

Universidad de los Andes
Facultad de Ingeniería
Departamento de Ingeniería Civil y
Ambiental

Centro de Investigaciones en
Acueductos y Alcantarillados
CIACUA



Universidad
de los Andes

PAVCO S.A.
Una empresa AMANCO



CÁTEDRA PAVCO

**Factores que favorecen el desarrollo y el crecimiento de
biopelículas en las tuberías de los sistemas de
distribución de agua potable. Estado del arte**

**Tesis desarrollada por: Andrea Vargas Gamarra
(Pregrado en Ingeniería Civil)**

Bogotá, Mayo de 2004

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 3 |
| 3 | ENTENDIENDO LA BIOPELÍCULA..... | 5 |
| 3.1 | ETAPAS DE FORMACIÓN | 6 |
| 3.2 | ESTRUCTURA Y DINÁMICA DE LA BIOPELÍCULA | 12 |
| 3.2.1 | <i>Estructura</i> | 12 |
| 3.2.2 | <i>Dinámica</i> | 24 |
| 4 | FACTORES DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO | 31 |
| 4.1 | MATERIAL | 31 |
| 4.2 | NUTRIENTES..... | 42 |
| 4.3 | CONDICIONES HIDRÁULICAS..... | 47 |
| 4.4 | TEMPERATURA..... | 50 |
| 4.5 | TRATAMIENTOS DE CONTROL..... | 52 |
| 4.5.1 | <i>Flushing</i> | 54 |
| 4.5.2 | <i>Desinfectantes</i> | 55 |
| 4.5.3 | <i>Reparación y reemplazo de las tuberías</i> | 62 |
| 4.5.4 | <i>Control del flujo</i> | 63 |
| 4.5.5 | <i>Control de la corrosión</i> | 63 |
| 4.5.6 | <i>Control de materia orgánica biodegradable (tratamiento primario)</i> | 63 |
| 4.5.7 | <i>Combinaciones</i> | 65 |
| 4.6 | OTROS | 67 |
| 5 | CONSECUENCIAS DE LA PRESENCIA DE BIOPELÍCULAS EN LAS REDES DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA POTABLE..... | 69 |
| 5.1 | SALUD | 70 |
| 5.2 | DETERIORO DE LA CALIDAD DEL AGUA..... | 71 |
| 5.3 | EFFECTOS EN LAS TUBERÍAS | 72 |
| 6 | DIFERENCIAS ENTRE PAISES TROPICALES Y SUBTROPICALES | 74 |
| 7 | CONCLUSIONES | 76 |
| 8 | BIBLIOGRAFÍA..... | 79 |

1 INTRODUCCIÓN

El agua potable debe reunir una serie de cualidades físicas, químicas y orgánicas que son fundamentales para su aceptación; esta debe ser potable tanto a nivel químico como microbiológico cumpliendo con unas condiciones mínimas de calidad de forma que pueda ser distribuida para su consumo.

Los parámetros físico-químicos que se tienen en cuenta para el control de la degradación de la calidad del agua en una red de distribución de agua potable son la turbidez, el color aparente, el sabor, el olor y la presencia de materia orgánica e inorgánica. Los parámetros bacteriológicos están determinados por la presencia de diferentes tipos de bacterias (p.e coliformes). Para cada uno de los parámetros mencionados existen reglamentaciones que regulan su presencia y por lo tanto su efecto en la calidad del agua potable.

Las características que presenta el agua están relacionadas directamente con la calidad del agua de la fuente, los procesos de tratamiento primario y secundario que se apliquen y la operación y mantenimiento de la red de distribución. Tener un control estricto sobre cada uno de los parámetros de regulación es de suma importancia para evitar la propagación de enfermedades como el cólera, la fiebre tifoidea o las disenterías que se transmiten por medio de ambientes acuáticos con calidad deficiente, además de garantizar el buen estado de la red de distribución.

Durante la distribución de agua potable, el crecimiento bacterial puede causar deterioro en la calidad del agua en el ámbito bacteriológico, aumento de la corrosión, malos olores y sabores y proliferación de macroinvertebrados. Esta es la principal razón para que el estudio de las biopelículas se haya convertido en una parte muy importante para el control de los sistemas de distribución de agua potable.

Las biopelículas son organizaciones de microorganismos que se asocian entre si y con la pared de las tuberías por medio de una sustancia que ellos mismos segregan. Las biopelículas están conformadas principalmente por bacterias, sin embargo se puede encontrar casi cualquier tipo de microorganismo acuático. Aunque no todos los microbios que hacen parte de la biopelícula son patógenos es muy factible que haya un porcentaje de estos que si lo sean.

Con el fin de disminuir el riesgo que representa la presencia de biopelículas en los sistemas de agua potable, se busca establecer los factores que favorecen el desarrollo y el crecimiento de las mismas y la importancia real de cada uno de estos. Por otro lado se busca investigar si estos varían según el clima y así establecer diferencias entre las biopelículas que se forman en las redes de distribución de agua potable en zonas tropicales y en zonas sub-tropicales.

2 OBJETIVOS

Por medio de esta tesis, se busca recopilar la información del estado del arte en el estudio de biopelículas en tuberías de agua potable. Mediante el establecimiento de los factores que favorecen el desarrollo y el crecimiento de biopelículas en tuberías de agua potable, se pretende plantear soluciones al deterioro de la calidad del agua potable tanto en países tropicales como subtropicales. Los objetivos específicos de este trabajo son los siguientes:

- Entender el proceso de formación y crecimiento de una biopelícula en una red de distribución de agua potable con el fin de conocer su estructura, los microorganismos que la conforman y la dinámica física, química y biológica con que funciona.
- Establecer cuáles son los factores más relevantes que influyen en el desarrollo de las biopelículas en las redes de distribución y determinar el grado de importancia de cada uno con el fin de conocer las condiciones óptimas de crecimiento y desarrollo.
- Entender la influencia que tienen los materiales de las tuberías y sus características (rugosidad, diámetro, longitud, edad etc) en la formación de biopelículas en los sistemas de distribución de agua potable.
- Determinar la importancia de la disponibilidad de nutrientes y de las condiciones ambientales (temperatura, pH, turbidez) en el desarrollo y crecimiento de las biopelículas.
- Conocer la influencia de las condiciones hidráulicas en la dinámica de las biopelículas. Plantear una relación entre estos factores y la existencia de las biopelículas en las tuberías de las sistemas de distribución de agua potable.

- Analizar la efectividad de los tratamientos de potabilización y de control de crecimiento de microorganismos actuales, con el fin de encontrar posibles fallas y plantear soluciones que sean eficientes para mantener la calidad del agua a través de los sistemas de distribución.
- Determinar las consecuencias de la presencia de biopelículas en las redes de distribución de agua potable para tres puntos de vista principales: salud humana, calidad de agua e infraestructura de la red.
- Organizar la información que se tiene a nivel internacional a cerca de los temas mencionados anteriormente, con el fin de estar al tanto de los últimos descubrimientos y de las nuevas tecnologías que se están utilizando en este campo.
- Comparar los factores que favorecen el desarrollo y el crecimiento de las biopelículas en tuberías de agua potable en países subtropicales con los de los países tropicales.

3 ENTENDIENDO LA BIOPELÍCULA

En los ambientes acuáticos, tienen lugar diferentes procesos que son factibles debido a la existencia de más de un tipo de microorganismo en un mismo nicho o ambiente. Dichos procesos, son por lo general, resultado de la relación entre varias poblaciones que interactúan formando una comunidad, la cual permite que los microorganismos maximicen sus capacidades metabólicas, se desarrollen y crezcan. A la agrupación de comunidades microscópicas que interactúan de diferentes formas se le puede dar el nombre de biopelícula.

Una biopelícula es, entonces, una estructura compleja de bacterias y otros microorganismos que funciona como una comunidad inmersa en una especie de limo que los mismos microbios segregan, con la ayuda de esta se aferran a una superficie inerte o viva. Las biopelículas existen en cualquier lugar en el que haya una superficie en contacto permanente con agua y sirven como un punto focal en el que la población bacteriana y la población de protozoos interactúan.

Más del 99% de las bacterias viven en una biopelícula. Algunas son benignas; sin embargo, las biopelículas pueden causar corrosión en las tuberías, afectar la presión de la red, tapar los filtros de purificación de agua y albergar bacterias u otros microorganismos patógenos que contaminan el agua y que son perjudiciales para la salud. Las bacterias colonizan en primer lugar las paredes de las tuberías (pioneras) tienen la capacidad de alterar las condiciones de la superficie permitiendo que la sucesión microbiana ocurra en este lugar.

Para que una biopelícula se pueda desarrollar y los microorganismos que la componen sobrevivan en una red de distribución de agua potable es necesario que existan las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas apropiadas en el medio: temperatura, pH, sustrato, nutrientes, condiciones hidráulicas, desinfectantes y competencia con otros microorganismos. (7,8,11,16,20)

3.1 *Etapas de formación*

Diferentes microorganismos han demostrado la capacidad de sobrevivir en los sistemas de distribución de agua potable, y algunos tienen la capacidad de crecer y formar biopelículas. La presencia de microorganismos en la red de distribución puede dar como resultado la colonización de su infraestructura. Una vez que comienza el desarrollo de las biopelículas, éstas atraen nuevos microorganismos, contaminación, sustancias inorgánicas y orgánicas que se van adhiriendo a la superficie de las tuberías.

Existen varios pasos que siguen los microorganismos para colonizar la superficie de las tuberías y por medio de los cuales forman la biopelícula. Ver figura 1.

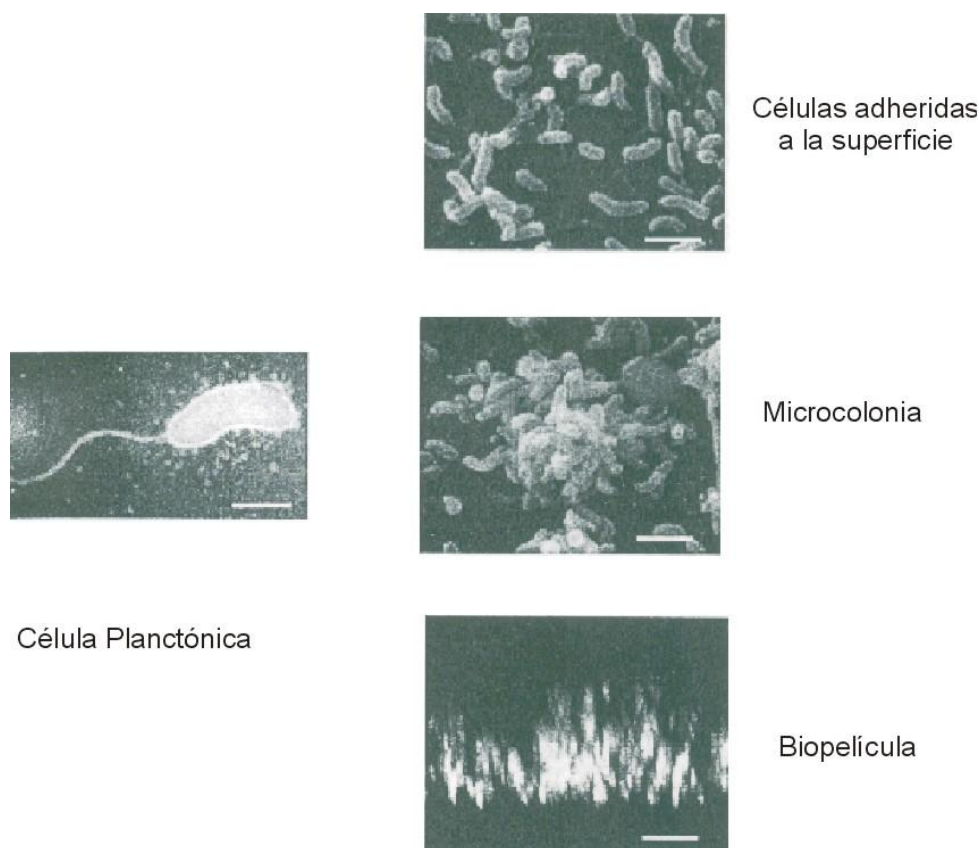


Figura 1: Proceso de formación de una biopelícula.¹

¹ Tomada de (2, Watnick P. y Kolter R.)

Primer paso: Condicionamiento de la superficie

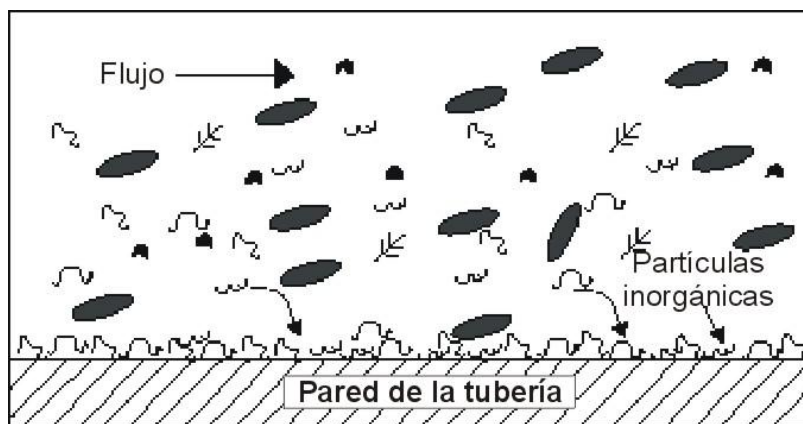


Figura 2: Primera etapa de formación de la biopelícula.²

Con el paso del agua por el tubo se da lugar a la formación de una capa de depósitos orgánicos e inorgánicos en la superficie, la cual está encargada de neutralizar las cargas de la tubería que impiden que las células libres se acerquen a la superficie y se adhieran a la misma. Al mismo tiempo, la capa sirve de nutriente para las bacterias.

Segundo paso: Adhesión de las primeras bacterias

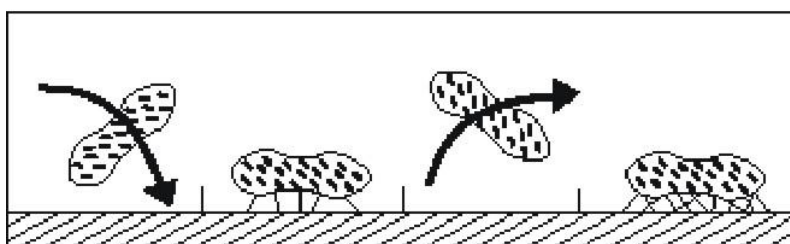


Figura 3: Proceso de adhesión a la superficie.³

En una tubería de agua potable, algunos de los microorganismos planctónicos (microorganismos que flotan libremente y cuyos movimientos están controlados por el movimiento del agua), al acercarse a la pared de la tubería caen en la subcapa laminar

² www.edstrom.com Characklis 1990

³ www.edstrom.com Characklis 1990

viscosa, donde la velocidad del agua tiende a cero, allí son adsorbidos por la tubería. Algunas veces se quedan ahí por tiempo ilimitado y en otros casos vuelven a salir al flujo normal de agua; este proceso recibe el nombre de adsorción reversible. De esta forma se inicia el proceso de adhesión de los microorganismos a la pared de la tubería. Esta primera etapa está gobernada por la atracción electrostática y por las fuerzas físicas, las reacciones químicas aún no tienen efecto en el desarrollo de la biopelícula. Aparecen las primeras microcolonias. (1, 2, 39)

Tercer paso: Formación del “limo”

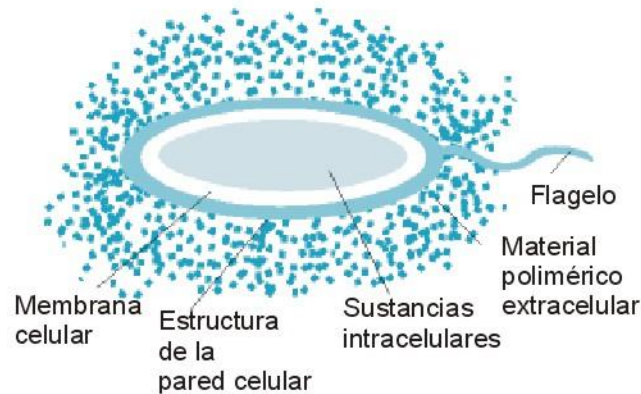


Figura 4: Bacteria con sustancia extracelular.⁴

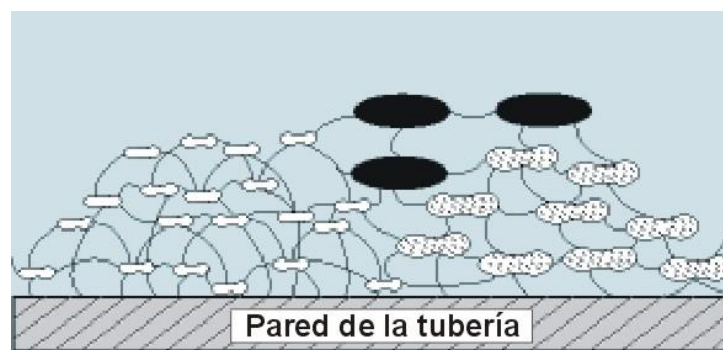


Figura 5: Formación de la matriz.⁵

⁴ www.edstrom.com Mittelman 1985

⁵ www.edstrom.com

Las bacterias de las biopelículas secretan una serie de sustancias poliméricas, que sostienen a la biopelícula, evitan que esta se disique, la mantienen unida entre sí y la adhieren a la pared de la tubería dándole estabilidad mecánica. La estructura química de estas sustancias depende del tipo de microorganismo que las secrete y de las condiciones ambientales en las que sean producidas.

El material polimérico, está formado por polisacáridos con carga eléctrica y neutra, que no sólo facilitan la unión de las bacterias con la pared de la tubería, sino que adicionalmente actúan como un sistema de intercambio iónico en el que se atrapan nutrientes del agua que pasa por la superficie. Por otro lado, el limo mitiga los efectos de los antibióticos y desinfectantes que se encuentran en la columna de agua, actuando como protección para las bacterias. En la siguiente figura se ven bacterias adheridas a una superficie por medio de las sustancias que ellas mismas segregan.

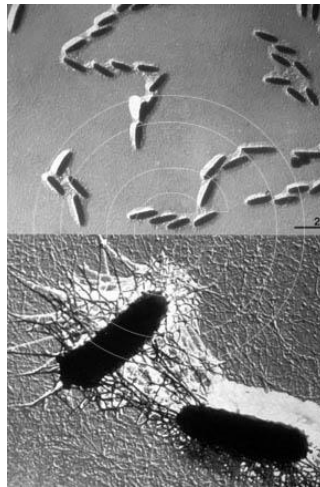


Figura 6: Bacterias adheridas a una superficie por medio de las sustancias extracelulares.⁶

Una vez las bacterias cambian su condición planctónica y se adhieren a una superficie, se producen cambios en su estructura y en sus genes, estos hacen que los dos tipos de bacterias sean bastante diferentes.

⁶ www.erc.montana.edu

Si en el ambiente ofrece las condiciones necesarias, las células que colonizaron la superficie de la tubería (pioneras), empiezan a reproducirse y las células hijas se adhieren a la capa existente. Todas las células producen su propio “limo”. De esta forma, crece el sistema y en un muy poco tiempo se tiene una población establecida que consta de diferentes microcolonias. En este nivel la biopelícula ya es estable, las sustancias poliméricas acumuladas toman apariencia macroscópica de gel. Es una sustancia amorfa. (1,2,16,37,39)

En una biopelícula madura, la mayoría del volumen está ocupado por la matriz organizada de “limo”, entre el 75 y el 95%, mientras que únicamente del 5 al 25% está ocupado por las células bacterianas.

Cuarto paso: Colonizadores secundarios

La matriz de limo no sólo sirve para atrapar moléculas de nutrientes, sino que atrae diferentes tipos de células microbianas. Estas nuevas integrantes de la población están encargadas de metabolizar los residuos de las colonizadoras primarias. Así sucesivamente se crea una cadena de microorganismos que se relacionan en una comunidad.

Quinto paso: Biopelícula madura.

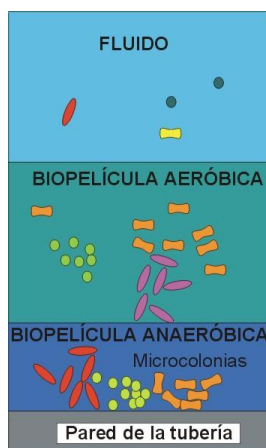


Figura 7: Estructura general de la biopelícula.⁷

⁷ www.edstrom.com Borenstein 1994

La biopelícula madura y 100% funcional es como un tejido vivo en la superficie de la tubería. Es una comunidad compleja, metabólicamente cooperativa, formada por diversas especies que viven en un micronicho. Las microcolonias se relacionan de diferentes formas estableciendo una gran estructura que cubre la mayoría del sustrato, la cual es atravesada por una serie de canales por los cuales pasan agua, residuos bacteriales, nutrientes, enzimas y oxígeno. Adicionalmente, la biopelícula posee componentes tanto orgánicos como inorgánicos que obtiene de fuentes externas. Las partículas inorgánicas pueden ser el resultado de la absorción de minerales, la sedimentación y la precipitación de sales o productos de la corrosión.

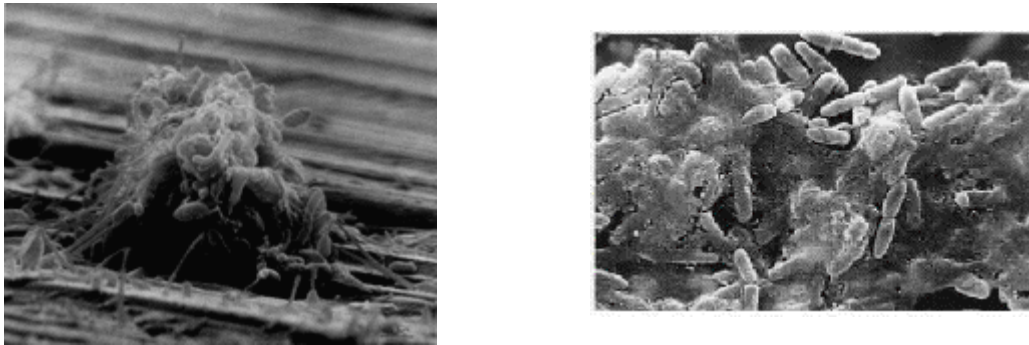


Figura 8: Biopelículas formadas sobre paredes de tuberías.⁸

Sexto paso: Desprendimiento de la biopelícula

Cuando la biopelícula está madura, comienza un proceso de dispersión y de desprendimiento. Las células se dividen y algunas se desprenden de la biopelícula para ser nuevas “pioneras” aguas abajo y colonizar diferentes segmentos de la tubería. Cuando la biopelícula alcanza un grosor mayor al de la subcapa laminar viscosa, la velocidad a la que se enfrentan las células de la superficie es mucho mayor, en ese momento se genera desprendimiento por lo que la biopelícula tiende a mantener un mismo espesor. El tiempo de desarrollo de una biopelícula puede variar entre horas y semanas, dependiendo de las condiciones del sistema.

⁸ <http://ceiba.cc.ntu.edu.tw/609-21500/229/edu34i.htm>

Se ha encontrado que en el proceso de formación de las biopelículas hay muchos factores que intervienen y que ayudan a que esto sea posible. La información genética de las bacterias es sumamente importante, ya que de esta va a depender el tipo de células que se forman y sus funciones dentro de la biopelícula. Según las condiciones y la función que tenga cada célula dentro de la biopelícula esta puede mutar, o causar mutaciones en la información genética de otras células para mejorar el funcionamiento de la biopelícula. Las bacterias pueden estimular la producción de determinadas enzimas al estar en contacto con materiales o condiciones y específicas. Por ejemplo se ha encontrado que la síntesis de flagelos se reduce en las células que habitan en la biopelícula y en su lugar se incrementa la producción de ácidos necesarios para la elaboración de las sustancias extracelulares que sostienen a la biopelícula. (2)

3.2 Estructura y dinámica de la biopelícula

3.2.1 Estructura

Se puede decir que las biopelículas son heterogéneas, lo cual implica que tienen diferencias espaciales en diferentes parámetros:

- Cuentan con gran diversidad de microorganismos y por lo tanto de reacciones y relaciones entre ellos.
- En su estructura se pueden identificar diferentes compuestos químicos, orgánicos e inorgánicos como el sustrato, los nutrientes, enzimas y otras sustancias presentes en el ambiente y segregadas por los mismos microorganismos.
- Las propiedades físicas de la biopelícula varían. Por ejemplo el grosor, la densidad, la rugosidad, la porosidad y la permeabilidad, entre otras propiedades de la biopelícula cambian según las condiciones ambientales y la zona en la que se encuentre la misma. (28)

En las biopelículas se pueden diferenciar dos tipos importantes de microorganismos, los heterótrofos y los autótrofos. Los primeros crecen y se reproducen rápidamente, mientras que los segundos son de desarrollo lento. Estas características afectan la organización de la biopelícula y determinan el lugar en el que se ubica cada microorganismo y las funciones que debe cumplir.

Los organismos autótrofos se ubican en la parte más profunda de la biopelícula, donde son protegidos del desprendimiento y sirven de base y alimento a los organismos heterótrofos que se ubican en la superficie. Cuando los organismos heterótrofos son desprendidos de la biopelícula, los que quedan tienen la habilidad de reproducirse rápidamente mientras que los que quedaron libres en el agua tienen la capacidad de establecerse en diferentes biopelículas aguas abajo. (36)

3.2.1.1 Partes de la biopelícula

* *Sustancia polimérica extracelular*

Como se había mencionado anteriormente, las bacterias que habitan en una biopelícula segregan una serie de sustancias poliméricas que forman una matriz que las protege del efecto de los desinfectantes, la disecación, le da estabilidad mecánica a la biopelícula y juega un papel importante en la consecución de nutrientes. (11,39)

A pesar de la importancia de esta estructura es poco lo que se conoce acerca de su real funcionamiento, lo cual dificulta el manejo de las biopelículas. Se cree que estas sustancias son las directas responsables de la consistencia de la biopelícula y, por lo tanto, de su comportamiento ante fuerzas cortantes. Se ha visto que se comporta como un material viscoelástico, es decir que sufre deformaciones viscosas pero a su vez tiene reacciones elásticas. En la biopelícula se refleja la historia que ha tenido en cuanto a fuerzas que han

actuado sobre ella ya que se puede ver la forma que adopta según el efecto que hayan ocasionado.

Analizando el comportamiento de la biopelícula se llegó a la conclusión de que este comportamiento es característico de las sustancias extracelulares que forman parte de la matriz y que, por ende, es este material el que gobierna su comportamiento físico. A este tipo de materiales se les conoce como sistemas de polímeros asociados y consiste en un grupo de polímeros que se encuentran unidos por distintos enlaces débiles que tienen la capacidad de romperse, acomodarse y volverse a formar fácilmente. A pesar de su constitución, el resultado final es una especie de gel muy resistente que se comporta viscoelásticamente. (16)

En un experimento realizado en la Universidad de Montana (16,42) se encontró que las biopelículas sufren deformaciones en la dirección del flujo, es decir después de varios días se puede ver que las biopelículas presentan elongaciones en el sentido del flujo.

**Microorganismos*

Para poder entender la estructura y el funcionamiento de la biopelícula es importante conocer los organismos que la forman, sus principales características, comportamiento, organización y funciones. Se ha mencionado que los principales pobladores de una biopelícula son las bacterias, pero es importante tener en cuenta que habitan otros microorganismos como animales microscópicos invertebrados, virus, protozoos, algas y hongos que cumplen funciones muy importantes en la vida de la biopelícula. Cualquier microorganismo presente en el agua se puede adherir a una biopelícula. Esta gran diversidad implica complicaciones en los tratamientos que se deben realizar y en las consecuencias que trae la presencia de estas tanto para la calidad del agua como para la conservación del sistema de distribución.

Los diferentes microorganismos que viven en una biopelícula desarrollan relaciones benéficas o de competencia que definen el funcionamiento y la estructura de la biopelícula. Por ejemplo, la competencia por oxígeno y por espacio puede ser un factor determinante en el tipo de población que se forma, especialmente si estos factores son limitantes.

Los procesos metabólicos normales de los microorganismos producen una serie de sustancias inertes que entran a formar parte de la biomasa de las redes de distribución. Este factor afecta el funcionamiento de la biopelícula, ya que puede ser fuente de alimento y su vez servir como protección para los microorganismos que se encuentran en la biopelícula.

BACTERIAS

Las bacterias forman parte del reino procariota, el más exitoso sobre la tierra, en cuanto a número de individuos se trata. Son organismos microscópicos que juegan roles muy importantes en la naturaleza y que están interactuando de diferentes formas con todos los organismos vivientes. Pueden ser encontradas en todos los ambientes existentes, son muy variadas y tienen la capacidad de adaptarse a diversas condiciones.

Las bacterias son células eucariotas, es decir tienen un núcleo definido, dentro del cual se encuentra la información genética de la célula y al menos un sistema capaz de producir ATP.

La mayoría de las bacterias del agua son planctónicas, es decir que flotan constantemente; sin embargo, existen muchas otras que son sésiles, es decir que tienen la capacidad de adherirse a las superficies. Para poder movilizarse tanto en el agua como en las superficies, han desarrollado diferentes mecanismos; algunas simplemente flotan y el movimiento se los da el agua, otras utilizan un organelo llamado flagelo, (una especie de aleta), para dirigir sus movimientos, nadar y aferrarse a superficies.



Figura 9: Flagelos en bacterias. (a) *Aquaspirillum sinosum*, (b) *Bacillus*.⁹

Algunas bacterias acuáticas se desplazan lentamente en dirección vertical llenando o desocupando una vesículas de gas que tienen en el interior.



Figura 10: Vesículas de gas. Cyanobacteria.¹⁰

Otras no poseen un órgano específico para desplazarse, pero utilizan su cuerpo deslizándose y arrastrándose por el medio en el que se encuentren.

Las bacterias se pueden clasificar en dos grupos según las características de su pared celular: gram -positivas y gram - negativas. Las primeras poseen una pared celular gruesa,

⁹ (40, Life) Páginas 534 y 535

¹⁰ (40, Life) Página 535

formada de peptidoglicano que se encuentra ubicada encima de la membrana celular. Estas bacterias son muy resistentes puesto que en momentos de estrés tienen la capacidad de formar endosporas: un mecanismo de defensa que se activa cuando la célula se encuentra en un ambiente desfavorable; la bacteria duplica su ADN y forma una especie de célula hija que va cubierta con una capa muy resistente. Este no es un mecanismo de reproducción. La nueva célula queda dormida hasta que encuentre nuevamente un ambiente favorable, cuando esto ocurre se “despierta” y vuelve a su estado normal, se divide y coloniza el lugar. Las bacterias gram - negativas poseen una pared celular formada por una capa delgada de peptidoglicano, cubierta por una capa gruesa de enzimas. Los compuestos químicos que las cubren son de suma importancia ya que son las que las protegen de la acción de agentes externos y las que hacen posible su alimentación. Las enzimas que cubren a las bacterias gram - negativas son en algunos casos toxinas que afectan la salud humana. (11)

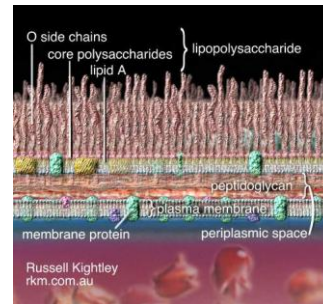
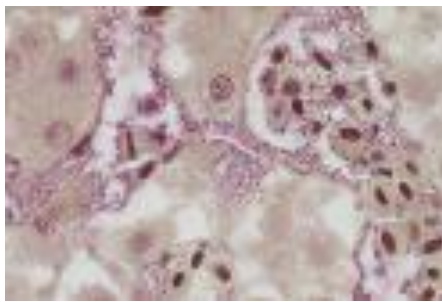


Figura 11: Bacterias gram – negativas. (a) biopelícula (b) Estructura de la pared .¹¹

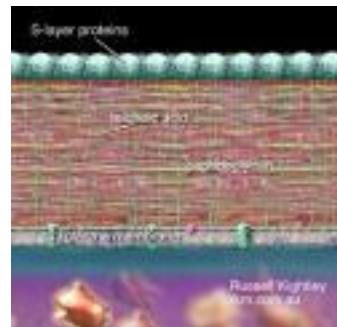
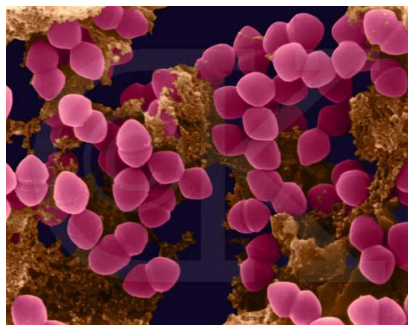


Figura 12: Bacterias gram – positivas. (a) biopelícula (b) Estructura de la pared .¹²

¹¹ <http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/infectiousdisease.html>

¹² <http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/infectiousdisease.html>

Posiblemente conocer este aspecto de las bacterias es el más importante en el momento de realizar un estudio bacteriano. Si se conoce qué tipo de bacteria se tiene, por ejemplo en una biopelícula, es posible definir acertadamente cuáles son los desinfectantes efectivos contra ese tipo de bacterias, cuáles son los componentes que realmente pueden atacar la pared celular para así destruir la célula. Las diferencias en las paredes hacen que los desinfectantes y los antibióticos que se deban usar sean muy diferentes.

En las biopelículas que se forman en las redes de distribución la mayoría de las células son gram - negativas, mientras que la mayoría de las bacterias que se encuentran libres en la columna de agua son gram - positivas. Esta diferencia posiblemente se deba a la protección extra que tienen las bacterias al vivir en la biopelícula, debido a las condiciones ambientales y a la acción de los desinfectantes una bacteria gram - negativa tiene mayores dificultades para vivir libre. (30)

La *Aeromonas hydrophila* es una bacteria gram - negativa es una bacteria patógena para los peces y patógena oportunista para los humanos. Normalmente se encuentra en aguas superficiales y en los sistemas de distribución de agua potable. Tiene capacidad de adherirse y formar biopelículas en tuberías de acero inoxidable, cobre y polibutileno. El hecho de que este microorganismo entre a formar parte de las biopelículas que se encuentran en las redes de distribución trae complicaciones y lo convierte en un problema difícil de solucionar. (23)

Otra forma de clasificar a las bacterias es según el metabolismo que desarrollan:

- Aeróbico, únicamente pueden vivir con la presencia de oxígeno.
- Anaeróbico, no pueden tener contacto con el oxígeno gaseoso, la fermentación es una de sus formas de obtención de energía.
- Anaeróbico facultativo, estos organismos pueden adaptar su metabolismo según las condiciones del ambiente.

También se pueden clasificar según el tipo de alimento que consuman y la fuente de energía que utilicen.

| CATEGORÍA | FUENTE DE ENERGÍA | FUENTE DE CARBONO |
|-------------------|------------------------|----------------------|
| Fotoautótrofos | Luz | Dióxido de carbono |
| Fotoheterótrofos | Luz | Compuestos orgánicos |
| Quimioautótrofos | Sustancias inorgánicas | Dióxido de carbono |
| Quimiheterótrofos | Compuestos orgánicos | Compuestos orgánicos |

Tabla tomada de (40) pág. 537

Según esta última clasificación es posible controlar el crecimiento bacteriano reduciendo o eliminando los nutrientes que necesiten para desarrollarse, sin embargo cabe anotar que las posibilidades que tienen para poder crecer son infinitas y que por más de que se logre controlar alguno de los grupos es prácticamente imposible crear un ambiente en el que se eliminen los cuatro grupos.

Las bacterias son un dominio muy complejo, por lo que se pueden clasificar de diferentes formas; sin embargo, acá se nombrarán las que se encuentran más relacionadas con las bacterias que forman las biopelículas en las tuberías de agua potable.

Hongos

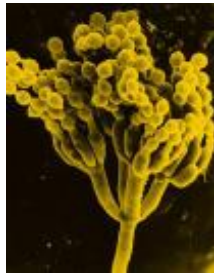
El reino de los hongos está conformado por organismos heterótrofos que se nutren por medio de la absorción y tienen una pared celular característica formada de quitina y polisacáridos complejos. Los hongos pueden ser saprófagos (viven en la materia muerta), parásitos (organismos que absorben los nutrientes que necesitan de organismos vivos) o mutualistas (organismos que viven en simbiosis con otros organismos). Todos los hongos forman esporas, pero únicamente un tipo tiene flagelo.

El reino de los hongos se puede dividir en 4 phylas o divisiones primarias de la siguiente forma:

| PHYLA | CARACTERÍSTICAS |
|---------------|--|
| Zigomycota | Mohos con micelio aseptado, esporas asexuadas producidas en esporangias. |
| Ascomycota | Mohos o levaduras, el micelio (de existir) es septado, la reproducción sexual es por ascus y ascosporas. |
| Basidiomycota | Mohos o levaduras, esporas sexuales tipo basidiospora |
| Deuteromycota | Mohos con micelio septado y levaduras, no tienen reproducción sexual. |

Todos los hongos poseen elementos propagantes de diversa naturaleza, algunos sexuales y otros asexuados. Cuando alguno de los elementos propagantes (por lo general esporas), encuentra un sustrato adecuado, germina y comienza a crecer.

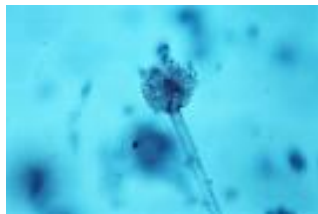
Algunos ejemplos de hongos son:



Penicillium



Aspergillus



Mucor



Alternaria

Figura 13: Variedades de hongos .¹³

¹³ www.anselm.edu, www.cum.tamu.edu

Por otro lado, los hongos se pueden dividir en dos grandes grupos: mohos y levaduras; los primeros se caracterizan por producir colonias de tipo algodonoso y por poseer estructuras tubulares; las segundas presentan células redondas que al crecer forman colonias con apariencia cremosa.

En el estudio (7), se examinó la presencia de hongos en las biopelículas de las redes de distribución de agua potable. Los resultados son asombrosos, ya que en todas las muestras se encontró gran variedad de hongos, lo que implica consecuencias importantes especialmente en los temas relacionados con la salud. (11) Para que los hongos puedan desarrollarse en los sistemas de distribución de agua potable, se requiere la presencia de otros microorganismos. Las biopelículas que se relacionan con hongos (p.e. *Mycobacterium avium*), tienen una gran diversidad y características especiales en la flora microbiana. (30) La gran mayoría de los hongos se encuentran incrustados en la biopelícula y en forma de esporas.

Estos microorganismos son productores de toxinas, malos olores y sabores. Si las esporas de los hongos que entran al sistema, encuentran un ambiente favorable, se acomodan en este y comienzan a desarrollar su etapa vegetativa en la cual llevan a cabo funciones metabólicas consumiendo nutrientes y desechando otros productos, de ahí que sean productores de toxinas y de sustancias que afectan la calidad del agua. Cuando entran al sistema lo hacen en forma de esporas, de esta manera, son muy resistentes a condiciones extremas del medio ambiente; son capaces de resistir altas y bajas temperaturas, concentraciones altas de desinfectantes, pH variables y escasez de nutrientes, entre otros. Cuando encuentran las condiciones apropiadas germinan y comienzan a interactuar con los otros microorganismos que se encuentran en la biopelícula.

Mycobacterium avium, es un tipo de hongo patógeno para humanos y animales, es sumamente peligroso para personas con inmunodeficiencia y es el causante de enfermedades pulmonares graves. Este tipo de hongo se encuentra con mucha frecuencia

en fuentes de agua dulce y en sistemas de distribución de agua potable. Presenta resistencia al cloro, el ozono y la cloramina, razón por la que puede sobrevivir en los sistemas de agua con gran facilidad. (30,32)

Protozoos

Los protistas son en su mayoría organismos acuáticos. Algunos viven en ambientes marinos, otros en agua dulce y otros en fluidos de otros organismos. Los protistas son muy variados en su metabolismo, se puede encontrar organismos autótrofos y heterótrofos y diferentes tipos de locomoción.

Gracias a su diversidad, es muy probable encontrar microorganismos de este tipo presentes en las biopelículas de las redes de distribución de agua potable; algunos de estos son patógenos por lo que es importante conocer su funcionamiento y sus características para poder controlarlos. Los principales protozoos patógenos que son encontrados en las redes de distribución son: *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Acanthamoeba*, *Toxoplasma* y *Cyclospora*.

A pesar de que los protozoos se encuentren en las biopelículas, en muchos casos no se pueden desarrollar en estas ya que necesitan un huésped para desarrollarse, por ejemplo la *Acanthamoeba* es común en los sistemas de distribución y es la causante de diferentes infecciones de ojo y de encefalitis crónica, pero su etapa patógena la desarrolla únicamente cuando se encuentra dentro de su huésped. Por otro lado, los protozoos pueden servir de huéspedes a bacterias y virus que se encuentran en el agua, aumentando la posibilidad de contaminación y de transmisión de enfermedades.

Los protozoos son consumidores de bacterias, por lo que juegan un papel importante en el equilibrio de la biopelícula. Se han encontrado protozoos por momentos cortos sobre la superficie, lo que sugiere que llegan a la superficie de la biopelícula, se alimentan y luego se desprenden, pero también se han encontrado diferentes protozoos completamente adheridos e inmersos en la biopelícula (11). Es importante tener en cuenta este factor para

entender el comportamiento de la biopelícula, ya que es importante en el equilibrio de los nutrientes y en la cantidad de microorganismos. La cantidad de protozoos existentes en el ambiente está directamente relacionada con la densidad de bacterias que haya en el sistema.

La presencia de protozoos en las biopelículas puede servir como indicador de la presencia de otros microorganismos, por ejemplo se conoce que varios protozoos están asociados con bacterias patógenas como la *Legionella* y con hongos como el *Mycobacterium*. (26)

Otros

Los virus necesitan un huésped específico para poder desarrollarse, por lo tanto estos se pueden acumular en las biopelículas pero no crecer en ellas. Las biopelículas pueden protegerlos de la acción de los desinfectantes y así ayudar a que estos sobrevivan por más tiempo.

Algunos virus importantes relacionados con la fuente de agua potable son: Poliovirus (poliomelitis), el virus de la hepatitis A y el virus de la hepatitis B.

Los invertebrados incluyen todos los animales que no tienen columna vertebral, insectos y gusanos. Diferentes macroinvertebrados pueden colonizar los sistemas de distribución: nematodos, gusanos, larvas de insectos, rotíferos y pequeños crustáceos. Estos organismos tienen necesidades nutricionales bastante específicas, por lo que su supervivencia en los sistemas de distribución no es tan fácil. Algunos se alimentan de bacterias que encuentran en la red. Al entrar en los sistemas de distribución y alimentarse de las bacterias que habitan en este lugar, los invertebrados sirven de protectores para las bacterias y pueden servir como transporte para que las bacterias puedan ir de una zona de la tubería a otra.

Algunas algas también pueden ser encontradas en los sistemas de distribución de agua potable. La cianobacteria o alga verde-azul puede desarrollarse en agua potable y causar

toxinas supremamente peligrosas. En diferentes estudios se han encontrado diferentes algas o restos de ellas con las biopelículas (11)

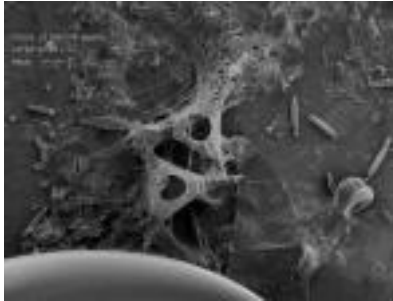


Figura 14: Alga verde – azul o cyanobacteria .¹⁴

3.2.2 Dinámica

La dinámica de la población de las biopelículas y en general todos los procesos que tienen lugar en este ambiente están determinadas por las relaciones mutualistas y de competencia que se da entre los diferentes grupos de microorganismos que habitan en esta. Las condiciones ambientales para una bacteria que se encuentra en una biopelícula dependen del lugar que ocupe dentro de esta; por ejemplo, si está ubicada en el centro de la biopelícula es muy probable que el oxígeno sea escaso y deba adaptarse a esta condición, pero a su vez va a estar protegida de las fuerzas cortantes por lo que no va a ser desprendida con facilidad.

En la siguiente figura se muestra la concentración de oxígeno en una biopelícula. Las zonas con menor concentración son las del centro.

¹⁴ www.owu.edu/sen/greealgae.htm

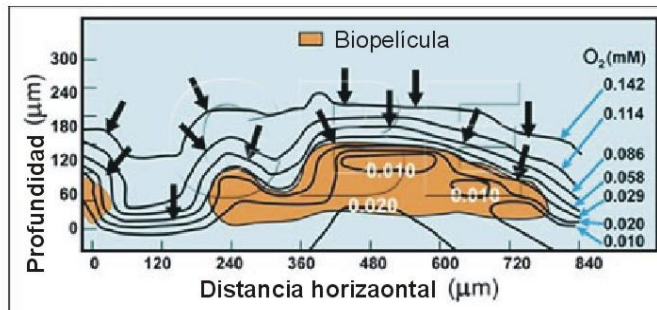


Figura 15: Concentración de oxígeno en una biopelícula .¹⁵

Por otro lado, se ha visto que en la estructura de la biopelícula existen pequeños canales que permiten el flujo de agua a través de toda la biopelícula. Este es un fenómeno muy importante, ya que se puede asegurar que el agua no corre únicamente por la superficie de la biopelícula, sino que puede entrar en contacto con toda ella, trayendo consigo nutrientes, oxígeno, desinfectantes y otras partículas. El flujo por el interior de la biopelícula es lento y trae consecuencias en los procesos de desinfección y de desprendimiento. El hecho de que existan estos canales, no implica que el procesos de difusión del agua que se encuentra en la parte superior hacia el interior de la biopelícula no exista. En la dinámica de la biopelícula se combinan los dos factores logrando un mejor funcionamiento. (42)

Como resultado de la estructura y del funcionamiento, las biopelículas proporcionan diferentes condiciones ambientales en las que se pueden desarrollar variados tipos de microorganismos. Cuando el oxígeno puede penetrar la biopelícula, se generan zonas aeróbicas y donde no alcanza a haber infiltración, se generan zonas anaeróbicas. Algunas poblaciones consumen los desechos de otras y así se crean diferentes relaciones las cuales se ven reflejadas en la producción de micro nichos. En estos, según las condiciones, se pueden desarrollar microorganismos de crecimiento rápido, lento o nulo.

¹⁵ www.erc.montana.edu

3.2.2.1 Medios para encontrar y adherirse a la superficie

Los microorganismos que se encuentran en los sistemas de distribución de agua potable, pueden llegar a este directamente desde la fuente de agua, haber entrado durante el tratamiento de potabilización o a causa de algún evento extraordinario como una ruptura en la tubería, una mala conexión, una lluvia muy fuerte o una interferencia no permitida en la red. (15) Una vez en el sistema, las bacterias desarrollan diferentes medios y formas para poder adherirse a la superficie de las tuberías. Existen relaciones físicas, químicas y biológicas que hacen que este fijamiento sea posible y efectivo.

Para que el proceso de formación de las biopelículas sea exitoso, los microorganismos que las componen deben conocer el lugar exacto en el que se pueden ubicar de manera que no interfieran con el desarrollo de los demás. Por medio de la competencia y la comunicación, las bacterias pueden lograr relaciones exitosas con otros microorganismos, en las que cada cual coloniza y se adapta a su microambiente. Cada organismo debe encontrar el lugar en el que se encuentran las condiciones óptimas para su desarrollo como pH, temperatura, disponibilidad de oxígeno y nutrientes. Al acomodarse cada microorganismo en su lugar correspondiente y establecer sus funciones, se optimizan la utilización de nutrientes, espacio y se crean relaciones mutualistas o de otro tipo en la comunidad.

Cuando las bacterias han formado la biopelícula, y se ha establecido la estructura de la misma, una gran cantidad de factores empiezan a formar parte de la supervivencia y el funcionamiento de cada uno de los organismos. Estos se organizan de tal forma que cada uno cumple unas funciones específicas dentro de la biopelícula y se establece una comunidad.

En la siguiente imagen se ve el comportamiento de la biopelícula en cuanto a desarrollo. Los microorganismos que se tiñen de naranja son los que están creciendo rápidamente, mientras que los que se encuentran teñidos de verde son aquellos que presentan una tasa de crecimiento lenta o nula.

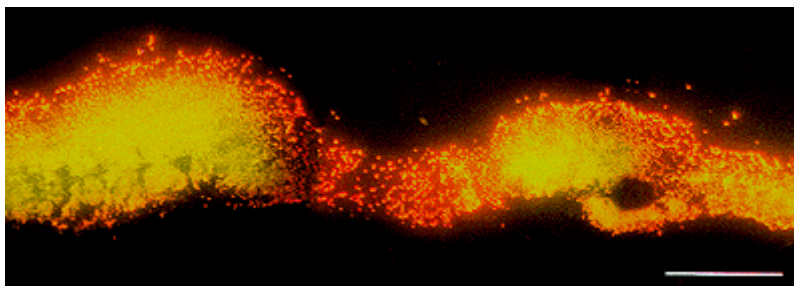


Figura 16: Dinámica de la biopelícula .¹⁶

Se puede ver que los microorganismos que se encuentran en contacto con el agua (parte superior) son los que muestran una tasa de crecimiento mayor y los que se encuentran en el centro la menor. Posiblemente esto se deba a la disponibilidad de nutrientes que tienen. Por otro lado, se puede ver que en las partes en las que la biopelícula es delgada, todos los microorganismos presentan una tasa de crecimiento rápida. (42)

La comunicación entre bacterias está asociada con la acumulación de moléculas que funcionan como señales y que regulan la transcripción genética. Las señales moleculares producidas por células individuales, no tienen ningún efecto hasta que la densidad bacteriana es suficiente para proveer la concentración de moléculas necesaria que pueda atravesar las membranas celulares y hacer que las células comiencen a producir toxinas, enzimas u otras sustancias según se requiera. Las sustancias que segregan son absorbidas por otras células, las cuales leen la información contenida en la sustancia que produjo la otra y envían un mensaje nuevo; de esta forma, los mensajes pasan de una célula a otra. Esta forma de comunicación es ideal para las bacterias que forman parte de la biopelícula, si se tiene en cuenta que la posibilidad de perder la sustancia “mensajera” es muy baja, ya que ésta se desplaza por la sustancia extracelular viscosa que está sosteniendo a la biopelícula, evitando la interacción directa con la corriente de agua.(42) Se sabe que los sistemas de comunicación entre bacterias de la misma especie funcionan bastante bien; sin embargo, hay muchas dudas acerca del funcionamiento de estos sistemas cuando hay varias especies.

¹⁶ <http://www.erc.montana.edu/CBEssentials-SW/research/Control/wentland-caption.htm>

Se cree que la comunicación puede ayudar a la acomodación y a la alteración de diferentes especies. (2)

Conocer las moléculas que hacen parte del sistema de comunicación de las bacterias podría ser de gran utilidad para controlar el crecimiento de las biopelículas. Si se logra manipular las sustancias de comunicación, de forma que se puedan bloquear las señales, la formación de las biopelículas no sería exitosa. Posiblemente las células muten como una reacción a los cambios a los que se ven obligadas, pero podría ser un buen mecanismo de control.

Una vez una bacteria se ha adherido a una superficie cambia. El cambio más obvio es que comienza a secretar las sustancias poliméricas para formar la biopelícula; sin embargo, también puede cambiar en el ámbito genético ocasionando prácticamente un organismo completamente nuevo. Por esto, las células planctónicas son tan diferentes a las sésiles y no tiene sentido estudiar y atacar las que se encuentran libres cuando los problemas graves en las tuberías los ocasionan las bacterias que se encuentran adheridas a las superficies.

3.2.2.2 Regeneración

La regeneración es un proceso de suma importancia en la dinámica de las biopelículas. Se conoce que al llevar a cabo cualquier proceso de tratamiento o control no se elimina el 100% de la biopelícula existente lo que trae como consecuencia que los organismos que sobreviven vuelvan a reproducirse y que ésta se genere nuevamente. La biopelícula remanente posee la cantidad suficiente de organismos para que estos se reproduzcan e inicien de nuevo el proceso de formación. Por otro lado la nueva superficie es mucho más rugosa que la superficie original (tubería), por lo tanto los organismos colonizadores que se encuentran libres en el agua pueden encontrar facilidades para adherirse a la superficie y formar de nuevo la biopelícula. Una vez ha pasado el proceso de tratamiento, las células que sobreviven tienen acceso más fácil a los nutrientes que quedan libres en el agua. Los organismos supervivientes segregan rápidamente más sustancias extracelulares que los protegen instantáneamente de los efectos de los desinfectantes. No todos los organismos

son igualmente susceptibles a los efectos de los desinfectantes y, por lo general, los que se ven menos afectados son los mayores productores de limo.

Factores como la temperatura y la disponibilidad de nutrientes en el agua ayudan a que se dé el fenómeno de regeneración. Las aguas que presentan temperaturas altas tienen mayor porcentaje de regeneración que las que tienen temperaturas bajas.

3.2.2.3 Desprendimiento

El desprendimiento de biopelícula es un proceso aleatorio causado por inestabilidades locales y físicas combinado con fuerzas externas. Es un proceso de suma importancia en la dinámica de la biopelícula, ya que mantiene el equilibrio de la misma, con este se asegura que la biopelícula tenga un espesor constante, haya regeneración de organismos, flujo de nutrientes y se crea la posibilidad de generación de nuevas biopelículas aguas abajo.

El desprendimiento o pérdida de biomasa en las biopelículas es el resultado de diferentes procesos: abrasión, erosión, predadores y separación de células muertas. La erosión es causada por la acción de las fuerzas cortantes, mientras que la abrasión es ocasionada por la colisión de las partículas que conforman la biopelícula y partículas externas. Estos dos tipos de desprendimiento normalmente ocurren en toda la superficie de la biopelícula pero no la retiran del todo, únicamente la capa más superficial.

Cuando la biopelícula tiene una gran porción de células muertas, se puede dar desprendimiento total de ese sector, es decir que se desprende todo el espesor de la biopelícula. En este caso, el desprendimiento no ocurre en toda la superficie sino únicamente en las zonas que hayan muerto.

Otra forma de desprendimiento se da cuando la biopelícula se desliza, en este caso los microorganismos forman una especie de bola con la matriz y comienzan a rodarse para desplazarse a través de la superficie de la tubería.

Las bacterias se pueden desprender de las biopelículas de forma individual o en grupos. Cuando lo hacen de forma grupal, mantienen sus características como biopelícula, por lo que permanecen resistentes ante los desinfectantes. (42)

Como se había mencionado anteriormente, la matriz de las biopelículas tiene una consistencia viscoelástica, esto permite que se mueva en el agua y que sufra deformaciones. Analizando el comportamiento de las biopelículas, se puede ver que a la tubería se encuentra adherida una especie de cabeza, que consiste en una parte gruesa y abultada de la superficie, a ésta se encuentra adherida una especie de cola que tiene movimiento y también hace parte de la biopelícula. Cuando se presenta el fenómeno de desprendimiento, la parte que se suelta suele ser la cola que ya se encuentra alargada debido a las fuerzas cortantes y a la velocidad del agua. (42)

El desprendimiento ocasionado por los depredadores es ocasional y localizado, cuando los predadores encuentran su alimento en alguna zona de la biopelícula se asocian a esta toman los nutrientes que necesiten y se desprenden nuevamente en búsqueda de nuevo alimento. En este proceso los organismos que se asocian desprenden organismos y componentes de la biopelícula y dejan nuevos compuestos y sustancias que posiblemente son utilizadas por otros organismos. (36)

En el estudio (25), se estudió la relación que puede tener el proceso de desprendimiento de una biopelícula con la concentración de nutrientes en el agua. Los resultados que se obtuvieron muestran una clara relación en la que se establece que cuando hay escasez de nutrientes en el ambiente, la tasa de desprendimiento de la biopelícula aumenta.

4 FACTORES DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO

El pequeño número de microorganismos que puede sobrevivir al tratamiento de agua y los que se encuentran en los sistemas de distribución, tienen la capacidad de crecer y multiplicarse bajo las determinadas condiciones ambientales para colonizar las paredes de las tuberías de las redes de distribución de agua potable. Las circunstancias que permiten el crecimiento y el desarrollo de los microorganismos son el resultado de la combinación de diversos factores, por lo que no se puede decir que solamente uno sea el responsable o que sea más o menos determinante que los demás.

4.1 Material

Cuando se habla de los materiales de la red de distribución de agua potable, es importante tener claridad de los componentes que se están teniendo en cuenta. Se habla principalmente de los materiales de las tuberías, sin embargo se deben analizar los materiales de las válvulas, las uniones, los arreglos y los empaques. Además de los tubos, los otros materiales utilizados en la infraestructura del sistema pueden servir como material de soporte para las biopelículas.

Los materiales que conforman la infraestructura de los sistemas de distribución de agua potable son sumamente importantes, es necesario asegurar que estos no afecten la calidad del agua que está siendo transportada. Es importante asegurar que no produzcan olor o color alguno, ni compuestos químicos y por último que no faciliten el crecimiento de biopelículas en la superficie. Cuando se escoge el material del cual va a estar hecha la tubería se deben tener en cuenta diversos factores como por ejemplo, la susceptibilidad a corrosión, las propiedades microbiológicas, las propiedades químicas y físicas, el impacto ambiental, el costo y la relación del material con materiales ya existentes en la red de distribución. Un factor de suma importancia es el peso del material; entre menor sea el peso del material, menor será el impacto ambiental del mismo, por ejemplo los materiales plásticos ocasionan menos consecuencias ambientales que el hierro y el cobre. Por otro

lado, se debe tener en cuenta las características de los materiales para planear bien su instalación teniendo en cuenta los cuidados necesarios para que el material no se afecte y conserve sus características durante su vida útil (17).

En diferentes estudios se plantea una relación directa e importante entre los materiales de las tuberías y la formación de las biopelículas en las mismas. Los materiales pueden llegar a proporcionar nutrientes a los microorganismos, lo que facilita la formación de biopelículas en sus paredes. Los pegantes y plastificantes que se usan en la red de distribución pueden servir como nutrientes para los microorganismos. También es posible que las bacterias obtengan nutrientes metálicos del acero inoxidable y otros materiales. (11,13,21,22,37,39) Para comprobar el aporte de nutrientes por parte de los materiales, se realizó un experimento que consistió en la incubación de muestras de diferentes materiales en agua estéril. El ensayo consistió en colocar secciones de 3cm² de diferentes materiales, previamente esterilizados, sumergidos en agua estéril. Después de tres días se analizó el agua y se midió el carbono orgánico total (COT) en cada una de las muestras. Con este estudio se pretendía mostrar la influencia que puede tener cada uno de los materiales en el suministro de carbono al agua. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla: (13).

| MATERIAL | COT (mg / l) |
|---------------------|--------------|
| Vidrio (control) | 2.78 ± 0.4 |
| Cobre | 4.15 ± 0.17 |
| Polibutileno | 4.46 ± 0.15 |
| PVCc | 6.02 ± 0.11 |
| PVCu | 5.42 ± 0.11 |
| Polipropileno | 5.98 ± 1.56 |
| Polietileno | 179 ± 0.82 |
| Etileno – propileno | 157 ± 0.84 |
| Latex | 320 ± 19.4 |

Tabla tomada de (13)

El material de la tubería también influye en la rapidez con la que se forma una biopelícula y en el tipo de colonizadores primarios y, por lo tanto, de biopelícula que se va a presentar y sus características como diversidad, estructura, densidad y espesor. (13,20,21,22,30) En el estudio anterior (13), se encontró que en todos los materiales probados se formó biopelícula y que cada una de estas presentaba características diferentes. Las bacterias pioneras, que fueron las encargadas de la colonización, fueron diferentes en cada caso por lo que las biopelículas fueron diferentes en diversidad, abundancia y morfología.

A pesar de los resultados obtenidos en diferentes estudios, aún existen estudios en los que se afirma que el material de la tubería realmente no influye en la formación las biopelículas: “Aún no se ha descubierto el material al cual los microorganismos no se puedan adherir. Los estudios han mostrado que los microbios se pueden adherir al acero inoxidable, al teflón, PVC y PVDF con la misma facilidad.”¹⁷ (39)

Metales:

Hierro: Se ha demostrado que las tuberías de hierro estimulan el crecimiento de biopelículas. Factores como la corrosión, la formación de tubérculos y de huecos, ayudan a crear una atmósfera favorable para el crecimiento de las biopelículas, especialmente en aguas pobres de nutrientes. (5,30). El hierro también interfiere en la acción del cloro haciendo aún más favorable el ambiente para los microorganismos. Por otro lado se ha observado un crecimiento más rápido y una mayor densidad en las biopelículas que se forman en este material, lo cual puede ser consecuencia de una serie de características como acumulación de nutrientes (tubérculos), rugosidad de la superficie y demanda de desinfectante. (11,30)

¹⁷ MAYETTE (1992), www.edtrom.com.

Comparando las tuberías de hierro con las de PVC se ha encontrado que en las primeras, el número de bacterias, la velocidad de formación y la diversidad de las biopelículas es mucho mayor en todos los casos. (11)

Acero fundido: En un estudio realizado¹⁸, se muestra la presencia de una biopelícula semejante en superficies de acero fundido, y acero fundido recubierto con mortero y con cemento. En todos los casos la biopelícula es muy similar y no se presenta deterioro del material de la tubería. Las biopelículas que se forman en este material albergan una gran cantidad de microorganismos. (13)

Acero inoxidable: Es el material metálico que menos microorganismos contiene en la biopelícula, comparado con los demás. (13)

Cobre: Las biopelículas que se forman en el cobre tienen una estructura característica que consiste en dos capas: la primera, que se encuentra en contacto con el cobre, está formada únicamente por la sustancia polimérica extracelular. La segunda está formada por bacterias que no se encuentran embebidas en la sustancia extracelular, pero que utilizan cápsulas como medio de protección. (21). Se ha encontrado que en este material la formación de la biopelícula es lenta y posee una cantidad mínima de especies de microorganismos, (20) la biopelícula que se forma es menos densa que la del PVC a cualquier temperatura. Posiblemente se deba a que los iones de cobre inhiben la presencia de algunos nutrientes que son necesarios para el crecimiento de cierto tipo de bacterias, por ejemplo de *L. Pneumophila*. (10)

¹⁸ POULTON W. y MIXON M. 1992. Investigation into de Degradation of Mortar Linings and Concrete by Microorganisms in Industrial Water Systems. Water Research Commission Report No. 398/1/93. SA.

Cementos:

En diferentes estudios se ha comprobado que los materiales de cemento tienen menor capacidad de albergar biopelículas que los materiales metálicos (21).

Concreto: durante varios años se han relacionado los microorganismos con el deterioramiento del concreto. (21). Se cree que es un proceso complejo en el que se ven involucrados diferentes tipos de microorganismos tales como las bacterias reductoras de azufre.

Plásticos:

Materiales sintéticos: (polietileno) Estos materiales han tenido gran acogida en los últimos tiempos gracias a la gran cantidad de ventajas que presentan: resistencia a diversos químicos y a la corrosión, no tienen conductividad eléctrica, costos competitivos, flexibilidad y fácil manejo, transporte e instalación. A pesar de la enorme cantidad de ventajas que tienen estos materiales, algunos contribuyen a la formación de biopelículas.

Los materiales elásticos como el látex, contribuyen a la formación de biopelículas, ya que proveen los nutrientes necesarios para su formación, desarrollo y crecimiento. (13) Las tuberías de estos materiales dejaron de ser utilizadas debido a los problemas biológicos que causaban; sin embargo, hay diversos componentes como empaques, accesorios de la ducha, entre otros, que están hechos de estos materiales y forman parte de la red de distribución de agua potable y que por ende son fácilmente colonizados por microorganismos. Las biopelículas que se forman en estos materiales son continuas y crecen muy rápidamente. (13)

Materiales plásticos: (PVCu, PVCc, MDPE) Se han hecho algunas comparaciones en las que se han encontrado que la cantidad de biopelícula que se forma en estos nuevos materiales es considerablemente menor que la que se forma, por ejemplo, en tuberías de hierro dúctil. (21). Por otro lado, se han realizado ensayos en los que los resultados

muestran un desarrollo exactamente igual de biopelículas en PVC y en acero. (4,37) En comparación con el cobre se ha encontrado una mayor formación de biopelícula en los materiales plásticos. Se encontró un número reducido de colonizadores de crecimiento rápido, pero una gran cantidad de colonizadores de crecimiento lento. La biopelícula que se forma es de crecimiento lento pero de una gran diversidad y una gran densidad. Los resultados que se obtuvieron fueron mayores para el polietileno que para el PVC. (20)

Se ha planteado que los plastificantes y demás componentes del material, pueden llegar a ser directamente utilizados por algunas comunidades de microorganismos, creando una relación directa entre el material y la biopelícula. (13).

El proceso de crecimiento de la biopelícula es diferente al de los materiales elásticos. El proceso es mucho más lento. El primer paso es la formación de pequeñas microcolonias, las cuales poco a poco se vuelven más densas y se juntan. También se ha observado que el proceso de crecimiento de la biopelícula en el plástico es igual para todas las temperaturas en un rango de 20°C a 60°C. Los materiales plásticos son capaces de proveer ciertos nutrientes a los microorganismos; sin embargo, se cree que esto no es relevante ya que la contribución es mínima. Por otro lado, se ha encontrado que en la superficie de estos materiales pueden existir ciertos huecos e imperfectos causados en el proceso de manufactura, los cuales se convierten en los principales nichos y los lugares que son colonizados en primer lugar por los microorganismos. Este fenómeno colabora con la formación de las biopelículas en los materiales plásticos ya que estos lugares protegen a los microorganismos de las fuerzas cortantes, porque actúan como barreras protectoras permitiendo el libre desarrollo de los colonizadores. (13)

- *Rugosidad*

La rugosidad de la tubería es importante, si se tiene en cuenta al aumentar ésta, aumenta el área superficial y por ende la tubería tiene mayor capacidad para servir de nicho a las

bacterias. Si la rugosidad es muy alta, el acceso a la biopelícula por parte de los desinfectantes y diferentes tratamientos de control es más difícil.

Algunos estudios realizados en Suiza (31), comparaban el desarrollo de biopelículas en acero inoxidable pulido eléctricamente y con acabado mate y en PVC en redes de distribución de agua potable. Cuando se midieron la cantidad de microorganismos en cada una de las superficies, no se encontró diferencia en la cantidad de células presentes en PVC y el acero inoxidable electropulido. Sin embargo, al comparar los dos tipos de acero, se encontraron 1.4 veces más microorganismos en el acero mate que en el pulido eléctricamente. Buscando una explicación para esta diferencia, se plantearon las siguientes hipótesis:

- Los dos materiales tienen una rugosidad considerablemente diferente, siendo bastante más rugoso el acero mate. Posiblemente esto influyó en los resultados.
- Al ser mayor la rugosidad del acero mate, este ofrece una mayor área de superficie, razón por la cual una mayor cantidad de microorganismos se puede establecer en la biopelícula.
- La rugosidad provee diferentes lugares en los cuales los microorganismos se pueden “acomodar” formando nichos protegidos de las fuerzas cortantes. Por esta razón, se encuentra una mayor cantidad de microorganismos en las superficies con mayor rugosidad. (37,39)

En otros estudios se ha encontrado que a pesar de que la rugosidad influye en los primeros pasos de formación de la biopelícula no es un factor determinante. Aún no se ha encontrado ninguna superficie en la que no se forme biopelícula; por lo tanto, se plantea que aunque los primeros pasos en la formación de las biopelículas se lleven a cabo de forma más rápida en los materiales con mayor rugosidad, en todo caso la biopelícula se va a desarrollar en todos los materiales y los resultados finales van a ser iguales en todos los

casos.¹⁹ En estudios realizados en Bélgica comparando el desarrollo de *Pseudomonas Aeruginosa* en acero inoxidable con diferentes rugosidades se encontró que los microorganismos se adhieren con igual facilidad en cualquier rugosidad y por otro lado que la cantidad de microorganismo presentes por cm^2 no es proporcional a la rugosidad del material.(39)

A continuación se muestra un esquema mediante el cual se compara la rugosidad de diferentes materiales con el tamaño de los microorganismos. En este caso se escogió el tamaño de *Pseudomonas Aeruginosa* debido a que su tamaño es promedio.

En los tres casos se trata de tuberías de acero inoxidable, la diferencia está en el terminado que se le da al material. (39) En la primera muestra una tubería que se utiliza para instalaciones de uso sanitario, servicios de comida y farmacéutico. En la segunda, se puede ver la fotografía del mismo material que se ilustró en la primera figura, colonizado por bacterias *P. Aeruginosa*. Como se puede ver, los “baches” son lo suficientemente grandes para contener las diferentes bacterias.

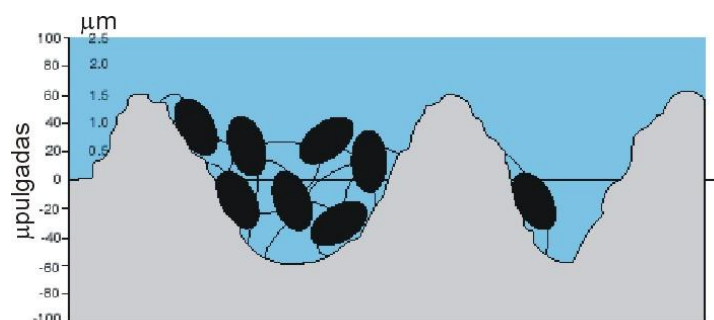


Figura 17: Superficie muy rugosa .²⁰

¹⁹ MELTZER (1993), www.edstrom.com

²⁰ www.edstrom.com

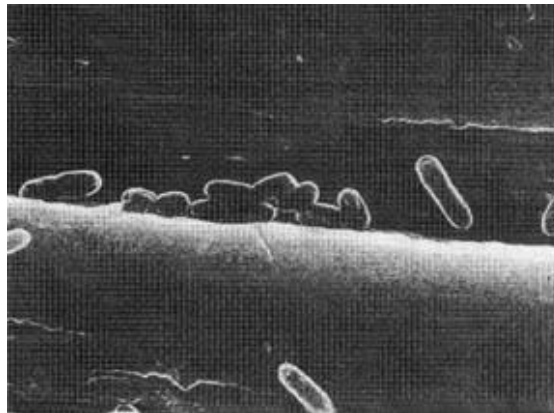


Figura 18: Imagen real de la representación de la figura anterior.²¹

Aquí se puede ver que en los “baches” que tiene la tubería debido a la rugosidad se puede acomodar un gran número de bacterias. Esto puede influir en el efecto que tienen los desinfectantes y las fuerzas cortantes en la biopelícula, ya que en estos lugares son menos susceptibles a las consecuencias que estos puedan ocasionar. La tubería está sirviendo de protección a la biopelícula.

En la siguiente figura se ve una tubería que es utilizada principalmente para inyección de agua.

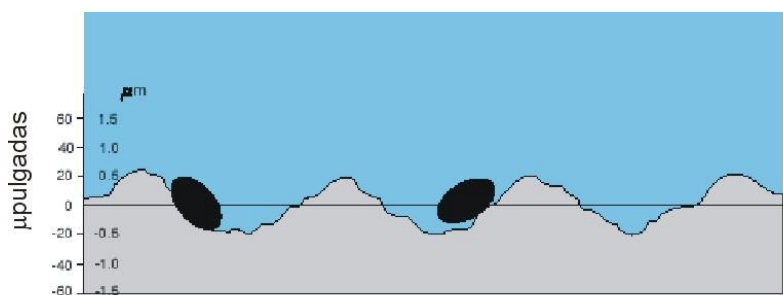


Figura 19: Tubería para inyección de agua.²²

En esta figura no es tan evidente el efecto “protector” que puede cumplir la pared de la tubería con respecto a la biopelícula. Los baches en la tubería son de menor tamaño; aún pueden servir de nicho para la acomodación de las bacterias, pero posiblemente su efecto

²¹ www.edstrom.com Gillis 1996

²² www.edstrom.com Gillis 1996

protector ante factores como los desinfectantes y las fuerzas cortantes no sea igual de efectivo que en el caso anterior.

La última figura corresponde a acero polichado eléctricamente (misma rugosidad del PVC)

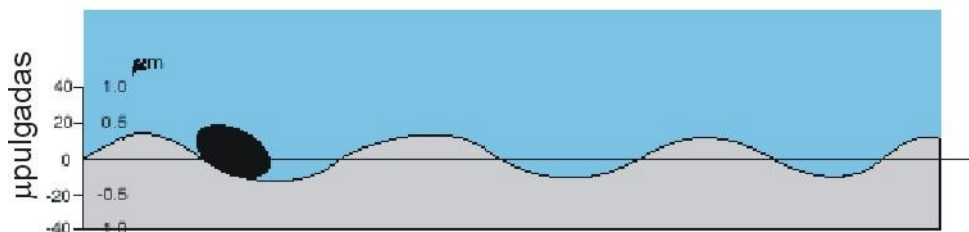


Figura 20: Tubería con la menor rugosidad .²³

En este caso los baches son prácticamente nulos; por lo tanto, la tubería no va a afectar con tanta claridad los efectos de los desinfectantes y las fuerzas cortantes. Esto no quiere decir que las bacterias no tengan la capacidad de adherirse a este material, implica que no van a tener lugares que faciliten su colonización.

4.1.1.1 Materiales en la red de distribución

Hasta hace muy poco tiempo la mayoría de las redes de distribución eran construidas con materiales inorgánicos. Los más comunes eran hierro y acero, en algunos casos se utilizaba un recubrimiento interno de mortero, cemento o material bituminoso. Para las instalaciones domésticas, los materiales más utilizados eran el acero galvanizado y el cobre. Hoy, la tendencia es reemplazar estos materiales por plásticos. Las razones principales son dos: los materiales metálicos presentan muchos problemas relacionados con la corrosión y con la vida útil de las tuberías, y por otro lado las nuevas tecnologías permiten instalaciones más sencillas y económicas cuando se utilizan materiales plásticos.

²³ www.edstrom.com Gillis 1996

A medida que se reemplaza o se amplía una red de distribución, los materiales que forman parte de la misma pueden ser diferentes y esto puede traer consecuencias en la formación de las biopelículas, por lo que se debe entrar a analizar la sucesión de los materiales en las redes de distribución. Por ejemplo, se ha comprobado que las tuberías de cemento y la corrosión de las tuberías metálicas aumentan el pH del agua, lo cual puede traer consecuencias en la formación de biopelículas en las tuberías que se encuentran aguas abajo.

En diferentes países se está llevando a cabo desde hace bastante tiempo, la renovación de las redes de distribución de agua potable, tanto principales como domésticas. En todos los casos los materiales que se están instalando son plásticos y estos están reemplazando las tuberías de materiales metálicos que se encuentran deterioradas a causa de la corrosión y del tiempo. También se ha vuelto frecuente la utilización de tuberías de acero inoxidable, principalmente en las instalaciones domésticas. Las tuberías de materiales de cemento cada vez son menos utilizadas y están siendo reemplazadas por nuevos materiales.

En Dinamarca la mayoría de las redes de distribución son de tuberías de hierro y las redes domésticas son una combinación de tuberías de acero galvanizado, cobre, y acero inoxidable. La tendencia actual es cambiar los tubos principales por materiales plásticos, especialmente polietileno y en las instalaciones domésticas cada vez son más comunes las tuberías de acero inoxidable.

En Alemania las redes principales son en su mayoría en acero y en hierro dúctil con un recubrimiento interno en mortero. En las instalaciones domésticas los más comunes son el acero galvanizado y el cobre. Se ha tenido un control muy estricto para mantener la calidad del agua y minimizarlos efectos de la corrosión y de los metales pesados. Las tuberías nuevas son en su mayoría de materiales plásticos, como polietileno, PVC, y acero inoxidable.

En Francia, al igual que otros países europeos, existen serios problemas de corrosión, razón por la cual las antiguas tuberías metálicas están siendo reemplazadas por tuberías de PVC y polietileno de alta densidad en las redes principales y por materiales plásticos en las redes domésticas. (17)

4.2 Nutrientes

Al igual que todos los seres vivos, las bacterias requieren ciertos nutrientes para su crecimiento y reproducción. Limitar los nutrientes del sistema podría controlar el crecimiento bacteriano en las tuberías. Sin embargo es importante tener en cuenta que los sistemas de distribución de agua potable que cuentan con los niveles más altos de purificación, cuentan con los nutrientes necesarios para el desarrollo de biopelículas en las paredes de las tuberías. (34,39) Las bacterias y otros organismos que tienen la capacidad de adaptarse y desarrollarse en ambientes con baja concentración de nutrientes reciben el nombre de oligotrofos. Las bacterias y otros microorganismos que tienen la capacidad de crecer y desarrollarse en las redes de distribución de agua potable, encuentran una serie de ventajas al asociarse para vivir como una biopelícula:

- Diferentes sustancias orgánicas se pueden concentrar en la superficie de las biopelículas.
- Las sustancias poliméricas extracelulares tienen la capacidad de concentrar diferentes nutrientes que atrapan del agua.
- Los colonizadores secundarios se alimentan del material de deshecho de los colonizadores primarios y así sucesivamente.
- Algunas bacterias se pueden asociar para producir enzimas especiales que les permiten metabolizar nutrientes que se encuentran en el agua, pero que no podrían ser utilizados sin la ayuda de las enzimas. (39)

Los microorganismos pueden ser clasificados según los compuestos que utilicen como energía básica: hidrógeno orgánico o inorgánico; como fuente de carbono: carbono

orgánico o inorgánico; y el tipo de aceptor de hidrógeno que utilicen: oxígenos, nitrógenos, azufre, dióxido de carbono o carbono orgánico. Los microorganismos heterótrofos son los más abundantes en las biopelículas; estos se caracterizan por utilizar carbono orgánico como fuente de carbono y de energía y oxígeno como receptor de hidrógeno. Los polisacáridos provenientes de las algas, los aminoácidos y los péptidos, son fácilmente biodegradables y pueden ser utilizados por las células bacterianas como fuente de carbono y energía. (8,21) Por ejemplo, la fuente de carbono influye en el desarrollo de la biopelícula, la diversidad de especies que la componen, su heterogeneidad, su densidad y espesor y su estructura. (1,20,32).

Los principales nutrientes que son necesarios para el crecimiento y desarrollo de las bacterias y su disponibilidad en las redes de distribución de agua potable se presentan a continuación:

| Nutriente | Fuentes |
|------------------|--|
| Carbono orgánico | Ácidos húmicos y fúlvicos (fuente de agua) Plastificantes y solventes de la tubería Fibra de vidrio-plásticos reforzados Lubricantes de las válvulas y bombas Subproductos microbianos Partículas de aire |
| Nitrógeno | Ácidos húmicos y fúlvicos (fuente de agua) Nitritos y nitratos (fuente de agua) Subproductos microbianos Partículas de aire |
| Fósforo | Fosfatos (fuente de agua) Subproductos microbianos Partículas de aire |

| | |
|-----------------|--|
| Azufre | Sulfatos (fuente de agua) Ácido sulfúrico Membranas de ósmosis reversa Partículas de aire |
| Metales y sales | Fuente de agua Tubería Fibra de vidrio-plásticos reforzados Componentes del sistema de acero inoxidable Químicos de la ósmosis reversa Partículas de aire |

Tabla tomada de <http://www.edstrom.com/>

Eventos como lluvias fuertes, vientos y tormentas pueden incrementar la cantidad de materia orgánica en el agua promoviendo la formación de biopelículas en las tuberías.

La materia orgánica presente en el agua potable, después del tratamiento, es de suma importancia, ya que provee carbono, como fuente de alimento y energía, a las bacterias. (8,20) Teniendo en cuenta esto, el crecimiento de las bacterias y por ende de las biopelículas puede ser controlado si se limita la cantidad de materia orgánica biodegradable (MOB). En diferentes estudios se ha mostrado que controlando la cantidad de MOB y de carbono orgánico asimilable (COA) se puede controlar y limitar el crecimiento bacteriano; sin embargo, no se puede evitar. (4,8,11,19,22,32,33,34) En diferentes estudios se ha encontrado una relación directa entre el COA y la cantidad de bacterias coliformes en los sistemas de distribución de agua potable. (33) Para poder mantener los niveles deseados de MOB, se requieren estándares muy altos en la calidad del tratamiento del agua, lo cual implica procesos más largos y un alza importante en los costos. Para controlar el nivel de nutrientes en el agua, se puede utilizar el tratamiento biológico, la coagulación, la filtración de membrana y el carbono activado. Cuando los nutrientes son escasos, el crecimiento de

las células libres permanece prácticamente intacto y a pesar del crecimiento celular, las bacterias pierden en cierto nivel la capacidad de formar biopelículas como consecuencia del estrés al que se encuentran sometidas. (8) Por otro lado, se debe tener en cuenta que al reducirse la cantidad de MOB en el agua, el cloro residual permanece más estable, lo que finalmente lleva a reducción en la densidad bacteriana del agua.

Contradiciendo la anterior afirmación, se ha visto que a pesar de la influencia que tiene la disponibilidad de MOB en el crecimiento de las bacterias, este no es el factor más importante en el desarrollo de las biopelículas, posiblemente factores como la temperatura y las condiciones hidráulicas afectan más. La baja disponibilidad de nutrientes en el agua no afecta las células libres suspendidas en la columna de agua (5,8,20), por lo que se podría pensar que el potencial de crecimiento de las biopelículas permanece intacto. Se ha visto que la disminución en los nutrientes afecta el proceso de adhesión a la superficie de la tubería, pero después de un tiempo las densidades de las biopelículas son muy similares a cuando hay condiciones normales en el ambiente. (34)

Analizando las propuestas anteriores, se puede decir que la reducción de la MOB, no va a detener el crecimiento de células bacterianas en los sistemas de agua potable, ya que esto tiene un efecto mínimo en el desarrollo de las biopelículas. Pero, por otro lado, la reducción de la materia orgánica disminuye la demanda de cloro e incrementa la estabilidad del desinfectante. La tecnología de purificación actual no permite la reducción total de los nutrientes que se encuentran en el agua; por lo tanto, el control de la formación de biopelículas en las redes de distribución de agua potable es imposible de realizar teniendo en cuenta únicamente este aspecto. Inclusive el hecho de reducir los nutrientes en las redes de distribución puede ser un estimulante para la formación de las biopelículas, si se tiene en cuenta que en este caso los nutrientes se van a acumular en la superficie de las tuberías. (20, 39)

Cuando los nutrientes son muy escasos, las bacterias tienen la capacidad de reducir su tamaño y de disminuir su actividad metabólica. El tamaño que alcanzan es muy pequeño,

cuando se encuentran en este estado reciben el nombre de ultramicrobacterias y pueden permanecer en este estado durante mucho tiempo. Mientras se encuentran bajo estas condiciones permanecen flotando libremente y cuando encuentran nuevamente condiciones apropiadas para desarrollarse, recuperan su tamaño normal y se pueden adherir a superficies. Este mecanismo de defensa hace que sea más difícil la eliminación y el control de bacterial por medio de control en los nutrientes. (42)

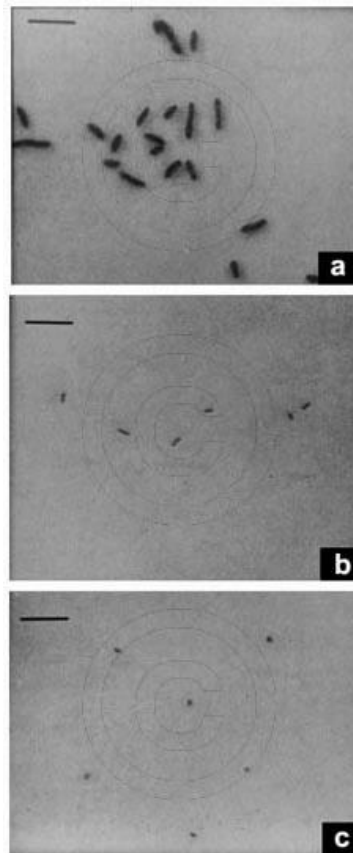


Figura 21: Mecanismos de defensa de las bacterias. Disminución de tamaño.²⁴

La disponibilidad de carbono orgánico asimilable, suele limitar el crecimiento de las bacterias heterotrófas en el agua potable. Sin embargo, se ha encontrado que en ausencia de carbono, las bacterias se adaptan y el fósforo puede pasar a ser el nutriente regulador de la población. Cuando se cambia la fuente de alimento por cualquier otro nutriente, se

²⁴ www.erc.montana.edu

cambian las condiciones en las que las primeras células colonizan la tubería, la tasa de crecimiento, la estructura y topografía de la biopelícula, la densidad y el espesor de la misma y la relación metabólica de la comunidad microbiana. Por ejemplo, cuando la fuente de alimento más utilizada es el fósforo, la comunidad bacteriana se altera: aumenta la cantidad de bacterias gram negativas y se ven cambios en la estructura de la comunidad. (4,6,11,20)

Cuando no hay limitación en los nutrientes, es probable que los microorganismos que presentan las mejores capacidades para crecer y adaptarse sean predominantes en la biopelícula. Por ejemplo, cuando se adiciona acetato, como fuente de carbono, únicamente la especie predominante es obtenida en los muestreos, en este caso *Pseudomonas* spp. (20)

4.3 Condiciones Hidráulicas

Diferentes condiciones hidráulicas, como los tiempos de residencia, los puntos muertos, la longitud de las tuberías, su diámetros, el caudal demandado, la presión, las condiciones de flujo y sus variaciones pueden afectar la supervivencia y el crecimiento de las biopelículas en las tuberías de agua potable.

Altas velocidades de flujo pueden incrementar la cantidad de nutrientes y de desinfectantes en contacto con la biopelícula, lo que afecta su formación; sin embargo, no pueden evitar la adhesión de los microorganismos a las paredes de la tubería, ni tampoco pueden desprender la totalidad de la biopelícula existente. (11,34,37,39). Esto se debe a diversos factores:

- **Mínima velocidad en la subcapa laminar viscosa:** Inclusive cuando el flujo en el centro de la tubería es turbulento, en las paredes de la tubería la velocidad del flujo tiende a cero. La zona en la que esto sucede, recibe el nombre de subcapa laminar viscosa.

- Mayor adhesión debido a la acción de exopolímeros: las bacterias que forman parte de las biopelículas desarrollan estructuras que las ayudan a mantenerse adheridas a la superficie de la tubería.
- El máximo espesor que puede alcanzar una biopelícula está determinado por la subcapa laminar viscosa. En un sistema con flujo constante, la biopelícula alcanza un espesor en equilibrio, el cual depende no solamente de la subcapa laminar viscosa, sino también de los nutrientes disponibles en el ambiente. Cuando el sistema tiene flujo variable, la biopelícula puede sufrir un desprendimiento obligado que reduce el espesor de la biopelícula instantáneamente. Sin embargo, la biopelícula tiene la capacidad de recuperar su espesor de equilibrio rápidamente.
- Densidad de la biopelícula: cuando la velocidad es muy alta, la biopelícula tiende a condensarse para hacerse más fuerte y evitar el desprendimiento. Los microorganismos crean una serie de asociaciones extra, de forma que puedan retenerse unos con otros.

En la siguiente figura se ilustra el efecto que tiene la velocidad del flujo en el espesor de la biopelícula. Se puede ver que a mayor velocidad, la capa límite está más cercana a la superficie de la tubería y por lo tanto el espesor de la biopelícula es menor. Se cree que además de ser más delgadas las biopelículas cuando las velocidades de flujo son altas, éstas son más densas. Al disminuir el grosor de las biopelículas, se aumenta el número de microorganismos libres en la columna de agua. (30,34,39)

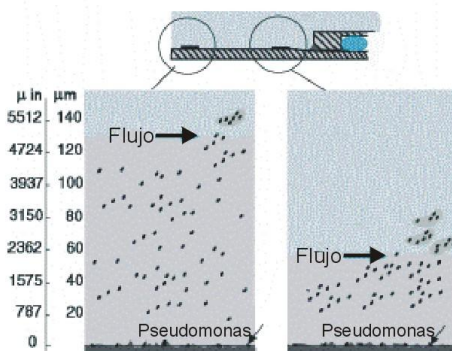


Figura 21: Efectos de la velocidad en el espesor de la biopelícula.²⁵

En el estudio (34) se observó el efecto que tenía la velocidad del flujo y la calidad del agua en el crecimiento microbiano en una red de distribución de agua potable. Se hicieron pruebas para tres velocidades diferentes y finalmente se encontró que en los tres casos el número total de células no es afectado por la velocidad, como tampoco lo es el proceso de adhesión a la superficie y el desarrollo de los microorganismos. Por otro lado, se comparó la adhesión de las células en un tanque y en las tuberías, se vio que en las tuberías la adhesión es menor que en los tanques, lo que puede demostrar el efecto que tiene la velocidad sobre este fenómeno.

Las fuerzas causadas por las condiciones hidráulicas influyen bastante en el proceso de desprendimiento de la biopelícula. Pueden actuar sobre la biopelícula las fuerzas cortantes, los cambios de presión en un flujo turbulento y la abrasión causada por partículas que se encuentren en la columna de agua y entren en contacto con la superficie de la tubería. (19)

Otro factor relacionado con las condiciones hidráulicas del sistema es el tiempo de residencia, tanto en las tuberías como en los tanques de almacenamiento. Cuando este es muy alto, se presenta un incremento en la producción de trihalometanos y una disminución en la concentración de cloro en el agua; esta es mayor cuando el agua es tibia que cuando

²⁵ www.edstrom.com

está a bajas temperaturas. (18) La interrupción en el flujo, estancamiento y el tiempo de residencia pueden causar que los tubérculos formados en las tuberías y las biopelículas se desprendan, pero al encontrarse en un área de bajo flujo la contaminación en la columna de agua se acumula y la calidad del agua es afectada notablemente. Además de esto, cuando el agua se estanca por cualquier motivo se presenta disminución en la concentración de desinfectante, lo que permite que aumente el crecimiento bacteriano. Por otro lado, se ha encontrado que la temperatura del agua aumenta cuando aumenta el tiempo de residencia, lo que trae consecuencias serias en la cantidad de microorganismos que pueden desarrollarse y crecer en el sistema. (22)

La eliminación de las zonas de baja velocidad y de los puntos muertos en los sistemas de distribución, puede ayudar a mejorar la calidad del agua transportada. Los puntos muertos pueden eliminarse con el uso de válvulas y evitando el estancamiento, mientras que las zonas de bajo flujo se pueden eliminar mediante el buen diseño del sistema. Se recomienda que la presión a lo largo del sistema sea constante.

4.4 *Temperatura*

La temperatura es posiblemente el factor más influyente en el crecimiento de microorganismos en las tuberías de agua potable, ya que afecta directa e indirectamente las condiciones físicas y químicas del sistema: la eficiencia de la planta de tratamiento, la tasa de crecimiento de los diferentes microorganismos, la efectividad de los procesos de desinfección, las tasas de corrosión y el comportamiento hidráulico del flujo en las tuberías. (11, 33)

Es sabido que los microorganismos tienen una gran capacidad para desarrollarse en diferentes condiciones y de adaptarse fácilmente a cambios en su entorno. Por lo general, las bacterias tienen capacidad de vivir en un rango muy amplio de temperatura. También se ha planteado que la diversidad y la cantidad de microorganismos presentes en un determinado momento en una muestra de agua, están relacionadas con los cambios

ambientales, como la temperatura. Por ejemplo, en los países que existen estaciones, se presenta una mayor diversidad de especies de microorganismos en las épocas de calor que durante los meses de invierno. (21)

Se ha encontrado que cuando la temperatura aumenta (mayor a 15°C), la frecuencia y la densidad de las bacterias aumentan. En la siguiente figura se puede ver la relación que hay entre la cantidad de coliformes y la temperatura promedio del agua.

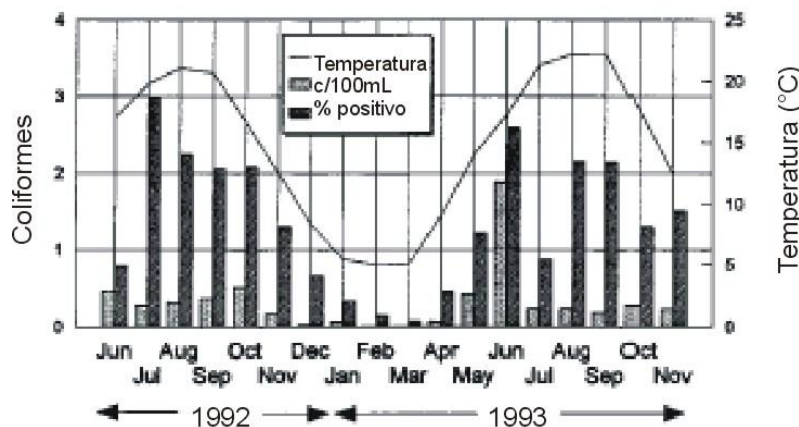


Figura 22: Relación entre la temperatura promedio del agua y la cantidad de coniformes en 31 sistemas de distribución..²⁶

Los sistemas de agua tibia (>15°C) por lo general utilizan cloramina como desinfectante para controlar el crecimiento bacteriano. (33)

La relación entre la temperatura y el crecimiento bacteriano es diferente para cada sistema y está relacionado con todos los demás factores que afectan el desarrollo de los microorganismos. Sin embargo, se mantiene un comportamiento general, en el que a mayor temperatura mayor desarrollo y crecimiento de microorganismos. (21,22,23,33)

²⁶ (33) Página 2204

Cuando la temperatura aumenta, también aumenta la concentración de carbono orgánico biodegradable disuelto en el agua, lo que puede contribuir a que aumente el número de microorganismos que se encuentran en el sistema. (22)

Cada microorganismo tiene un rango de temperatura en el que puede vivir, en ese rango se encuentra una temperatura específica en la que presenta su desarrollo óptimo. Por ejemplo, se sabe que *Legionella pneumophila*, puede vivir entre los 5.7 y 63°C, una vez sobrepasa cualquiera de los dos límites deja de existir. Por encima de los 50°C se reduce notablemente su densidad. (10) Tener conocimiento de estos rangos puede ser útil para controlar el crecimiento bacteriano por medio de la temperatura del agua.

4.5 *Tratamientos de control*

La desinfección del agua para consumo humano es uno de los avances más significativos del hombre del siglo pasado, ya que gracias a esto se han reducido las enfermedades y las epidemias. El tratamiento secundario ha sido utilizado para retirar los microorganismos que se encuentran en la red de distribución y que escaparon del tratamiento primario.

Controlar el crecimiento de las biopelículas en las redes de distribución de agua potable es una práctica de suma importancia para asegurar la calidad del agua que está siendo entregada a los usuarios. Para lograr este objetivo se deben tener en cuenta diferentes factores; se puede minimizar la entrada de microorganismos al sistema, retirar las biopelículas existentes, se pueden eliminar los microorganismos existentes en el sistema y se pueden controlar los factores que favorecen el crecimiento y el desarrollo de las biopelículas para evitar su formación. Cada una de las opciones anteriores se pueden llevar a cabo mediante diferentes métodos que se pueden combinar para obtener mejores resultados.

Los microorganismos tienen diferentes formas de entrada al sistema de distribución de agua potable, es importante determinar estos mecanismos para plantear soluciones adecuadas

que disminuyan la población microbiana en los sistemas. Reduciendo el número de microorganismos que entran al sistema (semillas), se puede reducir el número de biopelículas en la estructura. En general, los microorganismos pueden ingresar al sistema directamente desde la fuente de agua o a través de alguna falla en el mismo sistema.

La mayoría de los microorganismos que colonizan los sistemas de distribución de agua, vienen directamente de la fuente de agua. Para que esto sea posible, es necesario que los microorganismos sobrepasen el tratamiento de potabilización, o que se filtren a través del suelo. La principal causa de crecimiento microbiano se debe a fallas en los procesos de desinfección primaria y a la pérdida de cloro residual durante la distribución.

Cuando se presentan uniones, válvulas o rupturas en las tuberías, es posible que microorganismos que se encuentran en el suelo o en el agua de escorrentía subsuperficial puedan entrar al sistema de distribución. Las rupturas de las tuberías son consecuencias de diversos factores: edad de la tubería, tamaño, caudal que transporta, calidad del agua y factores ambientales como temperatura y acidez del suelo. Las bacterias también pueden entrar al sistema por fisuras en la red. En ocasiones, entran cuando se presenta alguna reparación o algún proceso de reemplazo de infraestructura. Una vez los microorganismos están adentro del sistema es bastante complicada su eliminación.

Hay algunos microorganismos que son residentes del sistema de distribución y que no se encuentran en la fuente de agua. En este caso, es importante que los tratamientos secundarios, es decir los que se hacen en la tubería sean sumamente efectivos.

Cuando hay conexiones mal elaboradas y cuando la presión en el sistema no es adecuada, el agua se puede devolver en ciertos tramos, arrastrando microorganismos que se encuentran en diferentes partes del sistema o fuera de este. Este problema depende principalmente de la presión y de las condiciones de flujo. Los tanques que hacen parte de la estructura del sistema de distribución son un problema para la calidad del agua, ya que los tiempos de residencia y el estancamiento pueden afectar el desempeño de los desinfectantes

propiciando el crecimiento de microorganismos. Por otro lado la ausencia de flujo en los tanques ayuda a la formación de biopelículas en las paredes permitiendo el desarrollo de ambientes propicios para el crecimiento de nuevos microorganismos en el sistema. (11,15)

Las biopelículas pueden ser removidas o destruidas de diversas formas en el tratamiento secundario. Se pueden utilizar tratamientos tanto físicos como químicos. Los tratamientos químicos se dividen en dos grandes grupos: los que son oxidantes y no lo son. Los tratamientos físicos también se encuentran divididos en los abrasivos y los que se llevan a cabo cambiando la temperatura del agua.

4.5.1 Flushing

El lavado de las tuberías para remover sedimentos acumulados y biopelículas, es un proceso de mantenimiento básico que debe realizarse por lo menos una vez al año.

El proceso de lavado convencional consiste en abrir el hidrante y permitir el flujo de agua por la tubería hasta que esta salga completamente limpia. En este caso la velocidad es lenta y por lo tanto no es un proceso muy efectivo para retirar las biopelículas que se encuentran en las paredes de las tuberías. En el lavado unidireccional se lava previamente la tubería con alguna sustancia desinfectante, después se acomoda una porción de la red de forma que el flujo vaya en la misma dirección y se permite que el agua fluya hasta que salga completamente clara.

Mediante el lavado se puede remover la biopelícula, sedimentos y tubérculos que se encuentren en el sistema de distribución. Cuando los tubérculos son abundantes y de gran tamaño, el lavado es ineficiente y se debe recurrir a la utilización de procesos abrasivos.

El proceso de lavado puede limitar el espesor de la biopelícula. Las fuerzas cortantes causadas por el lavado, pueden arrastrar una parte significativa de la biopelícula; sin embargo, es común que una capa muy delgada permanezca aferrada a la tubería. El espesor resultante de biopelícula depende de la velocidad de lavado. Debido a esto, el proceso de lavado no permite evitar la recolonización de las tuberías por parte de los microorganismos.

4.5.2 Desinfectantes

Los organismos que se encuentran ligados con una biopelícula son mucho más resistentes a los desinfectantes que las células libres. La tasa de difusión de los desinfectantes, la reacción y la absorción por parte de las biopelículas son factores claves en el momento de escoger y aplicar el desinfectante. (11, 42)

En los sistemas de distribución se utilizan diferentes desinfectantes a lo largo del sistema de forma que se proteja el agua de la contaminación microbiana a lo largo de todo el trayecto de distribución. Este es un método secundario que complementa el tratamiento primario que se le hace al agua. Es importante tener en cuenta que no todos los microorganismos reaccionan igual ante los desinfectantes. Por ejemplo la bacteria *Aeromonas* es más susceptible a la acción del cloro que lo que puede ser la *Escherichia Coli*.

La concentración residual de los desinfectantes influye en la densidad y composición de la biopelícula, el crecimiento bacteriano puede ser controlado mediante una adecuada concentración de desinfectante. Para que esta cantidad requerida se mantenga constante y sea la adecuada se deben tener en cuenta diversos factores como la presencia de materia orgánica en el agua, material de la tubería, temperatura, tipo de microorganismos, condiciones hidráulicas del sistema entre otros.

Algunos de los desinfectantes más utilizados son: cloro, cloramina, ozono, dióxido de cloro, yodo y peróxido de hidrógeno.

- Cloro

La concentración de cloro en el agua puede afectar la población microbiana de la biopelícula, su acumulación y desarrollo. Se ha encontrado una relación entre la concentración de cloro y la formación de biopelículas. A mayor concentración, menor capacidad para la formación y el crecimiento de las biopelículas. (11,42)

Según el trabajo de Gibbs y su equipo, después de la cloración de un sistema, la reducción en el número de bacterias es muy rápida; sin embargo, cuando disminuye el porcentaje de cloro presente en el agua, se presenta crecimiento bacteriano instantáneamente. El cloro es un desinfectante muy efectivo, ya que no sólo cumple con la función de matar células bacterianas planctónicas, sino que por otra parte reacciona con las sustancias polisacáridas extracelulares, debilitando la estructura de la biopelícula. A pesar de esto, el cloro no necesariamente controla el crecimiento de las biopelículas; una vez que estas se han establecido, la concentración necesaria para eliminarlas es mucho mayor que la que normalmente se encuentra en los sistemas de distribución. (11, 21)

LeChevalier (21) notó que al final de los puntos muertos de las redes de distribución, donde la concentración de cloro residual es mínima o nula, la cantidad de bacterias es 23 veces mayor que la cantidad de bacterias en otras zonas de las tuberías. En los sistemas de distribución, el cloro desaparece debido a las reacciones que sufre con depósitos, corrosión y biomasa que se encuentran en la pared interna de los tubos. El decaimiento cinético del cloro depende del material de la tubería y de las condiciones hidráulicas del flujo. (20,39)

En altas concentraciones, el cloro es efectivo para desinfectar biopelículas en tuberías de hierro, cobre y PVC; sin embargo, no las elimina del todo.

Por otra parte, en diferentes estudios se ha comprobado la baja eficiencia del cloro para controlar biopelículas; se observó la misma densidad en las biopelículas con diferentes concentraciones de cloro y presencia abundante de coliformes cuando los niveles de COA son altos. Se ha visto que el cloro no tiene la capacidad suficiente para infiltrar completamente las biopelículas y de ahí que su efectividad sea baja. (11) Aparentemente algunos desinfectantes son mejores para el control de biopelículas: por ejemplo, la cloramina es menos reactiva y su estructura es más estable y gracias a estas características su permanencia en las redes de distribución es mayor y por lo tanto, puede penetrar las biopelículas. (11,39) A pesar de los resultados obtenidos con las biopelículas, se ha visto que es muy efectivo en la eliminación de células libres.

El punto en contra más importante que tiene el cloro es la reacción con la materia orgánica la cual forma trihalometanos y otros subproductos que son considerados cancerígenos.

La estabilidad del cloro libre en las redes de distribución de agua potable depende de varios factores:

- La concentración en la que se encuentre
 - La presencia y la concentración de catalizadores
 - El pH del agua
 - La temperatura del agua
 - La presencia de materia orgánica
 - La radiación ultravioleta que reciba el sistema
-
- Cloramina

Es un desinfectante de acción más lenta que el cloro, funciona para ciertos compuestos más específicos y reacciona lentamente con ellos. Es más efectiva penetrando y desactivando ciertos tipos de biopelículas, especialmente las que contienen productos corrosivos.

Se ha encontrado que el uso de cloramina en lugar de cloro libre es mucho más efectivo en la reducción de coliformes. (33) Esto se comprobó en un estudio realizado por LeChevallier, Welch y Smith (33), los resultados obtenidos se presentan a continuación:

| SISTEMA (mg/l) | No. de muestras recolectadas | No. de muestras positivas |
|-----------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| COLORO LIBRE | | |
| 0-0.2 | 11056 | 138 |
| 0.2-0.5 | 10637 | 36 |
| 0.5-1.0 | 14276 | 87 |
| >1.0 | 7803 | 118 |
| CLORAMINA | | |
| 0-0.5 | 11447 | 67 |
| 0.5-1.0 | 7106 | 20 |
| 1.0-2.0 | 7564 | 13 |
| >2.0 | 9835 | 83 |

Tomada de (33) p. 2206

Como se puede ver en los datos no existe una relación directa entre la cantidad de desinfectante y el número de bacterias presentes en el sistema. Las mejores condiciones se encuentran en el intervalo de 0.2 a 0.5 para el cloro libre y en el intervalo entre 1.0 y 2.0 para la cloramina. Estos resultados muestran que existen diversos factores que influyen en el crecimiento bacteriano y que no es suficiente el control por medio de los desinfectantes.

Esta efectividad es evidente con células libres en la columna de agua; sin embargo, no es tan clara cuando se trata de desinfección de biopelículas. (23) En la tabla también se puede ver que en todos los casos la cloramina es más efectiva para el control bacteriano que el cloro residual. (11,21,33)

Las bacterias suelen adquirir resistencia a los desinfectantes cuando los nutrientes son escasos; sin embargo, se ha comprobado que la cloramina es igual de efectiva en cualquier ambiente.

- Dióxido de cloro

El dióxido de cloro tienen características biocidas similares a las del cloro; sin embargo, este compuesto es muy inestable, por lo que debe ser preparado en el lugar en el que se va a aplicar en el momento de la inyección. Al igual que el cloro es corrosivo para los metales y es peligroso. Su uso se recomienda únicamente en casos especiales en los que se pueda certificar que su utilización es segura y que es necesario utilizar este desinfectante y no otro.

- Ozono

La desinfección con ozono es bastante efectiva, ya que su efecto es mucho más rápido que el del cloro y se necesitan concentraciones más bajas. Tiene la capacidad de reaccionar con la materia orgánica presente en el agua, por lo que puede eliminar olores, sabores y colores. Sin embargo es bastante inestable, por lo que debe ser preparado en el lugar y el momento de su aplicación. Por otra parte no todos los materiales de las tuberías son resistentes a la acción del ozono. Otra desventaja que tiene es que en algunos casos puede aumentar los niveles de carbono orgánico asimilable, lo que lleva a que se presente mayor crecimiento bacteriano en la red. (11)

- Resistencia de las bacterias a los desinfectantes

Se ha demostrado que algunas bacterias pueden sobrevivir y multiplicarse aún en la presencia de cantidades considerables de desinfectante en las redes de distribución de agua potable. (11,21). Las bacterias después de que han sufrido limitación de nutrientes pueden

presentar cambios en la estructura de la membrana, lo cual las lleva a ser más resistentes. El tipo de fuente de carbono también puede influenciar la fisiología de las células y, por lo tanto, sus características en cuanto a resistencia a los desinfectantes. En el estudio de (21), los resultados muestran que los principales cambios en las estructuras de las células fueron consecuencia de la fuente de carbono de la cual tomaban el alimento.

A parte de la escasez y el tipo de nutriente existen diversos factores que pueden influenciar la resistencia que presentan los microorganismos de las biopelículas ante los diferentes desinfectantes: la edad de la biopelícula, la agregación de células, la adhesión a una superficie, la formación de esporas y de cápsulas de protección. Por ejemplo, las bacterias adquieren resistencia al cloro con la edad de la biopelícula y la escasez de nutrientes y son mucho más difíciles de matar que los organismos planctónicos. En si, la estructura de la biopelícula, sus canales de comunicación, la producción de sustancias viscosas, el control en el crecimiento de la población, entre otros factores, hacen que los microorganismos que forman parte de la misma adquieran características especiales que los ayudan a resistir mejor la acción de los desinfectantes. En diferentes estudios se ha visto que las biopelículas tienen una gran capacidad de recuperación, y que son capaces de volver a su estado de equilibrio rápidamente aún después de un tratamiento de desinfección con cloro. (2,11, 21,37,39,42).

Resumiendo el comportamiento de los microorganismos que forman parte de una biopelícula, se puede decir que utilizan cuatro mecanismos efectivos que los hacen más resistentes a la acción de los desinfectantes:

- a) Se cree que los microorganismos que están en la superficie de la tubería reaccionan con la presencia de los desinfectantes y segregan sustancias que neutralizan la acción de los mismos. El fluido que está en contacto directo con la biopelícula tiene una concentración menor de desinfectante que lo que tiene el resto de la columna de agua debido a estas reacciones. De esta forma, cuando las sustancias desinfectantes empiezan el proceso de penetración de la biopelícula el efecto que hacen es cada

vez menor. Adicionalmente, la estructura de la biopelícula hace que este procedimiento sea muy lento.

- b) Debido a que el proceso de penetración de los desinfectantes en la biopelícula es muy lento, las capas de microorganismos que se encuentran hacia el interior de la biopelícula tienen suficiente tiempo para producir una reacción ante el estrés que se produce, de esta forma pueden segregar sustancias o crear mecanismos de protección. En este proceso hay algunas células que se sacrifican y mueren, pero sus señales de alerta sirven para que los microorganismos que se encuentren en el interior de la biopelícula reaccionen.
- c) La escasez de nutrientes en el agua u otras condiciones que crean un ambiente desfavorable hacen que los microorganismos modifiquen su actividad, lo que lleva a que se cree un microambiente de características diferentes a las iniciales en el que los desinfectantes no pueden atacar a los microorganismos, o su efecto es notablemente reducido.
- d) Otro mecanismo de defensa es la reproducción abundante, de esta forma a pesar de que muchos microorganismos mueran por la acción de los desinfectantes, se mantiene un equilibrio en la población microbiana, o en todo caso se recupera rápidamente.

A pesar de los estudios hechos y de las hipótesis que se han planteado no se sabe a ciencia cierta cuáles son los factores que hacen que las bacterias asociadas con biopelículas sean más resistentes que las que se encuentran libres en la columna de agua. En un estudio realizado en el CBE (Center for Biofilm Engineering) se encontró que los cambios que se producen en las bacterias cuando se asocian con las biopelículas se encuentran ligados con alteraciones genéticas. Al producirse estas variaciones nivel de los genes, parece que los microorganismos adquieren características fenotípicas que los hacen más resistentes a la acción de los desinfectantes. (42)

En la siguiente gráfica se hace una comparación entre el comportamiento ante la presencia de cloro de las células libres y de las que se encuentran en biopelículas.

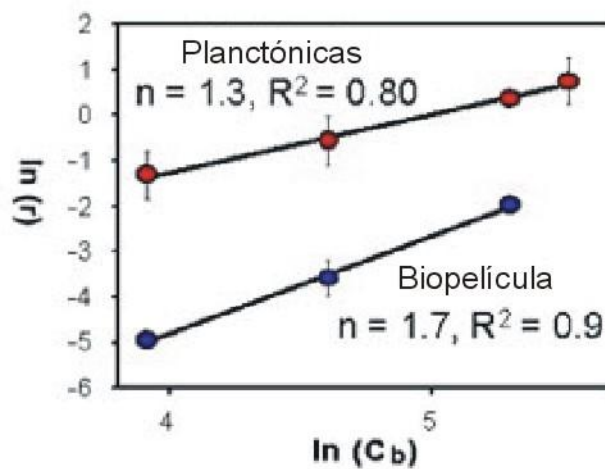


Figura 24: Efecto del cloro en las células planctónicas y en las biopelículas.²⁷

En la gráfica es muy claro que las tasas de mortalidad entre los dos tipos de células son muy diferentes. Las bacterias que se encuentran en las biopelículas son más resistentes. Por otro lado, se puede ver que a medida que se aumenta la concentración de cloro en el agua, el efecto es más notorio en las bacterias de las biopelículas que en las libres. (42)

4.5.3 Reparación y reemplazo de las tuberías

En algunos casos, cuando en las tuberías se presenta colonización severa de biopelículas, casi ningún sistema de control o tratamiento funciona para retirarlas. En estos casos es necesario cambiar la tubería por una nueva. Los arreglos temporales (p.e. tratamiento de control) pueden resultar más costosos en el largo plazo que realizar cambios totales en la tubería. Reemplazar las tuberías es un proceso muy efectivo para el control de las biopelículas. Cuando en los sistemas se presentan problemas constantes de contaminación

²⁷ www.erc.montana.edu

o deficiencias es aconsejable organizar un programa para reemplazar la infraestructura en sectores relevantes.

4.5.4 Control del flujo

En este aspecto entra el manejo hidráulico que se tenga del sistema de distribución. Un problema que se presenta en el control de la calidad de agua es el tiempo de residencia de esta en el sistema y el tiempo de almacenamiento que se le de. Los tanques de almacenamiento son necesarios para garantizar buena presión en el sistema, protección del fuego y reserva de agua. Sin embargo, los tanques son lugares en los que el agua se estanca ocasionando que los desinfectantes se disipen y que la calidad microbiológica del agua disminuya.

4.5.5 Control de la corrosión

Se cree que es más efectivo para el control de biopelículas, controlar la corrosión que el nivel de nutrientes en el agua. Por medio del control de la corrosión se puede llegar a inhibir el crecimiento de biopelículas ya que la corrosión es uno de los factores que está plenamente relacionado con el crecimiento de estas. El control de la corrosión puede afectar el proceso de desinfección de las biopelículas ya que este aumenta la concentración de cloro libre en el agua. (11)

Existen diferentes formas de controlar la corrosión en las tuberías de agua potable. Controlando la alcalinidad, el pH, la dureza y adicionando inhibidores del silicato de sodio. (17)

4.5.6 Control de materia orgánica biodegradable (tratamiento primario)

Debido a que el carbono es la fuente primaria de energía y de alimento para la mayoría de los microorganismos de los sistemas de distribución de agua potable, los procesos de

formación y crecimiento de las biopelículas son controlados en cierto nivel mediante la disminución de nutrientes en el ambiente.

Para lograr un control efectivo de los nutrientes, existen diferentes métodos:

- Tratamiento biológico

El tratamiento biológico consiste en colocar un filtro a la entrada del sistema de distribución de agua potable, el cual permite la formación de biopelícula en su superficie y reduce la biopelícula que se forma normalmente en las paredes de las tuberías. El filtro está formado por una serie de capas de piedra, plástico o arcilla.

El tratamiento biológico trae muchos beneficios al tratamiento de agua potable, remueve los microcontaminantes, ejerce control sobre el color y el olor y reduce la demanda de cloro. Es una tecnología que se utiliza para disminuir el porcentaje de carbono orgánico asimilable en el agua, mediante actividad microbiana, se reduce el porcentaje de COA en el agua que va a entrar al sistema, es una especie de filtración biológica. Complementando este proceso se suele utilizar la preozonización, la cual consiste en oxidar la materia orgánica para convertirla en materia que sea más fácilmente digerida por los microorganismos del tratamiento biológico. (11,30,42)

Las aguas de los sistemas que no usan filtración por lo general tienen altos niveles de carbono asimilable que ayudan a que la población microbiana aumente, ya que la acumulación de la materia orgánica puede servir de fuente extra de alimento a los microorganismos. Por otro lado, la turbiedad tiende a ser más alta, lo que ocasiona un mayor porcentaje de depósitos los cuales a su vez aceleran la disminución del cloro residual en la red, todos estos factores forman un ambiente propicio para el desarrollo de los microorganismos en las paredes de las tuberías. (33)

Comparando el tratamiento biológico con el tratamiento convencional, se ha encontrado que para el primer caso el desarrollo de las biopelículas en PVC es considerablemente más lento, se requieren entre 3 ó 4 semanas extras para que se alcance la misma densidad que tienen las biopelículas formadas cuando se utiliza el tratamiento convencional. Para el hierro, la cantidad de biopelícula adherida a la superficie fue considerablemente mayor en el agua con tratamiento convencional que con tratamiento biológico.

- Carbono activado

El proceso de carbono activado junto con otros procesos ayuda a remover efectivamente el COA presente en el agua antes de entrar al sistema de distribución. A pesar de la efectividad de estos procesos, es importante realizar un control permanente de su estado y limpieza. Al funcionar en forma de filtro, pueden servir de escenario para el desarrollo y el crecimiento de microorganismos patógenos, causando graves problemas en la calidad de agua. (11)

- Coagulación

Por medio del proceso de coagulación es difícil remover sustancias con bajo peso molecular, por lo que se puede dificultar la remoción de materia orgánica asimilable. Sin embargo, es este proceso puede ser efectivo para remover carbono orgánico disuelto y carbono orgánico disuelto biodegradable.

4.5.7 Combinaciones

El tratamiento recomendado para un efectivo control bacteriano y de biopelículas, es el siguiente:

1. Aplicar un tratamiento primario efectivo. Utilizar el tratamiento biológico que es bastante efectivo para controlar el crecimiento de las bacterias en las tuberías de los sistemas de distribución de agua potable.
2. Incrementar la concentración de cloro. Si la concentración de cloro es muy baja, en el momento que este logre penetrar la biopelícula el efecto que ejerza sobre ésta es mínimo. Por otro lado, la biopelícula como método de defensa puede segregar más sustancia extracelular evitando que el cloro afecte sus células. Se cree que es más efectiva una mayor concentración de cloro en un tiempo corto de aplicación, que una concentración menor con un tiempo prolongado de aplicación.
3. Incrementar las fuerzas cortantes. Si se realiza un aumento en la concentración de cloro simultáneamente con un aumento en los esfuerzos cortantes (proceso de flushing), el cloro va a tener mayor capacidad para entrar a la biopelícula obligando a que se dé desprendimiento y causando la muerte de un número mayor de microorganismos. En este proceso, se exponen las capas internas de la biopelícula al cloro, estas capas posiblemente no son tan fuertes y por ende son más susceptibles al efecto del desinfectante. Este proceso disminuirá notablemente el espesor de la biopelícula.
4. Controlar el pH. Los pH extremos afectan de diferentes formas a las biopelículas. El pH alto ayuda al desprendimiento de la biopelícula madura, mientras que los pH bajos ayudan con la desinfección de las biopelículas muy delgadas. Si se logra controlar el pH sin alterar la calidad de agua, este podría ser un paso complementario en el manejo de las biopelículas en las redes de distribución de agua potable. (39)

Por otro lado, es importante controlar los factores que favorecen el desarrollo de las biopelículas como temperatura, condiciones hidráulicas y materiales, entre otros.

4.6 Otros

Existen otros factores ambientales diferentes a la temperatura, que pueden afectar el desarrollo de las biopelículas en las tuberías de agua potable como el pH y la turbiedad del agua. El pH y el nivel de turbiedad del agua influyen en la efectividad de los desinfectantes. Un pH bajo se traduce en alta agresividad del agua. Por otro lado, las partículas que ocasionan la turbiedad del agua pueden proteger a los microorganismos de la acción de los desinfectantes actuando como escudos.

Se ha encontrado que la turbiedad es la única característica del agua que está relacionada la cantidad de *Mycobacterium* en el agua. (32)

Otro factor que se debe tener en cuenta, es el origen del agua. Dependiendo de la fuente, el agua tiene una determinada temperatura, el origen del carbono y la materia orgánica es diferente, los compuestos inorgánicos tienen características específicas. Si se conoce la fuente del agua, su calidad y por ende sus características es más sencillo aplicar las medidas de control que resulten más efectivas para prevenir crecimiento bacteriano. Las aguas subterráneas son las que menos favorecen al crecimiento bacteriano, lo que no quiere decir que no lo permitan. Sin embargo, una vez son mezcladas con aguas superficiales, las condiciones que ofrecen son bastante buenas para el desarrollo de biopelículas. (22)

La cantidad de bacterias libres en la columna de agua va a ser un factor de suma importancia en el proceso de generación de biopelículas. Este factor al igual que los demás, afecta los procesos de la biopelícula combinándose con los otros; sin embargo, se ha visto que cuando el número de microorganismos planctónicos aumenta en la red de distribución, también aumenta la biomasa adherida a las paredes de las tuberías. Cuando aumenta la cantidad de células libres, se crece la posibilidad de que existan colonizadores o microorganismos con la capacidad para entrar a formar parte de la biopelícula.

A parte de las condiciones ambientales y del agua, las características de la infraestructura del sistema de distribución son de suma importancia. Se deben tener en cuenta factores como el diámetro y la longitud de las tuberías. Por ejemplo, cuando los diámetros son pequeños, la demanda de cloro es mayor que cuando son grandes, posiblemente por la presencia de la biopelícula. Las longitudes influyen en el tipo de desinfectante, los puntos de inyección y las dosis que se deben utilizar.

5 CONSECUENCIAS DE LA PRESENCIA DE BIOPELÍCULAS EN LAS REDES DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA POTABLE

La presencia de biopelículas en las redes de distribución trae graves consecuencias: permite la presencia de microorganismos patógenos en el sistema de distribución, favorece el crecimiento de organismos superiores (protozoos, invertebrados, crustáceos entre otros) que pueden ser observados directamente en el agua y causa problemas de color, olor y sabor en el agua potable. (22)

Por otro lado, representa una gran pérdida monetaria como consecuencia de los daños de los equipos y la infraestructura, contaminación, pérdida de energía y problemas relacionados con la salud humana. Los métodos convencionales para eliminar las bacterias (como desinfectantes y antibióticos) no son 100% efectivos para el control de las biopelículas. Para que los resultados fueran buenos, sería necesario utilizar dosis sumamente altas, que posiblemente afecten la salud humana y no estén permitidas por los estándares de control ambiental. De ahí la importancia de buscar nuevos métodos de control y de conocer los efectos que pueden traer las biopelículas en los sistemas de distribución de agua potable.

Los principales daños causados por la presencia de las biopelículas en las redes de distribución se pueden dividir en tres tipos. Los problemas de salud en humanos, que dependen de la calidad del agua que consumen. El deterioro en la calidad del agua se debe analizar y evitar; cuando el agua sale de las plantas de tratamiento ingresa a las redes de distribución con una alta calidad y esta se debe conservar hasta que llegue a los usuarios; bajo ninguna circunstancia se puede permitir que esta desmejore. Por último se deben analizar los efectos directos que pueden causar las biopelículas sobre la infraestructura de la red de distribución, para poder garantizar un buen funcionamiento y asegurar la vida útil de cada uno de sus componentes.

5.1 Salud

Como se había mencionado anteriormente, casi cualquier microorganismo que se encuentre presente en el agua, tiene la capacidad de adherirse a una biopelícula. Los patógenos primarios, los cuales causan enfermedades en humanos, pueden sobrevivir sin dificultad en las biopelículas de los sistemas de agua potable. Para algunos patógenos, los sistemas de distribución de agua potable representan un ambiente físico, químico y biológicamente ideal para su desarrollo y crecimiento. Los microorganismos acuáticos son los responsables de varias enfermedades en humanos y animales, principalmente en individuos inmunodeficientes.

Los patógenos que afectan a humanos pueden ser de diferentes tipos. En el grupo de las bacterias los principales patógenos encontrados en los sistemas de distribución de agua potable son *Aeromonas*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolítica* y *Escherichia coli*, causantes de enteritis, disentería, fiebre tifoidea, y gastroenteritis respectivamente. Se ha visto que a pesar de que las *Aeromonas* se encuentran presentes en casi todos los sistemas de distribución, su subsistencia y reproducción en estos es complicada. (31) Las enfermedades que son ocasionadas por los microorganismos acuáticos pueden ir desde leves hasta severas y en algunas ocasiones pueden causar la muerte de los individuos que las contraigan.

En los sistemas también se pueden encontrar algunos patógenos oportunistas que se asocian con las biopelículas de las tuberías: *Legionella Pneumophila*, *Mycobacterium avium complex (MAC)* y *P. Aeruginosa* son los principales y se encuentran en la mayoría de los sistemas de distribución de agua potable. Las enfermedades que ocasionan son graves. El primero es el causante de la neumonía, es muy común que se encuentre en agua tibia y agua caliente y en tuberías de látex, etileno, polipropileno, polietileno, PVC y acero. El (MAC) es causante de enfermedades en los pulmones y afecta gravemente a los enfermos de cáncer y Sida. Por último *P. Aeruginosa* ataca principalmente a las personas que tienen

quemaduras, heridas importantes, diabetes y causa la muerte en personas con fibrosis cística. Algunas veces causa neumonía.

Cuando los microorganismos que son patógenos para los humanos se adhieren a una biopelícula el riesgo se aumenta considerablemente. Como se mencionó anteriormente los microorganismos que se asocian con una biopelícula son mucho más resistentes que los que se encuentran libres en el agua, debido a esto es mucho más difícil eliminarlos de los sistemas de distribución cuando se han establecido de esta forma.

5.2 Deterioro de la calidad del agua

Existen diferentes causas para el deterioro de la calidad del agua; sin embargo, los fenómenos biológicos son los más estudiados. Aunque no necesariamente tener un número muy alto de bacterias en el agua significa baja calidad o alto riesgo de transmisión de enfermedades si es un signo alarmante que debe ser controlado. El hecho de tener un número muy alto de población bacteriana indica que la red de distribución es susceptible a colonización por parte de microorganismos patógenos. Por otro lado, la evolución de la biomasa bacterial afecta otros aspectos como el sabor, el olor y el color del agua, el desarrollo de macroinvertebrados, la aparición de turbidez y de biocorrosión.

En los estudios de calidad de agua, se llevan a cabo procesos en los que se miden diferentes parámetros que ayudan a determinar la calidad; por ejemplo: color, turbiedad, cantidad de sólidos totales y suspendidos, DBO, presencia de materia orgánica, entre otros. Existen límites determinados para cada uno de los parámetros de forma que se pueda asegurar la potabilidad del agua. Cuando alguno de estos parámetros no cumple con los estándares establecidos, se le debe aplicar un tratamiento mejor al agua. En muchos casos estas fallas se originan en las biopelículas, de ahí la importancia de retirarlas de los sistemas de distribución de agua potable.

Tradicionalmente la presencia de bacterias coliformes en el agua potable, se entiende como presencia de contaminación ocasionada por materia fecal en la red, causada posiblemente por una mala conexión, tratamiento inadecuado del agua o mal mantenimiento de la red. La presencia de coliformes debe ser nula en las redes de distribución de agua potable, ya que es un indicador de la presencia de microorganismos altamente patógenos. Este tipo de microorganismos puede encontrar las condiciones necesarias para desarrollarse en las biopelículas, otra razón para eliminarlas de los sistemas de distribución.

5.3 Efectos en las tuberías

Inevitablemente los materiales de las tuberías se erosionan con el tiempo. La tasa en la que este proceso ocurre depende del material de la tubería, la corrosividad del agua y del suelo en el que está instalada, la actividad microbiana que haya en las biopelículas de la tubería, entre otros. Con el tiempo, la corrosión se puede convertir en un problema tan serio que puede llegar a impedir el paso del agua, producir problemas de olor y sabor en el agua, causar rupturas en la tubería y acelerar el proceso de formación de biopelículas.

La corrosión es un proceso en el que se degrada el material metálico por la acción del ambiente que lo rodea. La corrosión es causada por el flujo de electricidad entre un metal y otro, o entre dos zonas diferentes en el mismo material. Este proceso puede ser ocasionado tanto por factores físicos (velocidad del agua, erosión etc) como químicos y biológicos. La presencia de células en la superficie de metal, al igual que su actividad metabólica, puede causar biocorrosión; esta trae como consecuencias grietas, y rupturas.

Debido a la estructura de la biopelícula (mayor concentración de microorganismos en ciertas partes), se crean zonas con mayor y menor concentración de oxígeno en la superficie de la tubería y condiciones físico-químicas que favorecen la corrosión. La diferencia de concentración de oxígeno sobre una superficie metálica ocasiona diferencias en el potencial eléctrico, las cuales a su vez llevan a que ocurra corrosión. Bajo estas condiciones las

zonas con mayor disponibilidad de oxígeno se convierten en aniónicas y las otras en catódicas. (11,15,39) La escasez de oxígeno en la superficie de una tubería de acero inoxidable ocasiona daños también, puede llegar a causar rompimiento de la capa de protección, llevando finalmente a que se pueda presentar corrosión.

Como se había mencionado anteriormente, la escasez de oxígeno en la superficie de las tuberías lleva a que se desarrolle un ambiente anaeróbico, en este se dan las condiciones para que organismos como las bacterias reductoras de azufre se desarrollen. Esto es sumamente peligroso, ya que aparte de la corrosión ocasionada por estos microorganismos el potencial tóxico es alto.

Existen diferentes formas de corrosión ocasionadas por microorganismos. Algunas bacterias producen como resultado de su metabolismo ácidos que aceleran el proceso de corrosión en los materiales metálicos, otras producen hidrógeno gaseoso que se difunde en los materiales de las tuberías ocasionando una forma interna de corrosión. Por último, algunos microorganismos tienen la capacidad de degradar productos férricos causando corrosión igualmente.

La corrosión en las tuberías de hierro puede producir tubérculos, los cuales incrementan el área superficial de la tubería y generan ambientes propicios para que las bacterias se desarrollen; en estos lugares se encuentran protegidas de la acción de los desinfectantes y de las fuerzas cortantes. Se ha encontrado que los tubérculos de las tuberías de hierro contienen una cantidad mucho mayor de bacterias coliformes que la que contiene el agua clorada a 15°C. (33)

6 DIFERENCIAS ENTRE PAISES TROPICALES Y SUBTROPICALES

En regiones tropicales, las altas temperaturas y el alto contenido de materia orgánica en el agua, crean un ambiente similar al que viven los microorganismos cuando son huéspedes de un animal de sangre caliente. Por ejemplo, en agua con estas características, la bacteria *E.Coli* (patógena en humanos) puede crecer y desarrollarse. En otros casos, se ha visto que diferentes microorganismos se reproducen a velocidades considerablemente mayores en agua caliente que en agua fría. (11)

Algunos microorganismos (p.e. *Mycobacterium avium*) no se ven afectados por las estaciones o el cambio de temperatura en el agua. Al ser residentes permanentes de los sistemas de distribución, se han adaptado a los cambios en las condiciones ambientales y pueden sobrevivir en todas ellas. (32)

Se conoce que a mayor temperatura mayor es la concentración de carbono asimilable en el agua y mayor es la presencia de microorganismos en el agua. A parte de este fenómeno, se ha visto que las épocas del año en las que se presenta la tasa más alta de recrecimiento en los sistemas de distribución de agua potable, es en los meses de verano y otoño, cuando la temperatura del agua es mayor. Posiblemente el proceso natural por el que pasa la vegetación en la época de otoño, hace que las hojas que caen de los árboles y que parte de la materia orgánica que muera vayan a dar a las fuentes de agua, por lo que se puede explicar el aumento en la concentración de carbono orgánico biodegradable.

Según la época del año se ha visto que tanto la actividad microbiana como la composición de la comunidad varían, lo cual implica que las reacciones que tengan los microorganismos ante estímulos de estrés como escasez de nutrientes, presencia de desinfectantes, entre otros sean distintos dependiendo de la época. Esto puede traer complicaciones en el momento de plantear estrategias de control y de eliminación de biopelículas, ya que es necesario conocer

muy bien las características y las respuestas de los microorganismos para cada tiempo y así lograr que las medidas que se tomen sean efectivas.

La información disponible referente a los factores que favorecen el desarrollo y el crecimiento de biopelículas en las redes de distribución de agua potables se restringe a ensayos e investigaciones realizadas en países con estaciones. La información del comportamiento de estos factores en la zona tropical es prácticamente nula. Sin embargo, a través de los resultados obtenidos se pueden plantear hipótesis del comportamiento de los mismos factores en las zonas tropicales.

Como se mencionó anteriormente la temperatura es un factor determinante que controla la supervivencia de los microorganismos y a mayor temperatura mayor concentración de microorganismos en el agua. Si se tiene en cuenta esto, se puede suponer que en las aguas de las zonas tórridas la población microbiana permanece bastante alta durante todo el año y que es necesario utilizar métodos de control muy efectivos.

La cantidad de MOB y COA también es bastante alto en estas zonas, por lo que es importante asegurar que el tratamiento primario es bastante bueno, para que el tratamiento secundario sea efectivo.

7 CONCLUSIONES

- Todas las redes de distribución de agua potable están expuestas a la formación de biopelículas en su interior. Aún no se han podido establecer las condiciones en las que este proceso no se ocurra.
- Las biopelículas tienen características particulares que hacen que sean una forma de organización muy efectiva desde diferentes puntos de vista. Desarrollan una estructura organizada resistente a la acción de los desinfectantes y de las fuerzas físicas, tienen gran diversidad de microorganismos que se asocian y distribuyen funciones optimizando la labor de cada uno.
- Diversos factores como la disponibilidad de nutrientes, el tipo de desinfectante, las condiciones ambientales y el material de la tubería, interactúan de manera compleja dando como resultado las condiciones para cada tipo de biopelícula, su tasa de crecimiento y su desarrollo.
- El material de la tubería y su rugosidad son factores determinantes en el proceso de formación de las biopelículas. A pesar de que no se ha encontrado ningún material que inhiba este proceso, si es claro que algunos materiales favorecen el crecimiento (p.e hierro y látex) mientras que otros parecen no ejercer una influencia importante (p.e. PVC).
- La temperatura es un parámetro de suma importancia debido a que afecta todos los otros factores. Según la temperatura del agua, los procesos de desinfección, la concentración de materia orgánica, las condiciones de flujo, entre otras, cambian y por ende la dinámica de los microorganismos presentes. Se estableció una relación clara entre la temperatura y la concentración de microorganismos en el agua: A mayor temperatura, mayor cantidad de microorganismos presentes en el agua.

- Los nutrientes son importantes para determinar el tipo de biopelícula que se forma, los microorganismos que los componen, su densidad y su estructura, sin embargo su disponibilidad no es un factor determinante en el proceso de eliminación de las biopelículas, ya que los microorganismos que las conforman tienen la capacidad de desarrollar mecanismos que ayudan a que se adapten fácilmente a condiciones hostiles.
- Las condiciones hidráulicas en las redes de distribución determinan características como la densidad, el grosor y la forma de las biopelículas, normalmente no evitan su formación ni tienen la capacidad de desprender la totalidad de la biopelícula.
- La tecnología de purificación actual no permite la reducción total de los nutrientes que se encuentran en el agua; por lo tanto, el control de la formación de biopelículas en las redes de distribución de agua potable es imposible de realizar teniendo en cuenta únicamente este aspecto.
- Se mantiene un comportamiento general, en el que a mayor temperatura mayor desarrollo y crecimiento de microorganismos
- El control del crecimiento de biopelículas en las redes de distribución de agua potable debe ser manejado desde varios puntos de vista. Como primera medida, se debe realizar un proceso completo de tratamiento primario en el que se reduzcan al máximo el número de microorganismos presentes en el agua, junto con la cantidad de materia orgánica. Este proceso debe ir acompañado de un tratamiento secundario eficiente, en el que se eliminen los microorganismos presentes en el sistema de distribución. Por otro lado se puede tener control sobre los factores que ayudan al crecimiento y desarrollo de los microorganismos y de las biopelículas.

- La escogencia de los materiales de la red de distribución clave en el desarrollo de la comunidad microbiana en el sistema. Es aconsejable renovar las redes como medida para evitar el desmejoramiento de la calidad del agua en su distribución.
- La principal diferencia entre los factores que favorecen el crecimiento de las biopelículas en zonas tropicales y subtropicales es la temperatura a la que está normalmente el agua. Al presentarse diferencia en esta, todos los demás factores se ven afectados.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. **Moller S., Sorber D.R., Wolfaardt G.M., Molin S. y Caldwell D.E.** 1997 “Impact of Nutrient Composition on a Degradative Biofilm Community” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 63, No. 6, p. 2432 – 2438.
2. **Watnick P. y Kolter R.** 2000 “Biofilm, city of microbes” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 182, No. 10, p. 2675 - 2679.
3. **O’Toole G.A.** 2003 “To build a biofilm” *Journal of bacteriology*. Vol. 185, No. 9, p. 2687 – 2689.
4. **Keinänen M.M., Coronen L.K., Lehtola M.J., Miettinen I.T., Martikainen P.J., Vartiainen T. y Suutari M.H.,** 2002 “The Microbial Community Structure of Drinking Water Biofilms Can Be Affected by Phosphorus Availability” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 68, No. 1, p. 434 – 439.
5. **Volk C.J. y LeChevallier M.W.** 1999 “Impacts of the Reduction of Nutrient Levels on Bacterial Water Quality in Distribution Systems” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 65, No. 11, p. 4957 - 4966.
6. **Wolfaardt G.M., Lawrence J.R., Robarts R.D., Caldwell S.J. y Caldwell D.E.** 1994 “Multicellular Organization in Degradative Biofilm Community” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 60, No. 2, p. 434 - 446.
7. **Doggett M.S** 2000 “Characterization of Fungal Biofilms within a Municipal Water Distribution System” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66, No. 3, p. 1249 - 1251.

8. **Boualam M., Fass S., Saby S., Lahoussine V., Cavard J., Gatel D y Mathieu L.** 2003 “Organic Matter Quality and Survival of Coliforms in Low Nutritive Waters” *Journal Awwa*. Vol. 85, No. 8, p. 119 – 125.
9. **Martiny A., Jorgensen T.M., Albrechtsen H., Arvin E. y Molin S.** 2003 “Long-term Succession of Structure and Diversity of a Biofilm Formed in a Model Drinking Water Distribution System” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69, No. 11, p. 6899 – 6907.
10. **Rogers J., Dowsett A.B., Denny P.J., Lee J.V. y Keevil C.W.** 1994 “Influence of Temperature and Plumbing Material Selection on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in a Model Potable Water System Containing Complex Microbial Flora” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 60, No. 5, p. 1585 - 1592.
11. **Health Risks From Microbial Growth and Biofilms in Drinking Water Distribution Systems.** 2002.
12. **Else T. A., Plante C.R. y Amy P.S.** 2003 “Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69, No. 8, p. 5006 - 5010.
13. **Rogers J., Dowsett A.B., Denny P.J., Lee J.V y Keevil C.W.** 1994 “Influence of Plumbing Material on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in Potable Water Systems” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 60, No. 6, p. 1842 - 1851.
14. **Chénier M.R., Beaumier D., Roy R., Driscoll B.T., Lawrence J.R. y Grrer C.W.** 2003 “Impact of Seasonal Variations and Nutrient Inputs on Nitrogen Cycling and

- Degradation of Hexadecane by Replicated River Biofilms” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69, No. 9, p. 5170 – 5177.
- 15. Emde K.M., Oberoi K. y Smith D.W** “Evaluation of Various Methods for Distribution system biofilm control” p. 299 – 309
- 16. Klapper I., Rupp C.J., Cargo R. Purvedorj B. y Stoodley P.** 2002 “Viscoelastic Fluid Description of Bacterial Biofilm Material Properties” *Biotechnology and bioengineering* Vol. 80, No. 3, p 289 – 296
- 17. Broo A.E., Berghult B. y Hedberg T.** 2001 “Pipe Material Selection in Drinking Water Systems – a conference summary” *Water Science and Technology: Water Supply* Vol. 1, No. 3, pp117 – 125.
- 18. Baribeau H., Prevost M., Desjardins R. y Lafrance P.** 2001 “Changes in Chlorine and DOX Concentrations in Distribution Dystems” *Journal Awwa*. p. 102 - 114.
- 19. Rittman B.E. y Stiwell D.** 2002 “Modelling Biological Processes in Water Treatment: The Integrated Biofiltration Model” *Journal of Water Supply Research and Technology* p. 1 – 14
- 20. Codony F., Morato J., Ribas F. y Mas J.** 2002 “Effect of Chlorine, Biodegradable Dissolved Organic Carbon and Suspended Bacteria on Biofilm Development in Drinking Water Systems” *Journal basic Microbiology* Vol. 42, No. 5, p 311 – 319
- 21. Momba MNB., Kfir R., Venter SN y Cloete TE** 2000 “An Overview of Biofilm Formation in Distribution Systems and its Impact on the Deterioration of Water Quality” *Water SA* Vol. 26 No. 1, p 59 – 66.

- 22. Niquette P., Servais P. y Savoir R.** 2001 “Bacterial Dynamics in the Drinking Water Distribution System of Brussels” *Water Research* Vol. 35, No. 2, p. 675 – 682
- 23. Chauret C., Volk C., Creason R., Jarosh J., Robinson J. y Warnes C.** 2001 “Detection of *Aeromonas hydrophila* in a Drinking Water Distribution System: a Field and Pilot Study” *Canada Journal of Microbiology* Vol. 47, p 782 – 786
- 24. Fernandez M.C., Giampaolo B.N., Ibañez S.B., Guagliardo V., Esnaola M.M., Conca L., Valdivia P., Stagnaro S., Chiale C. y Frade H.** 2000 “*Aeromonas hydrophila* and its Relation With Drinking Water Indicator of Microbiological Quality in Argentine” *Genetica* Vol. 108, p 35 – 40
- 25. Sawyer L.K. y Hermanowicz S.W.** 2000 “Detachment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas aeruginosa* due to Variations in Nutrient Supply” *Water Science and Technology* Vol. 41, No. 4, p. 139 – 145
- 26. Mrtiny A.C., Nielsen A.T., Arvin E., Molin S. y Albrechtsen H.J.** 2000 “In Situ Examination of Microbial Population in a Model Drinking Water Distribution System” *Water Science and Technology* Vol. 2, No. 3, p. 283 – 288
- 27. Heitz A., Kagi R.I. y Alexander R.** 2000 “Polysulfide Sulphur in Pipewall Biofilms: its Role in the Formation of Swampy Odour in Distribution System” *Water Science and Technology* Vol. 41, No. 4 -5, p. 271 – 278
- 28. Bishop P.L. y Rittmann B.E.** 1995 “Modelling Heterogeneity in Biofilms: Report of the Discussion Session” *Water Science and Technology* Vol. 32, No. 8, p263 – 265

- 29. Jegatheesan V., Kastl G., Fisher I., Angles M. y Chandy J.** 2000 “Modelling Biofilm Growth and Disinfectant Decay in Drinking Water” *Water Science and Technology* Vol. 41, No. 4 -5, p. 339 - 345
- 30. Norton C. y LeChevallier M.K.** 2000 “A Pilot Study of Bacteriological Population Changes Through Potable Water Treatment and Distribution.” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66, No. 1, p. 268 – 276
- 31. Kûhn I., Allestam G., Huys G., Janssen P., Kersters K., Krovacek K. y Stenstrom T.** 1997 “Diversity, Persistence and virulence of *Anemonas* Strains Isolated from Drinking Water Distribution Systems in Sweden” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 63, No. 7, p. 2708 – 2715
- 32. Falkinham III J., Norton C. y LeChevallier M.W.** 2001 “Factor Influencing the Numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and Other Mycobacteria in Drinking Water Distribution Systems” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 67, No. 3, p. 1225 – 1231
- 33. LeChevallier M.W., Welch N. y Smith D.** 1996 “Full-scale Studies of Factors Rrelated to Coliform Regrowth in Drinking Water” *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 62, No. 7, p. 2201 – 2211
- 34. Soini S.M., Koskinen K.T., Vilenius M.J. y Puhakka J.A.** 2002 “Effects of fluid-flow Velocity and Water Quality on Planktonic and Sessile Microbial Growth in Water Hydraulic System” *Water Research* Vol. 36, p 3812 – 3820
- 35. Piriou Ph., Dukan S., Levi Y y Jarrige P.A.** 1997 “Prevention of Bacterial Growth in Drinking Water Distribution Systems” *Water Science and Technology* Vol. 35, No. 11 - 12, p. 283 – 287

36. **Morgenroth E. y Wilderer P.** 2000 “Influence of Detachment Mechanisms in Competition in Biofilms” *Water Research* Vol. 34, p 417 – 426
37. **Pedersen K.** 1990 “Biofilm Development on Stainless Steel and PVC Surfaces in Drinking Water” *Water Research* Vol. 24, p 239 – 243
38. “Biofilms in Drinking Water Distribution Systems” Chapter 13. EPA
39. www.edstrom.com Research – biofilms
40. **Purves, Orians, Heller y Sadava.** *Life Science of Biology*. Fifth edition.
41. **Restrepo A., Robledo j., Leiderman E., Restrepo M., Botero D. y Bedyá V.I.** *Enfermedades infecciosas*. Sexta edición
42. www.erc.montana.edu The Center for Biofilm Engineering
43. www.biofilm.org The biofilm Institute
44. **Aray A.M.** *Biopelículas en redes de distribución de agua potable, estado del arte*. 2002. Tesis de pregrado, Universidad de los Andes.