Laboratorio de Zoonosis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. <sup>d</sup>Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Recibido 11 de julio de 2017; aceptado 22 de enero de 2018

**Resumen:** Las aguas termales han sido utilizadas con fines terapéuticos y recreativos. Su contenido de minerales y características fisicoquímicas han sido ampliamente descritos. No obstante, su estudio microbiológico pudiera mejorar la comprensión de las adaptaciones metabólicas a este tipo de hábitats, su diversidad bacteriana y calidad sanitaria. El objetivo del presente trabajo fue analizar la composición bacteriana y calidad microbiológica de las aguas mesotermales de La Musuy, mediante la técnica de recuento en placa, así como la producción de enzimas y resistencia a antimicrobianos de las especies aisladas. Se cuantificaron coliformes totales entre 25 a 1.600 UFC/mL y coliformes fecales entre 15 a 200 UFC/mL. Se identificaron mediante galerías API las especies *Brevundimonas vesicularis*, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes denitrificans*, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas fluorescens* y *Weeksella virosa*. La especie *B. cepacia* fue resistente a ácido nalidixico, amoxicilina-ácido clavulánico y cloranfenicol, mientras que *A. hydrophila* fue resistente a ampicilina. Cuatro de las cepas aisladas evidenciaron actividad biológica proteolítica, dos cepas amilolíticas y una cepa lipolítica, actividades consideradas de interés biotecnológico. Las aguas termales analizadas no son aptas para el consumo humano. Se recomienda adoptar medidas higiénicas durante su uso para evitar la posible transmisión de enfermedades.

**Palabras clave:** aguas mesotermales, bacterias cultivables, actividad amilolítica, actividad lipolítica, actividad proteolítica, susceptibilidad antimicrobiana.

## Isolation and characterization of cultivable bacteria from the mesothermal waters of La Musuy, at the Rangel municipality, Merida State, Venezuela

**Abstract:** Thermal waters have been used for therapeutic and recreational purposes. Its mineral content and physicochemical characteristics have been widely described. However, its microbiological study could improve the understanding of metabolic adaptations to this type of habitat, its bacterial diversity and health security. The objective of this work was to analyze the bacterial composition and microbiological characteristics of the mesothermal waters of La Musuy, using the plate counting technique, as well as the production of enzymes and antimicrobial resistance of the isolated species. Our findings were: total coliform count range 25 to 1.600 CFU/mL and faecal coliforms between 15 to 200 x CFU/mL. The species recovered *Brevundimonas vesicularis*, *Burkholderia cepacia*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes denitrificans*, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas fluorescens* and *Weeksella virosa* were identified by API galleries. *B. cepacia* was resistant to nalidixic acid, amoxicillin-clavulanic acid and chloramphenicol, while *A. hydrophila* was resistant to ampicillin. Four of the isolated strains showed proteolytic activity, two strains had amylolytic capacity and one strain with lipolytic activity, were considered of biotechnological interest. The thermal waters studied are not suitable for human consumption. Hygienic measures should be taken during their use to prevent the risk of infectious diseases.

**Keywords:** mesothermal waters, cultured bacteria, amylolytic activity, lipolytic activity, proteolytic activity, antimicrobial susceptibility.

\* Correspondencia:

E-mail: mggutierrez@ula.ve

### Introducción

La calidad de las aguas termales, su temperatura y con-

centración de iones están relacionadas con las condiciones geológicas del suelo en el que brotan. Estas características particulares crean un ambiente en el que existen especies

microbianas adaptadas a las condiciones presentes, haciendo de las aguas termales una fuente de microorganismos con posibles aplicaciones biotecnológicas de interés industrial y biorremediación [1-5].

Es bien conocido que las aguas termales han sido utilizadas para aliviar trastornos musculares, circulatorios, respiratorios y otras afecciones [6-11]. Particularmente, en países como España, Francia y Portugal, existe una cultura de uso y preservación de las fuentes termales con fines curativos, resultando en una gran afluencia de usuarios, especialmente pacientes inmunocomprometidos, siendo de gran importancia garantizar su calidad microbiológica para evitar la transmisión de enfermedades [12].

En Latinoamérica, especialmente en Argentina, Colombia, México, Perú y Venezuela, se han realizado estudios para conocer la microbiota, establecer indicadores de calidad sanitaria y las potencialidades biotecnológicas de estos ecosistemas [13]. En Venezuela, para el año 1970, se habían reportado cerca de cincuenta localidades con fuentes de aguas termales. Las temperaturas de estas fuentes se encuentran entre 5-6 °C por encima de las temperaturas medias locales. Particularmente Mérida es uno de los estados con mayor cantidad de aguas termales, distribuidas en tres fajas a lo largo de su geografía [14]. En este estudio se analizó la microbiota heterótrofa viable cultivable presente en las aguas mesotermas de La Musuy, municipio Rangel del estado Mérida, su calidad sanitaria y la actividad biológica de las especies aisladas.

## Materiales y métodos

El presente estudio corresponde a una investigación de tipo descriptiva, diseño experimental transeccional, cuyo muestreo y mediciones se realizaron en las aguas mesotermas de La Musuy el 10 de septiembre de 2016 a las 09:15 am. Estas aguas se localizan al oeste de Mucuchíes, municipio Rangel del estado Mérida. En la zona se encuentran dos pozos, separados entre sí por aproximadamente 3 metros de distancia. Un pozo superior ubicado a mayor altura de la formación rocosa, el cual cuenta con su propia naciente y comprende un área aproximada de 1 m<sup>2</sup>; se accede por el lateral derecho, encontrándose bordeado de herbáceas y pequeños arbustos, mientras que por el lateral izquierdo está flanqueado por una roca de gran tamaño, a modo de pared montañosa. Seguidamente, a menor altitud se encuentra un pozo inferior, de superficie más amplia (aproximadamente 5 m<sup>2</sup>), con mayor afluencia de visitantes.

Para realizar la presente investigación se utilizó un muestreo no probabilístico a conveniencia; para ello se seleccionó el pozo superior, debido a que este es el menos intervenido por el hombre, motivado a la dificultad para su acceso. Se seleccionaron cuatro puntos de muestreo en total, dos puntos en la naciente (identificados como NM1 y NM2) y dos en el pozo colector (identificados como PM1 y PM2). Las muestras se recolectaron utilizando envases de vidrio con tapa estériles, debidamente rotulados con los datos de

la localidad y del punto específico de muestreo, procurando efectuar la extracción del agua de manera aséptica. En cada punto de muestreo, se tomaron muestras por duplicado de un volumen de 500 mL de agua termal para cada muestra. Se trasladaron en cavas hasta el laboratorio para efectuar los análisis el mismo día de la toma.

Adicionalmente, el sitio de muestreo fue georreferenciado utilizando un GPS Oregon 550, con la finalidad de obtener las coordenadas geográficas, altitud (m s. n. m.) y presión atmosférica (mmHg). También se realizó un registro de la temperatura del agua (°C) mediante un termómetro de mercurio de escala 1-100 °C, así como de la temperatura ambiental (°C) y humedad relativa (%HR) por medio de un termohigrómetro Extech. La conductividad del agua (Ohmio/cm) se determinó en el laboratorio usando un conductímetro Hanna.

### Determinación de indicadores de calidad sanitaria:

*Bacterias aerobias mesófilas (BAM):* Se utilizaron placas de agar plate count (Himedia, India) y se incubó en estufa (Mettler, Alemania) a 30 °C durante 48 h. Se realizó el conteo de colonias características (redondeadas, color beige, bordes enteros) una vez finalizada la incubación [15].

*Coliformes totales y fecales:* Se utilizaron placas de agar eosina azul de metileno (Himedia, India), sembrando dos series por duplicado de las muestras e incubando en estufa, la mitad de las placas a 37 °C durante 48 horas para la determinación de coliformes totales y la otra mitad a 44,5 °C en baño de agua (Mettler, Alemania) para la detección de coliformes fecales. Se consideraron colonias características aquellas de color negro con apariencia mucosoide y brillo metálico [15].

*Determinación de Pseudomonas aeruginosa:* Se utilizó agar cetrimida (Himedia, India) y la incubación se realizó a 37 °C durante 48 horas, considerándose características de la especie *P. aeruginosa*, aquellas colonias pequeñas de color azul-verdoso [15].

*Mohos y levaduras:* Se realizó siembra en profundidad en placas de agar Sabouraud dextrosa (Himedia, India) y se incubó a temperatura ambiente durante 5 a 7 días procediendo al recuento finalizado este tiempo [15].

*Aislamiento de bacterias heterótrofas viables cultivables:* Se sembró cada muestra por duplicado en agar nutritivo y se incubó la mitad de las placas a temperatura ambiente (aproximadamente a 25 °C) y la otra mitad en estufa a 37 °C durante 48 horas. Finalizado el tiempo de incubación, las colonias más representativas con diferente morfología se sembraron en placas de agar BHI (Himedia, India) con la finalidad de obtener colonias aisladas por agotamiento y realizar su posterior identificación [15].

*Identificación microbiológica de las bacterias aisladas:* Inicialmente la identificación se realizó por pruebas bioquímicas convencionales [16-17], y fue confirmada mediante galerías API® 20E (bioMérieux, Francia) para bacilos gramnegativos fermentadores (BGNF), y galerías

API® 20NE para bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF).

**Determinación de la resistencia antimicrobiana:** Se ensayó la susceptibilidad de dos de las cepas identificadas taxonómicamente mediante la prueba de difusión del disco establecida por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [18]. Los antibióticos ensayados fueron: amikacina, ampicilina, ácido nalidíxico, aztreonam, cefotaxime, ciprofloxacina, eritromicina, imipenem, meropenem, netilmicina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim-sulfa.

**Determinación de actividad biológica:**

**Biodegradación del almidón:** Se sembraron placas por duplicado del microorganismo a ensayar en agar almidón y se incubaron a 30 °C por 48 horas. Se agregaron tres gotas de lugol para revelar la presencia de halos claros que no se colorean, lo que indica positividad de la prueba [17].

**Biodegradación de celulosa:** Se sembraron por duplicado los microorganismos a estudiar en tubos de ensayo conteniendo celulosa azul y se incubaron a 30 °C por una semana, examinando diariamente la posible aparición de un color azul característico en el medio de cultivo [17].

**Biodegradación de lípidos:** Se sembraron los microorganismos en placas de agar tributirina y se incubaron a 30 °C por 48 horas, examinando la presencia de halos claros alrededor de las colonias [17].

**Biodegradación de proteínas:** Se realizó la siembra por duplicado de los microorganismos a estudiar en agar leche descremada y se incubó a 30 °C por 48 horas. Se examinó la presencia de halos claros alrededor de las colonias, indicativos de la producción de caseinasas [17].

## Resultados y discusión

**Características bioclimáticas de la zona en estudio:** La zona en donde se encuentran ubicados los manantiales termales de La Musuy está a 8° 47' 51.6" N y 70° 51' 65" W, posee una altitud de 3.308 m s. n. m. y la presión atmosférica promedio es alrededor de 517,2 mmHg. La temperatura ambiental registrada al momento del muestreo fue de 18,2 °C y una humedad relativa de 56%. Las aguas termales de

la localidad registraron una temperatura media de 32 °C, es decir, que son aguas mesotermiales, y presentaron una conductividad de 510 Ohmio/cm, la cual se considera elevada y probablemente es debida al tipo de suelo existente y al hecho de que se originan en rocas graníticas, lo que hace inferir un alto contenido de minerales en su composición [19].

**Calidad sanitaria de los manantiales termales:** En relación a los valores promedio de los indicadores de calidad sanitaria determinados para la fuente termal La Musuy (Tabla 1), los resultados obtenidos indican la presencia de bacterias aerobias mesófilas (BAM) en sólo una de las muestras analizadas, correspondiente a la primera muestra tomada en el pozo (9,7 x10<sup>2</sup> UFC/mL).

A pesar de que en Venezuela no se cuenta con una normativa legal en relación al límite de aerobios mesófilos permitidos en aguas minerales, se considera que dicho valor es elevado y por tal razón no sería conveniente utilizar las aguas del manantial para el tratamiento de dolencias por vía oral (ingesta del agua), debido a que los recuentos elevados de aerobios pueden ser indicativos de la presencia de posibles bacterias patógenas.

Por otra parte, en estas aguas se encontró una alta proporción de coliformes en la totalidad de las muestras analizadas. Los coliformes totales resultaron con valores promedio entre 25 y 1.600 UFC/mL, mientras que los coliformes fecales se encontraron entre 15 y 200 UFC/mL, lo cual es indicativo de la presencia de contaminación por materia fecal en las aguas, posiblemente debido a la cercanía de las zonas de pastoreo de ganado o a la poca protección ambiental que se le da a la fuente termal.

En otro estudio similar, Dugarte [20] analizó la calidad bacteriológica de las aguas termales de Tabay, estado Mérida, evidenciando la presencia de gran cantidad de enterobacterias; identificó la especie *Enterobacter sakazakii* en tales fuentes, por lo que el autor recomendó la protección del manantial con el fin de mantener una calidad sanitaria adecuada.

Respecto a la presencia de mohos y levaduras, tal como se observa en la tabla 1, no se detectaron en ninguna de las dos muestras de agua provenientes de la naciente del manantial termal (NM1 y NM2), mientras que en ambas muestras del

Tabla 1. Valores promedio en UFC/mL de los aislamientos en los manantiales termales de La Musuy, estado Mérida.

Muestra	BAM <sup>a</sup> (UFC/mL)	Coliformes totales <sup>b</sup> (UFC/mL)	Coliformes fecales <sup>c</sup> (UFC/mL)	Mohos y levaduras <sup>d</sup> (UFC/mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>e</sup> (UFC/mL)
NM1	< 1x10	7,8 x10 <sup>2</sup>	9,3 x10 <sup>1</sup>	< 1x10	< 1x10
PM1	9,7 x10 <sup>2</sup>	1,6 x10 <sup>3</sup>	2,0 x10 <sup>2</sup>	3,0 x10 <sup>2</sup>	< 1x10
NM2	< 1x10	2,5 x10 <sup>1</sup>	1,5 x10 <sup>1</sup>	< 1x10	< 1x10
PM2	< 1x10	5,3x10 <sup>1</sup>	3,0 x10 <sup>1</sup>	8,2 x10 <sup>1</sup>	< 1x10

Nota: NM1: Naciente del manantial muestra 1. NM2: Naciente del manantial muestra 2. PM1: Pozo manantial muestra 1. PM2: Pozo manantial muestra 2. BAM: Bacterias aerobias mesófilas. Temperatura de incubación: (a) 30 °C; (b) 37 °C; (c) 44.5 °C; (d) 25 °C; (e) 37 °C.

pozo de agua (PM1 y PM2) estuvieron presentes con valores promedio entre 82 y 300 UFC/mL. La determinación de mohos y levaduras no es exigida por la norma COVENIN como requisito para el agua potable envasada. Además de esto, no se logró detectar la presencia de *P. aeruginosa* en ninguna de las muestras de agua estudiadas, al menos a través de la técnica de recuento en placa.

Según lo establecido en la Norma COVENIN 1431-82 para agua potable envasada [21], el límite máximo de coliformes totales permitido es 10 UFC/100mL. Dicha norma también establece la ausencia de coliformes fecales como *Escherichia coli* y de *P. aeruginosa*, para que el agua sea considerada potable. En este sentido, el agua de la fuente termal estudiada no puede ser considerada como potable, ya que a pesar de que no se detectó la presencia de *P. aeruginosa*, se encontraron coliformes fecales en la totalidad de las muestras y por ende dicha agua no es apta para el consumo humano.

De manera análoga, al comparar los resultados obtenidos con la normas de calidad para agua mineral envasada de España [22], la cual establece que en las nacientes de agua no deben existir parásitos ni microorganismos patógenos y que el contenido de *E. coli* y otros coliformes fecales, así como de enterococos fecales debe ser 0 por cada 250 mL de agua, se reafirma el hecho de que las aguas termales de La Musuy no deben ser ingeridas por los usuarios. En Suramérica, destaca la existencia en Colombia de una normativa de calidad para el agua de los balnearios [23], que establece requisitos microbiológicos para las aguas de piscinas, pero afirma que el cumplimiento de dichos parámetros no será exigible a los estanques que almacenen aguas termales y de uso terapéutico. En otras palabras, al igual que en Venezuela, no existe una normativa específica de calidad para las aguas termales y por ende los usuarios de estos recintos están en situación de riesgo potencial.

#### Aislamiento de bacterias heterótrofas viables cultivables:

Se observaron colonias en la totalidad de las placas inoculadas. En las placas incubadas a temperatura ambiente se obtuvieron en promedio de 7 UFC/mL, mientras que en las que se incubaron a 37 °C se aislaron 23 UFC/mL.

Una baja proporción de bacterias aerobias viables es indicativa de que el perímetro de protección de la fuente es el adecuado o ha sufrido poca intervención humana. Sin embargo, las aguas minerales de origen natural suelen contener una elevada proporción de bacterias, pero solo una pequeña fracción del total son viables y cultivables [12,13].

Cabral [24] y Sarmiento *et al.* [5], afirmaron que la diversidad microbiana particularmente de las fuentes termales, es una reserva importante de metabolitos de interés biotecnológico, sin embargo, los métodos tradicionales de cultivo de microorganismos han limitado el análisis a sólo aquellos que son capaces de crecer en condiciones de laboratorio.

*Identificación de las cepas bacterianas aisladas:* Se aislaron siete cepas de las fuentes termales de La Musuy,

las cuales fueron identificadas en su totalidad como bacilos gramnegativos y denotadas con los códigos M1 a M7. De La Rosa y Mosso [12] señalaron que los manantiales termales con pH alcalino, tal como es el caso de las aguas termales de La Musuy, suelen tener poca diversidad microbiana, encontrándose principalmente géneros como *Pseudomonas* y *Bacillus*, entre otros. En relación a las pruebas bioquímicas realizadas a los aislados, se obtuvo que las cepas identificadas como M3, M5 y M6 correspondieron a bacilos gramnegativos fermentadores, por lo que se utilizaron galerías API® 20E para su identificación, mientras que los aislados M1, M2, M4 y M7 resultaron bacilos gramnegativos no fermentadores, en cuyo caso se emplearon galerías API® 20NE. Oderiz y col. [25] sostienen que este método es una valiosa alternativa en caso de no disponer de técnicas moleculares para el estudio.

Los datos provenientes de las pruebas realizadas a cada cepa fueron procesados utilizando el software APILAB (bioMérieux), resultando las especies bacterianas que se muestran en la tabla 2, conjuntamente con el porcentaje de correspondencia obtenido en cada caso. Una de las especies identificadas en este estudio fue *P. fluorescens*. El género *Pseudomonas* se encuentra ampliamente distribuido en los ecosistemas acuáticos, inclusive se han aislado especies pertenecientes a este género en agua mineral envasada proveniente de Alemania, Estados Unidos y Francia [13].

Según Manaia *et al.* [26], la especie *P. fluorescens* se ha aislado en pequeña cantidad en agua mineral envasada y almacenada, aunque también en las fuentes minerales naturales suele estar presente, sobre todo en los puntos de emergencia de agua.

De manera similar, *Burkholderia cepacia* ha sido reportada por otros autores como una especie frecuente en los puntos de emergencia de aguas de manantiales minerales [13]. Por su parte, Flores [27] en un estudio realizado en las fuentes mesotermas de Santa Apolonia, en el estado Mérida, identificó las especies *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* y *B. cepacia*, lo que corrobora el hecho de que son frecuentes en aguas termales.

Respecto a las especies *Brevundimonas vesicularis*, *A. hydrophila* y *A. salmonicida*, presentes en el manantial

Tabla 2. Identificación mediante galerías API® 20E y 20NE de especies aisladas de los manantiales termales La Musuy, estado Mérida.

Cepa	Especie	Porcentaje de correspondencia
M1	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	93,7
M2	<i>Burkholderia cepacia</i>	99,9
M3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	74,6
M4	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	96,8
M5	<i>Aeromonas salmonicida</i>	99,9
M6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	82,7
M7	<i>Weeksella virosa</i>	80,3

de La Musuy, también se han reportado previamente en aguas de manantiales termales en España [13]. La especie *A. hydrophila* había sido aislada anteriormente en la fuente termal de La Musuy, junto con las especies *P. aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. y *S. putrefaciens* por Niño y Peña [28].

De manera especial, en este trabajo de investigación se encontró *A. salmonicida*, siendo la primera vez que se reporta esta especie en aguas termales de la región. Cabe destacar que *A. salmonicida* es considerada la única especie psicrófila dentro de la familia Aeromonadaceae, siendo un microorganismo patógeno únicamente para los peces [16].

De la Rosa y Mosso [12] en un estudio realizado en las aguas termales del balneario Cervantes en España, identificaron como géneros principales de la composición microbiana del manantial a *Pseudomonas*, *Aeromonas* y *Burkholderia*, los cuales coinciden con los géneros encontrados en las fuentes termales de La Musuy. Además encontraron microorganismos proteolíticos, amilolíticos y amonificantes en cantidades elevadas ( $10^4/100$  mL), sulfato reductores en cantidad promedio ( $10^2/100$  mL), así como celulolíticos y halófilos, demostrando la importancia que pueden tener algunas especies de los mencionados géneros en la industria química, textil, papelera, de alimentos, farmacéutica, entre otras.

En relación a la especie aislada en las aguas termales de La Musuy, *Alcaligenes denitrificans*, es una bacteria de vida libre que se encuentra con frecuencia en los cuerpos de agua, perteneciente al orden Burkholderiales, familia Alcaligenaceae [16].

Otra de las especies aisladas en las fuentes estudiadas fue *Weeksella virosa*, perteneciente a la familia Flavobacteriaceae. Dicha especie ha sido reportada como causante de neumonía y sepsis bacteriana en neonatos y pacientes inmunocomprometidos [15-16].

**Ensayos de resistencia antimicrobiana:** La especie *B. cepacia* (M2) demostró resistencia frente al ácido nalidixico, amoxicilina-ácido clavulánico y cloranfenicol. Por su parte, la especie *A. hydrophila* (M3), resultó ser resistente únicamente a la ampicilina. La resistencia mostrada por estas dos especies aisladas frente a los antibióticos ensayados podría atribuirse a determinantes genéticos. En un trabajo similar, Andueza y col. [29] estudiaron las aguas termales de Chimborazo, en Ecuador, encontrando cinco cepas de *P. aeruginosa* resistentes a los antibióticos ampicilina, ampicilina-sulbactam, amikacina, ceftazidime, cefepime y ciprofloxacina.

**Pruebas de actividad biológica:** En relación a la producción de enzimas por los microorganismos aislados, las especies *B. vesicularis*, *B. cepacia*, *A. hydrophila* y *P. fluorescens* demostraron actividad proteolítica. Adicionalmente *B. vesicularis* y *A. hydrophila* resultaron productoras de amilasas, mientras que sólo *B. cepacia* presentó actividad lipolítica.

Aproximadamente el 29% de las cepas identificadas presentaron actividad amilolítica y proteolítica mientras que

14% de estas presentaron actividad proteolítica y lipolítica conjuntamente. En un estudio similar, Daniele y col. [30] hallaron actividad lipolítica en aislados identificados como *Geobacillus stearothermophilus* cepa L7 provenientes de las aguas termales de Las Trincheras, ubicadas en el estado Carabobo, Venezuela. Dicha cepa es termófila moderada, capaz de degradar aceite de oliva en un medio mineral mínimo, a 50 °C en condiciones de aerobiosis y agitación constante. Los investigadores destacaron el hecho de que esta clase de sistema enzimático lipolítico podría ser utilizado en la fabricación de detergentes domésticos. Por su parte, Álvarez [31] estudió los manantiales mesotermales de Jají en el estado Mérida, aislando en total quince cepas que demostraron actividad proteolítica al igual que la mayor parte de los aislados en el presente estudio.

## Conclusiones

Las aguas termales analizadas no son aptas para el consumo humano debido a que se evidenció la presencia de coliformes totales y fecales. Se recomienda adoptar medidas higiénicas durante su uso para evitar la posible transmisión de enfermedades. Se identificaron siete especies en total, dos de estas resistentes a antimicrobianos, mientras que cuatro de las especies aisladas evidenciaron actividad biológica proteolítica, dos especies son amilolíticas y una de estas resultó lipolítica, actividades consideradas de interés biotecnológico. Es recomendable ampliar la identificación de las especies aisladas y continuar con el estudio de las aguas termales locales y nacionales ya que constituyen una prometedora fuente de enzimas aprovechables en la industria.

## Referencias

1. Bose S, Mukherjee T, Sen U, Roy C, Rameez M, Ghosh W, Mukhopadhyay S. Genome sequence of the multiple-protease-producing strain *Geobacillus thermoleovorans* N7, a thermophilic bacterium isolated from Paniphal Hot Spring, West Bengal, India. *Gen Annou*. 2016; 5:1-2.
2. De Castro M, Rodríguez-Belmonte E, González-Siso M. Metagenomics of thermophiles with a focus on discovery of novel thermozymes. *Front Microbiol*. 2016; 7:1521-9.
3. López-López O, Cerdán M, González-Siso M. Hot spring metagenomics. *Life*. 2013; 2:308-20.
4. Littlechild J. Enzymes from extreme environments and their industrial applications. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015; 3:161-7.
5. Sarmiento F, Peralta R, Blamey J. Cold and hot extremozymes: industrial relevance and current trends. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015; 3:148-54.
6. Ablin J, Hauser W, Buskila D. Spa treatment (Balneotherapy) for fibromyalgia qualitative-narrative review and a historical perspective. *J Evid Based Complement Altern Med*. 2013; 1:1-5.

7. Keller S, König V, Mosges R. Thermal water applications in the treatment of upper respiratory tract diseases: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 1:1-17.
8. Lamia T, Amira M, Mohamed A, Salwa A, Lotfi A. Therapeutic properties in Tunisian hot springs: first evidence of phenolic compounds in the cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. biomass, capsular polysaccharides and releasing polysaccharides. *BMC Complement Altern Med.* 2016; 16:515-23.
9. Magrone T, Galantino M, Di Bitonto N, Borraccino L, Chiaromonte L, Jirillo M. Effects of thermal water inhalation in chronic upper respiratory tract infections in elderly and young patients. *Immun Ageing.* 2016; 13:1-12.
10. Moufarrij S, Deghaily L, Raffoul W, Hirt-Burri N, Michetti M, De Buys A, Norberg M, Applegate L. How important is hydrotherapy? Effects of dynamic action of hot spring water as a rehabilitative treatment for burn patients in Switzerland. *Ann Burns Fire Disasters.* 2014; 38:184-91.
11. Ri N, Lee H, Young N, Kim D, Jung M, Ho Choi M. Acidic water bathing could be a safe and effective therapeutic modality for severe and refractory atopic dermatitis. *Ann Dermatol.* 2015; 28:126-9.
12. De la Rosa M, Mosso M. Diversidad microbiana de las aguas termales. En: López G, Pinuaga J, editores. *Panorama actual de las aguas minerales y mineromedicinales en España.* Madrid: Publicaciones IGME; 2000. p.153-8.
13. Andueza F. Diversidad microbiana de las aguas mineromedicinales de los Balnearios de Jaraba, España. Tesis Doctoral. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2007.
14. Burguera J, Burguera M, Millán F, García R, Odreman O, Sampol M. Estudio de las fuentes termales del estado Mérida. Trabajo de ascenso. Mérida Venezuela: Universidad de Los Andes; 1980.
15. APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination for water and wastewater. 21st ed. Washington, D.C.: American Public Health Association; 2005.
16. Barrow G, Feltham R. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2a ed. México: Editorial Continental, S.A; 2003.
17. MacFaddin, J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3a ed. Buenos Aires: Médica-Panamericana; 2004.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-fifth informational supplement M 100-S 25. Wayne PA. USA: CLSI; 2015.
19. Burguera J, Burguera M, Andressen R, Sampol M. Aguas termales en el estado Mérida. Trabajo de ascenso. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 1983.
20. Dugarte M. Calidad bacteriológica de las aguas termales de Tabay, municipio Santos Marquina, Mérida, estado Mérida. Tesis de Licenciatura. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 2015.
21. Fondonorma. Norma COVENIN 1431-82. Agua potable envasada. Requisitos. Caracas: Comisión Venezolana de Normas Industriales, Ministerio de Fomento, Venezuela; 1982.
22. Gobierno de España. Ministerio de la Presidencia y para las Administraciones Territoriales. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado. Aguas Minerales. Real Decreto 1798/2010. . Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2011/01/19/pdfs/BOE-A-2011-971.pdf>. Acceso: 26 de enero 2017.
23. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 0554 del 27 de Marzo de 2015. Disponible en: <http://wp.presidencia.gov.co/sitios/normativa/decreto.pdf>. Acceso: 16 de diciembre 2016.
24. Cabral, J. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int J Environ Res Public Health.* 2010; 7:3657-703.
25. Oderiz S, Palau M, Del Palacio P, Lewis M, Bettiol M, Martina P, Bosch A, Yantorno O, Gatti B. Evaluación de los sistemas comerciales automatizados VITEK 2 y API 20NE para la identificación de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* aislados de muestras clínicas. *Rev Arg Microbiol.* 2011; 43:212-7.
26. Manaia C, Nunes O, Morais P, Da Costa M. Heterotrophic plate counts and the isolation of bacteria from mineral waters on selective and enrichment media. *J Appl Microbiol.* 1990; 69:871-6.
27. Flores S. Aislamiento, identificación y detección de microorganismos con actividades biológicas procedentes de las aguas de los manantiales termales La Mitisús y Santa Apolonia del estado Mérida. Tesis de Maestría. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 2014.
28. Niño R, Peña C. Calidad microbiológica del agua de manantiales de aguas minerales termales del sector La Musuy, municipio Rangel del estado Mérida. Tesis de Licenciatura. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 2013.
29. Andueza F, Albuja A, Arguelles P, Escobar S, Espinoza C, Araque J, Medina G. Resistencia antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de aguas termales de la provincia de Chimborazo, Ecuador. *An Real Acad Farm.* 2015; 81:158-63.
30. Daniele A, Amaiz L, Medina L, Valbuena O. Actividad lipolítica de *Geobacillus stearothermophilus*, cepa LN, aislada de las aguas termales de Las Trincheras, estado Carabobo, Venezuela. *Ciencia.* 2011; 19:173-80.
31. Álvarez, J. Estudio de microorganismos con actividades biológicas procedentes de manantiales de aguas termales de Jají en el estado Mérida. Tesis de Maestría. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 2015.