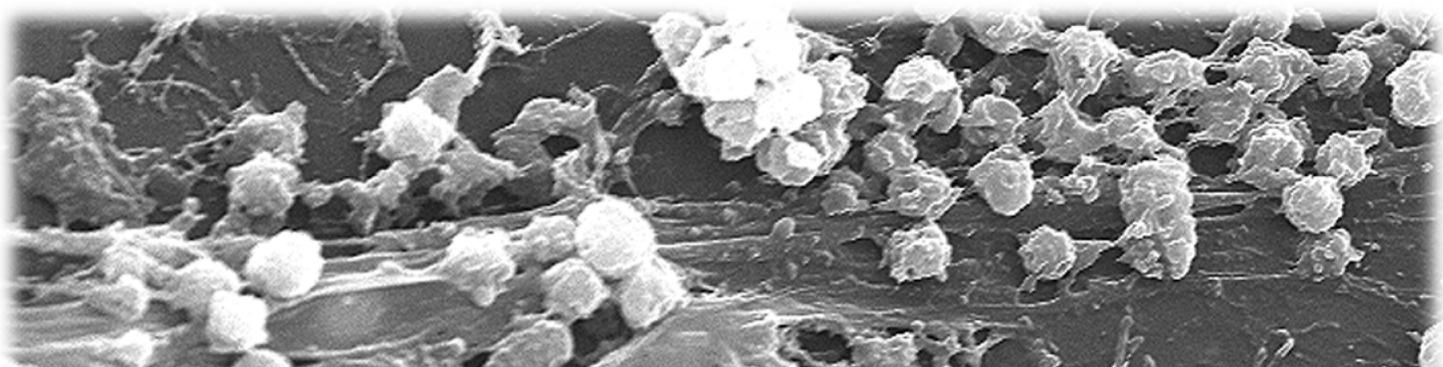


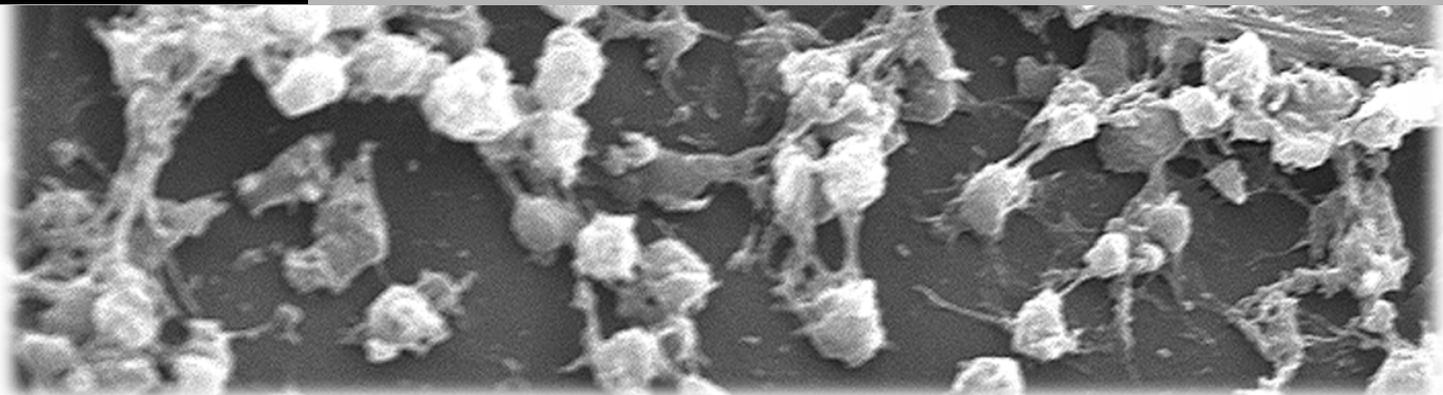


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA**



**NOVIEMBRE
DE 2016**

**FORMACIÓN Y DESARROLLO DE
BIOFILMS: SU IMPACTO EN LOS SISTEMAS
DE ABASTECIMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE
AGUA POTABLE**



Autora: *Lic. Evangelina GONZÁLEZ* | Director: *Dr. Ricardo RODRÍGUEZ*

CONTENIDO

CURRICULUM VITAE	4
A. INTRODUCCIÓN	8
B. PLANTEAMIENTO DEL TEMA.....	10
C. DESARROLLO.....	13
C.1 BIOFILMS	13
C.1.1 DEFINICIÓN Y ESTRUCTURAS.....	13
C.1.2 REGULACIÓN DEL PROCESO DE FORMACIÓN: QUORUM SENSING	15
C.2 FORMACIÓN DE BIOFILM. BASES QUÍMICAS Y FÍSICOQUÍMICAS. FASES DEL DESARROLLO	19
C.3 FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL CRECIMIENTO DE LOS BIOFILMS	24
C.3.1 TEMPERATURA DEL AGUA.....	24
C.3.2 TIPO Y CONCENTRACIÓN DEL DESINFECTANTE	25
C.3.3 NUTRIENTES	27
C.3.4 EFECTOS DEL MATERIAL DE LA TUBERÍA	27
C.3.5 AREA Y RUGOSIDAD DE LA SUPERFICIE	29
C.3.6 VELOCIDAD DEL FLUJO	29
C.4 BIOFILMS EN LAS REDES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA, SU IMPACTO	31
C.4.1 PROBLEMÁTICA ASOCIADA AL DESARROLLO DEL BIOFILM.....	32
C.4.1.1 RIESGO SANITARIO.....	32
C.4.1.2 DETERIORO ESTÉTICO DEL AGUA	34
C.4.1.3 PROBLEMAS OPERACIONALES.....	35
C.4.1.3.1 CONSUMO DE DESINFECTANTE	35
C.4.1.3.2 BIOCORROSIÓN.....	37
C.5 PROPUESTA PARA EL ABORDAJE DE LA PROBLEMÁTICA PLANTEADA.....	38
D. CONCLUSIONES	41
E. BIBLIOGRAFÍA	43

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo; en especial al Dr. Ricardo Rodríguez, director del mismo; por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de este tiempo.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros y colegas de la Especialización, por el intercambio académico y colaboración; pero sobre todo por la amistad forjada.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de parte de mi familia y amigos; sin ellos concretar este proyecto hubiese sido imposible.

A todos ellos, muchas gracias!

CURRICULUM VITAE

▶ **González, Evangelina**

Alberti N° 1094 Brandsen – Prov. de Buenos Aires

gonzalez.evange@gmail.com

FORMACIÓN ACADÉMICA

- ▶ **Estudios Universitarios:** Licenciada en Bromatología. Facultad de Bromatología. Universidad Nacional de Entre Ríos. (Diciembre de 2010)
- ▶ **Estudios Terciarios:** Perito Clasificador de Cereales y Oleaginosos. Escuela de Recibidores de Granos de Rosario. (Julio de 2011)
- ▶ **Estudios Secundarios:** Técnica en Industrias de Procesos. Escuela de Educación Técnica N°1. (Diciembre de 2002)

EXPERIENCIA

- ▶ Becaria – Proyecto de Investigación (Octubre de 2006 – Diciembre de 2007) Facultad de Bromatología – Universidad Nacional de Entre Ríos (Gualeguaychú – Entre Ríos)
Análisis coproparasitológico – Distintas técnicas de sedimentación.
Búsqueda y reconocimiento microscópico de huevos de parásitos.
Estudio sobre prevalencia de Fasciolosis bovina en el sur de la Prov. de Entre Ríos.
- ▶ Asesora – Servicio Provincial de Agua Potable y Saneamiento Rural (SPAR) (Mayo de 2008) (La Plata – Buenos Aires)
Diseño, armado, definición de equipamiento, asesoramiento en las técnicas a utilizar, recomendaciones de certificación y organización de su Laboratorio de Análisis de Aguas.
- ▶ Participante – Proyecto de Extensión (Diciembre de 2008) Facultad de Bromatología – Universidad Nacional de Entre Ríos (Gualeguaychú – Entre Ríos)
Asistencia a micro-emprendimientos en la gestión del diseño, producción y comercialización de sus productos.
- ▶ Analista de Laboratorio – Servicio Provincial de Agua Potable y Saneamiento Rural (SPAR). Dirección: Hidrología y Saneamiento. Departamento: Hidrogeología. División: Geología y Laboratorio (Enero de 2009 – Abril de 2014) (La Plata – Buenos Aires)

- ▶ Directora de Habilitaciones – Municipalidad de Brandsen. A cargo del Departamento de Bromatología (Mayo de 2014 – Diciembre de 2015) (Brandsen – Buenos Aires)
- ▶ Analista de Laboratorio – Servicio Provincial de Agua Potable y Saneamiento Rural (SPAR). Dirección: Hidrología y Saneamiento. Departamento: Hidrogeología. División: Geología y Laboratorio (Diciembre de 2015 – Al presente) (La Plata – Buenos Aires)

IDIOMAS

Inglés. Nivel básico.

CONOCIMIENTOS INFORMÁTICOS

Paquete Microsoft Office.

Internet.

CURSOS, TALLERES Y JORNADAS

- ▶ **2005** - Asistente. **Jornada de Actualización en Microbiología de Alimentos.** Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe Capital)
- ▶ **2006** - Asistente. **Taller de capacitación metodológica sobre la observación participante.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2006** - Asistente. **XXIII Jornadas Regionales de Bromatología y VIII de Nutrición.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Taller de Técnicas Participativas y de Educación Popular.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Curso: Envases Plásticos para Alimentos.** Dictado por el INTI en Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **XXIV Jornadas Regionales de Bromatología y IX de Nutrición.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Curso: Preservadores en Alimentos - utilidad y seguridad de su aplicación -.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Curso de Actualización: Aplicaciones de las Altas Presiones en la Industria Alimentaria.** Universidad Autónoma de Barcelona en Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Curso Teórico-Práctico: La búsqueda bibliográfica en el Trabajo Científico.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2007** - Asistente. **Curso: Tecnología de Productos Frutihortícolas.** Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria. Universidad Nacional de Cuyo. (San Rafael – Mendoza)

- ▶ **2008** - Participante. **Curso: Emprendedores Innovadores.** (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2008** - Asistente. **Taller de Tipificación de Arroz.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2008** - Asistente. **Curso: Colorantes Naturales en Alimentos.** Universidad Federal do Rio Grande do Sul en Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2008** - Asistente. **XXV Jornadas Regionales de Bromatología y X de Nutrición.** Facultad de Bromatología. UNER (Gualeguaychú – Entre Ríos)
- ▶ **2008** - **Presentación de Póster en XVI Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades Grupo Montevideo.** Universidad Nacional de La República (Montevideo – Uruguay)
- ▶ **2008** - **Presentación de Póster en III Congreso Latinoamericano de Zoonosis. VI Congreso Argentino de Zoonosis.** Universidad Pontificia Católica Argentina (Capital Federal – Buenos Aires)
- ▶ **2009** - Asistente. **Curso: Actualización en Sistemas Preventivos de Control de Alimentos.** Instituto Provincial de la Administración Pública. IPAP (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2009** - Asistente. **Seminario: Experiencia Israelí en la gestión de los Recursos Hídricos** (Mar del Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2013** - Asistente. **Curso Teórico-práctico: Ecología Aplicada a Procesos de Saneamiento. Control Integral a través de Bioindicadores.** Laboratorio de Ingeniería Sanitaria. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2013** - Asistente. **Jornada de Alimentos Irradiados, Funcionales y Genéticamente Modificados.** Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2013** - Asistente. **Seminario: Tecnologías para control de calidad de aguas y efluentes. Baires Analítica. TECNOSPAR** (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2013** - Asistente. **Seminario: Bioindicadores en la evaluación ambiental de depuradoras de líquidos cloacales. TECNOSPAR** (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2013** - Asistente. **Seminario: Huella hídrica. TECNOSPAR** (La Plata – Buenos Aires)
- ▶ **2014** - Asistente. **Jornada: Estrategias para la Prevención del Síndrome Urémico Hemolítico.** Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires (General Belgrano – Buenos Aires)
- ▶ **2015** - Asistente. **Curso: Políticas comerciales. Coordinación municipios–provincia. Instituto Provincial de la Administración Pública y el Ministerio de Producción, Ciencia y**

Tecnología de la Provincia de Buenos Aires (La Plata – Buenos Aires)

- ▶ **2015 - Asistente. Curso: Programa Banco de desarrollo de proveedores de la provincia de Buenos Aires. Instituto Provincial de la Administración Pública y el Ministerio de Producción, Ciencia y Tecnología de la Provincia de Buenos Aires (La Plata – Buenos Aires)**
- ▶ **2017 - Asistente. Seminario: Bioindicadores en la evaluación ambiental de procesos de saneamiento y aguas superficiales. Autoridad del Agua (La Plata – Buenos Aires)**
- ▶ **2017 - Asistente. Curso: Gestión Documental Electrónica Buenos Aires. Ministerio de Infraestructura (La Plata – Buenos Aires)**

A. INTRODUCCIÓN

El sistema de distribución de agua potable es de vital importancia para establecer la calidad final de la misma, siendo los biofilms que se forman en las paredes de las tuberías una de las causas principales de su deterioro (De Sousa y col., 2008) (Farkas y col., 2012).

Estos sistemas de almacenamiento y distribución de agua potable constituyen un ambiente propicio para la proliferación bacteriana; el flujo de agua favorece el transporte de nutrientes y bacterias, mientras que las paredes de las tuberías y las partículas presentes en el agua sirven de superficie adherente para los microorganismos. Los organismos adheridos tienen una mayor eficacia para absorber nutrientes y además son más resistentes a los ambientes adversos tales como la escasez de nutrientes y la presencia de desinfectantes; la agrupación de los diferentes microorganismos en colonias se considera como un mecanismo de defensa (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Latorre y Saldarriaga, 2005) (De Sousa y col., 2008).

Diversos investigadores han demostrado que la multiplicación de microorganismos en biofilms a lo largo de los sistemas de distribución resultan en el deterioro de la calidad bacteriológica del agua de bebida, el desarrollo de olor y color tanto como la aceleración de los fenómenos de corrosión sobre las tuberías y por ende, aumentan el costo de mantenimiento en la distribución por red (Momba y col., 2000).

Se ha considerado que la calidad del agua potable que se introduce en un sistema de abastecimiento podía conservarse inalterada hasta su llegada al punto de consumo. Sin embargo, artículos científicos publicados desde principios de los años '70 evidencian la existencia de una pérdida de calidad del agua a lo largo de su recorrido por la red de abastecimiento. Dos décadas después con el desarrollo de técnicas y metodologías más avanzadas que permitieron entender la ultraestructura y dinámica de las asociaciones microbianas respectivas, se pudo constatar este hecho (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Betancourth y col., 2004).

De más está decir entonces que, el sistema de distribución de agua potable es una fuente de preocupación con respecto a su contaminación durante su distribución y el recrecimiento de microorganismos que sobreviven los tratamientos de potabilización (Reynolds, 2011).

Es un hecho que el propio diseño de los sistemas de distribución puede hacer que el decaimiento de la calidad del agua durante el transporte sea inevitable. Sin embargo, muchas veces el diseño del sistema, por sí solo, no sirve para explicar la magnitud de dicho decaimiento. Las razones para un alto deterioro de la calidad del agua en los sistemas de distribución no están totalmente clarificadas, pero es sabido que uno de los principales factores que influyen en este deterioro es la formación de biofilms en el interior de las tuberías. Los sistemas de distribución son los componentes mayoritarios de los servicios de agua y en su interior se dan numerosos procesos, físicos, químicos y biológicos. Se puede decir que las tuberías de los sistemas de distribución se asemejan a reactores de crecimiento de biofilm, con un complejo conjunto de componentes y reacciones que varían con el tiempo (Ramos Martínez, 2012).

Debido a la presencia de estos biofilms, se hace necesario conocer en detalle todos los aspectos relacionados con su crecimiento, desarrollo y control, y de esta manera determinar su incidencia en el decaimiento en la calidad del agua. Por todo lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se analiza y evalúa el proceso de formación y desarrollo del biofilm en los sistemas de abastecimiento, el efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento microbiano y la influencia de los materiales de las tuberías sobre el desarrollo del mismo.

B. PLANTEAMIENTO DEL TEMA

Las fuentes de abastecimiento de agua contienen compuestos orgánicos capaces de promover el crecimiento bacteriano en el sistema de distribución, incluso después de la desinfección final a la que se somete al agua durante su potabilización. Este desarrollo bacteriano depende fundamentalmente del contenido de materia orgánica biodegradable y de nutrientes inorgánicos, de la eficiencia del desinfectante residual, de la temperatura, del tiempo de residencia del agua en los conductos y depósitos de almacenamiento, del pH del agua y del material de construcción de las tuberías (Colbourne y col., 1988) (Le Chevallier y col., 1988) (Schoenen, 1989) (Latorre y Saldarriaga, 2005).

Una red de abastecimiento tiene dos fases diferenciadas que interactúan entre sí formando un ecosistema particular: por un lado se encuentra el agua circulante, que sirve de medio de transporte para los nutrientes y las bacterias, y por otro están las paredes de las tuberías, donde ocurren fenómenos de fijación bacteriana y formación de biofilm.

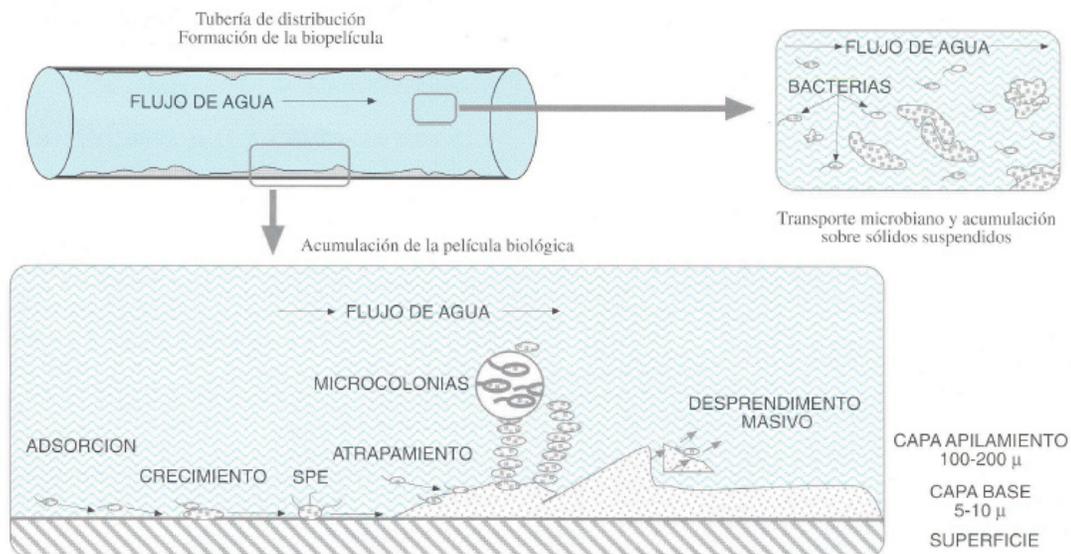


Figura 1: Proceso de crecimiento bacteriano sobre las paredes de las tuberías y las partículas suspendidas (adaptado de Costerton, 1993 y Keevil y col., 1995)

El desarrollo y acumulación de biofilm en la pared de las tuberías es el resultado de al menos tres procesos, el cual se encuentra esquematizado en la **Figura 1**, a saber:

- Transporte y adsorción de células en las paredes de las tuberías.
- Reproducción celular y formación de subproductos.
- Desprendimiento parcial del biofilm por efecto de la erosión y la pérdida de adherencia (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Los biofilms se forman en las tuberías de los sistemas de distribución cuando las células microbianas se adhieren a las superficies de las mismas y se multiplican para formar una capa de limo, las cuales son microambientes dinámicos, con procesos tales como metabolismo, crecimiento y formación de diferentes compuestos. La tasa de formación de los biofilms depende de las propiedades fisicoquímicas de la interfase, rugosidad de la superficie y los factores fisiológicos de los microorganismos fijados, como: bacterias heterotróficas (p.e coliformes totales y fecales), oportunistas, resistentes a los antibióticos y a los desinfectantes, pigmentadas, hongos, protozoarios y otros invertebrados (OMS, 2007) (De Sousa y col., 2008).

Incluso, el biofilm formado en las paredes de las tuberías puede reducir la capacidad hidráulica de las mismas, acelerar su corrosión y hacer más difícil el mantenimiento de una concentración residual de desinfectante (De Sousa y col., 2008).

Como punto de referencia basta citar que el número de bacterias presentes en un biofilm de una red de abastecimiento oscila entre 10^5 y 10^7 células/cm², dependiendo de los nutrientes disponibles y de las características fisicoquímicas del medio, mientras que el número de bacterias en suspensión varía entre 10 y 10^3 células/cm³. En superficies en contacto con alimentos, por otro lado, se han descrito biofilms con valores de 10^9 células/cm² indicando la relevancia también de los biofilms en otras matrices (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Rodríguez Jerez, 2016).

Estudios realizados utilizando microscopía electrónica de las tuberías de un sistema de distribución de agua mostraron comunidades complejas de microorganismos. Se concluye que aún cuando las bacterias se desactivan en la planta de tratamiento, algunas células logran sobrevivir y adaptarse a la red de distribución. Es importante resaltar que el crecimiento de las bacterias en las paredes de las tuberías también puede considerarse como un hábitat propicio para las bacterias incluyendo las potencialmente patógenas (De Sousa y col., 2008).

La presencia de biofilm en las redes de abastecimiento tiene importancia debido a la formación de compuestos que pueden deteriorar la calidad organoléptica del agua, o a la creación de problemas sanitarios derivados de la presencia de bacterias potencialmente patógenas que han conseguido sobrevivir a los procesos de potabilización; incluso llegando a afectar su conformidad con las normas (Donlan y col., 1994).

El crecimiento bacteriano en los sistemas de abastecimiento de agua potable ha suscitado un interés creciente en los países desarrollados, debido al creciente número de reclamos presentados por los consumidores en relación con el sabor, el olor e incluso el color del agua potable (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Srey y col., 2013).

Se ha recomendado como estrategia para controlar la contaminación bacteriológica que se debe establecer un programa de mantenimiento en todo el sistema e incluso en los tanques de almacenamiento. También se ha indicado que es necesario el control de la corrosión y de los niveles de nutrientes y realizar prácticas apropiadas de desinfección. Todas estas medidas deben ser aplicadas por personal capacitado, el cual debe mantenerse en constante capacitación y entrenamiento (De Sousa y col., 2008).

C. DESARROLLO

C.1 BIOFILMS

“*La unión hace la fuerza*” una frase que es fácilmente aplicable al contexto del planteamiento del presente trabajo. Los microorganismos por si solos -en su forma individual o planctónica-, salvo en algunas ocasiones, no son capaces de generar daños importantes en un organismo viviente o inerte porque son susceptibles a los factores adversos del medio en que se encuentran. Sin embargo, estos seres microscópicos han evolucionado de tal forma que logran organizarse y convivir con especies diferentes, aprovechando los compuestos y productos que se ofrecen, como hemos visto, dentro de su comunidad ecológica denominada biofilm (Betancourth y col., 2004).

Los biofilms representan un modo primario de crecimiento y vida para las bacterias. Donde quiera que haya agua, una superficie de soporte y los nutrientes disponibles, se formará biofilm. Fue William Costerton quien estableció un nuevo paradigma en microbiología al afirmar que las bacterias se adhieren a las superficies disponibles en las cubiertas con lo que denominó un “glicocálix” (matriz extracelular), desarrollando la teoría del biofilm, y también indicó que estas poblaciones de bacterias sésiles se daban predominantemente en los ambientes naturales, el sector industrial y, en particular, en los ecosistemas médicos. Esa matriz extracelular conforma las secreciones protectoras que rodean a las células en el biofilm y proporciona un “ambiente construido” para contener los procesos en el mismo. La revelación científica de que las bacterias adheridas (sésiles) eran diferentes de las células planctónicas, en su comportamiento fisiológico y adaptabilidad, lanzó progresivamente una era de intensa exploración y estudio adicional en microbiología. A Costerton, quien acuñó el término biofilm y los estudió extensamente, se lo considera el padre de la teoría de los biofilms (Costerton y col., 1978) (Donlan, 2002) (Rodríguez, 2012) (Feng y col., 2013).

C.1.1 DEFINICIÓN Y ESTRUCTURAS

El término biofilm hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS-siglas en inglés) y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean blandas, animadas e inanimadas. Estas complejas comunidades tridimensionales de microorganismos, despliegan fenotipos únicos o característicos de

adaptación especiales, comparados con la forma de vida libre, o planctónica (Momba y col., 2000) (Betancourth y col., 2004) (Muñoz, 2005) (Muro y col., 2012).

La fijación es un primer paso en el proceso de la colonización microbiana de cualquier superficie y en un principio puede limitar la velocidad del proceso. El desarrollo del biofilm es el resultado de unión con éxito y el crecimiento subsiguiente de microorganismos sobre una superficie. En condiciones adecuadas el biofilm (una biopelícula) se desarrolla, inicialmente a través de la acumulación de materia orgánica sobre la superficie metálica, que luego es colonizada por bacterias. Las bacterias desarrollan posteriormente en un consorcio dentro de la matriz de polisacáridos que imparte la naturaleza viscosa de la biopelícula (Momba y col., 2000).

La formación de la matriz extracelular es clave para el biofilm. La matriz extracelular está constituida por exopolisacáridos sintetizados por los microorganismos integrantes de la biopelícula, macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos y productos procedentes de la lisis bacteriana. El ADN extracelular ayuda a la adhesión microbiana y aumenta la versatilidad genética del consorcio. La estructura química de la EPS varía también con los distintos tipos de organismos y depende además de condiciones ambientales (Momba y col., 2000) (Muro y col., 2012).

Por otra parte, la matriz de sustancias poliméricas extracelulares está llena de canales y tiene como fin conducir agua y nutrientes. Dentro de la matriz se encuentran dos zonas: una base que sirve de *soporte* para la zona en donde se *desarrollan* las colonias de bacterias. El exopolímero producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos; teniendo como función propiciar la adhesión a las superficies, proteger a las bacterias y facilitar la interacción entre ellas mismas. La apariencia de una capa de biofilm puede ser uniforme, pero en la gran mayoría de los casos es irregular y heterogénea, y su espesor alcanza unos pocos cientos de micrones; la morfología puede variar de acuerdo con las condiciones bajo las cuales creció y se desarrolló (Betancourth y col., 2004) (Muñoz, 2005).

Una de estas características es la heterogeneidad en la composición, lo que las hace organizaciones únicas que pueden estar conformadas por bacterias, hongos y protozoos. Se ha visto entonces, que los microorganismos al ser variados

dentro de esta organización presentan diferentes condiciones de pH, tensión de oxígeno, concentración de iones, carbono y nitrógeno (Betancourth y col., 2004).

La hidrodinámica juega un papel importante en el desarrollo del biofilm, pues estas organizaciones se desarrollan en una interfase líquido-sólido donde la velocidad del flujo que lo atraviesa influye en el desprendimiento físico de los microorganismos. Otra característica de los biofilms es su resistencia a agentes antimicrobianos. Mientras que los microorganismos aislados son susceptibles a estos factores de control, las colonias organizadas e incluidas en el exopolímero forman una capa impermeable en donde sólo los microorganismos más superficiales se ven afectados (Betancourth y col., 2004).

Por lo tanto, los antimicrobianos no tienen acceso a los microorganismos más profundos; y adicionalmente, se encuentran en un estado metabólico reducido lo que los hace menos susceptibles a la acción de estos últimos. También cuando se liberan células del biofilm, éstas pueden viajar y depositarse en nuevos nichos de colonización manteniendo las mismas características de una biopelícula adherida a una superficie (Betancourth y col., 2004).

Concluyendo, el biofilm representa una estrategia de supervivencia, pues proporciona una protección contra las defensas y mecanismos de erradicación microbiana y cuenta con un sistema de canales que le permite establecer un vínculo con el medio externo para hacer intercambio de nutrientes y eliminar metabolitos de desecho (Betancourth y col., 2004).

C.1.2 REGULACIÓN DEL PROCESO DE FORMACIÓN: QUORUM

SENSING

El término *quorum sensing* (QS) corresponde al término inicialmente acuñado en inglés que designa el fenómeno mediante el cual, las bacterias pueden comunicarse entre sí, excretando al medio moléculas señalizadoras (referenciadas en bacterias actuando en modo semejante a feromonas) al alcanzar una densidad poblacional específica, y ser reconocidas por otros microorganismos. Esta forma de comunicación no corresponde a un único lenguaje, ya que existen diversas clases de moléculas señal, y el mensaje emitido por una bacteria puede ser o no captado por otra, dependiendo de si esta última dispone o no del mecanismo de reconocimiento adecuado (Barreto, 2011).

QS es un fenómeno que permite a las bacterias adaptarse y sobrevivir en entornos que cambian continuamente. Este sistema juega un rol importante en el

desarrollo del biofilm. La formación de biofilm; como se indicó y veremos más adelante, es un proceso escalonado que implica adhesión de células a la superficie, crecimiento de microcolonias, maduración y ampliación de estructuras, y desprendimiento de algunos microorganismos envejecidos o sus restos. El sistema QS parece estar implicado en todas las etapas de formación de biofilm (Feng y col., 2013).

El principio de la formación de un biofilm se establece como parte de los procesos que se pueden presentar en el mecanismo de QS. Las bacterias mantienen una comunicación permanente entre ellas, dentro de los diferentes ambientes o microambientes donde permanecen y conviven. Los mecanismos de comunicación, le permiten reconocer cuando se alcanza el umbral o nivel de presencia, para desarrollar nuevas funciones, especialmente un comportamiento social, simbiótico y de permanente reconocimiento, útil para las tareas que adquieren en el mecanismo de QS (Díaz Caballero y col., 2011).

QS involucra la regulación y expresión de genes específicos a través de moléculas de señalización que median la comunicación intercelular. Esta característica es dependiente de la densidad celular que exista, así por ejemplo, en biopelículas con una alta densidad celular, se induce la expresión de genes de resistencia que proveen protección y supervivencia. Similarmente, los microorganismos pueden producir sustancias para estimular la propagación de colonias e inhibir el crecimiento de otras dejando a los microorganismos más patógenos en una posición favorable dentro del biofilm (Betancourth y col., 2004).

La capacidad de las bacterias de comunicarse entre sí depende del despliegue y difusión de señales moleculares, que involucran la regulación y expresión de genes determinados. Este mecanismo se asegura que un número suficiente de bacterias se organicen regulando una acción que le permita a la especie, actuar como un organismo multicelular, con el fin de producir y detectar señales moleculares que favorezcan la expresión de factores patogénicos y la sincronización de grupos microbianos, en respuesta a una densidad poblacional, es decir, una vez alcanzado un número adecuado de bacterias (*Quorum*) en un hábitat o nicho en particular, puedan expresar ciertos factores de virulencia que favorezcan su supervivencia y patogenicidad (Barreto, 2011).

QS es un mecanismo que implica la síntesis, liberación y detección de moléculas señal llamadas autoinductoras (AIs). Las bacterias pueden utilizar además sistemas para monitorear su densidad poblacional y activar genes de expresión

específicos lo que les permite comportarse de manera ordenada. Existen evidencias de que el sistema de QS contribuye al desarrollo de la formación de biofilm en algunas bacterias, y que no solo participan en la construcción del crecimiento de biofilm, también participan en la disolución del biofilm desarrollado (Barreto, 2011) (Feng y col., 2013).

Es estos procesos la bacteria produce AIs intracelularmente y luego los libera al exterior. La concentración de AIs en el ambiente aumentará a medida que la población bacteriana se expanda. Y cuando se alcanza un nivel de umbral, los receptores afines se unirán a los AIs y desencadenaran la expresión de genes que controlan una amplia gama de actividades bacterianas, además de la formación de biofilm, competencia, bioluminiscencia, secreción de factores de virulencia, producción de antibióticos, esporulación entre otros (Feng y col., 2013).

Estos mecanismos han sido demostrados en varias bacterias Gram positivas y Gram negativas, representando señales inter e intracelulares que generan beneficios para grupos locales o poblaciones enteras de microorganismos basados en la difusión y detección de AIs, los cuales por lo general son compuestos de bajo peso molecular (por ejemplo, acil homoserina lactonas) en bacterias Gram negativas y péptidos, en bacterias Gram positivas (Barreto, 2011).

Sin embargo, recientemente un nuevo autoinductor, conocido como AI-2, ha sido propuesto como señal universal, debido a su participación en la comunicación entre especies bacterianas (Barreto, 2011).

Quorum sensing en bacterias Gram positivas (**Figura 2**): La mayoría de los sistemas de comunicación encontrados en bacterias Gram positivas, corresponden al uso de señales oligopeptídicas detectadas por un sistema de dos componentes de proteínas fosforiladas que transducen la señal por un mecanismo de fosforilación/defosforilación (Barreto, 2011).

Quorum sensing en bacterias Gram negativas: Los sistemas de QS en bacterias Gram negativas (**Figura 3**) se encuentran regulados por señales pertenecientes a la familia de la N-acil homoserina lactonas (AHLs), moléculas capaces de controlar genes específicos en respuesta a una densidad poblacional; estas AHLs son moléculas que poseen una longitud que varía según el número de carbonos (4 hasta 18); poseen una cadena lateral acil que es diferente según el tipo molécula.

Las AHLs son producidas por enzimas específicas, difundiéndose libremente a través de las membranas bacterianas y alcanzando una concentración umbral, siendo captadas por receptores determinados (Barreto, 2011)

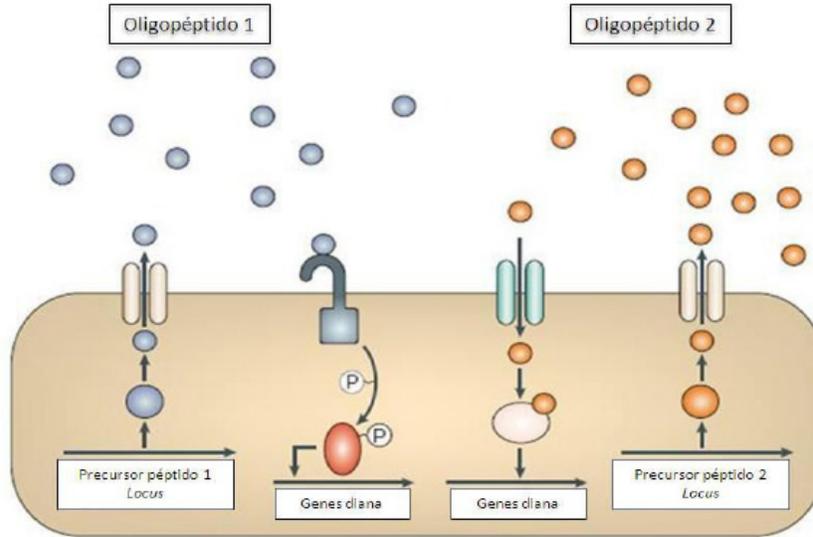


Figura 2: Sistema de expresión de Quorum sensing en bacterias grampositivas. Precursores peptídicos sintetizan oligopéptidos que actúan como autoinductores, los cuales son detectados y procesados por un sistema de fosforilación de 2 componentes (Barreto, 2011).

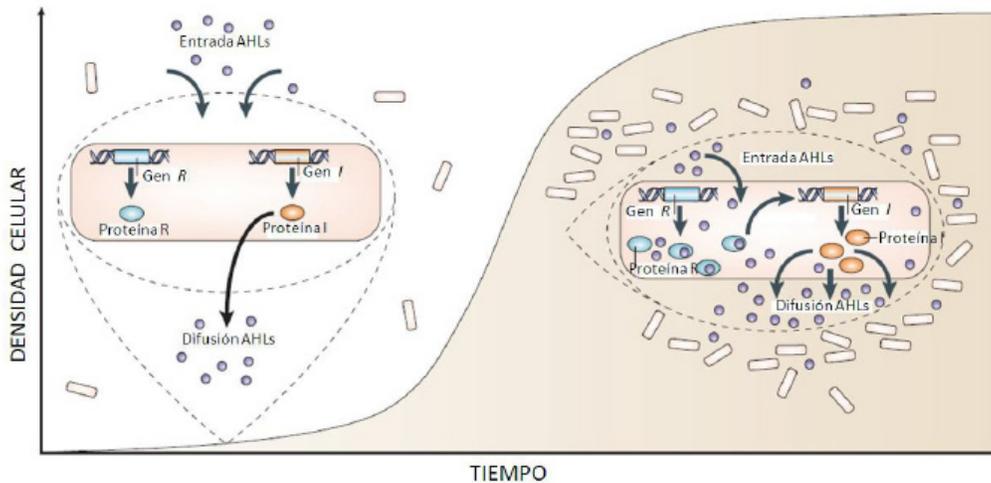


Figura 3: Sistema de expresión de Quorum sensing en bacterias gramnegativas, donde la proteína I cataliza la producción de AHL, la cual es captada por el regulador transcripcional (Proteína R) (Barreto, 2011).

En bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, el péptido cíclico que depende del sistema QS reprime varias adhesiones superficiales incluyendo

fibrinógeno y proteínas de unión a fibronectina que inhiben el contacto con la matriz huésped y consecuentemente la iniciación del biofilm (Feng y col., 2013).

Los inductores AI-2 en *Escherichia coli* alteran las propiedades de motilidad bacteriana e incrementan la formación de biofilm (Feng y col., 2013).

Xanthomonas campestris utiliza QS para producir una manosa extracelular con el fin de adherirse a xantano y promover la agregación celular durante la formación de biofilm (Feng y col., 2013).

Las condiciones ambientales externas que afectan la formación de biofilm en agua ha sido descrita completamente e incluye: el nivel de nutrientes, el material de la tubería y la temperatura. Sin embargo, mucha menos atención se ha prestado a los efectos de comunicación célula-célula y a la señalización del biofilm en los sistemas (Feng y col., 2013).

Considerando la existencia del sistema de QS en los sistemas de tratamiento de agua, y su potencial para promover o controlar los biofilms en este tipo de ingeniería, que de este modo afectan la operación y eficiencia del sistema; es bien necesario un estudio y una comprensión global de los procesos de QS en biopelículas de múltiples especies. El efecto de los sistemas de QS es central para el control de la formación de biofilms y expresión de virulencia en muchas bacterias patógenas, así como un importante objetivo para el control de enfermedades (Feng y col., 2013).

C.2 FORMACIÓN DE BIOFILM. BASES QUÍMICAS Y FÍSICOQUÍMICAS. FASES DEL DESARROLLO

Algunos estudios habían considerado que los biofilms no seguían un orden especial y que por el contrario se formaban de forma desordenada, pero gracias al empleo de nuevas tecnologías se ha confirmado lo contrario (Díaz, 2011).

El desarrollo de las biofilms se ha dividido en cinco etapas claramente definidas, la **Figura 4** esquematiza esta formación:

1. Acondicionamiento de la superficie: Moléculas orgánicas se adhieren a la superficie de las tuberías, neutralizando su carga y permitiendo el acercamiento de las primeras bacterias. Con la finalización de esta etapa, comienza el crecimiento del biofilm.

Existen factores externos que afectan la adhesión de las bacterias desde un medio líquido sobre un sólido. Los *factores físicos* más importantes son la tensión de corte, temperatura, rugosidad, topografía y carga superficial. Estos factores influyen

el transporte, los fenómenos interfasiales, el desprendimiento y las reacciones en la interfase. Los *factores químicos* son numerosos, algunos de los más importantes son: la composición de la superficie del sustrato, la composición del medio en el que se desarrolla el biofilm, el pH, el oxígeno disuelto (Díaz, 2011).

La materia orgánica presente en el agua se adsorbe sobre las superficies y forma lo que se conoce como “película acondicionante” (conditioning film), cambiando las propiedades químicas y físicas de la interfase sustrato/fluido y tornándola más amigable para la adhesión bacteriana (Díaz, 2011).

2. Adhesión bacterias pioneras: Bacterias que flotan libremente se unen entre ellas gracias a la atracción electrostática y a fuerzas físicas. Algunas de estas células se fijarán permanentemente a la superficie por medio de sustancias poliméricas extracelulares que ellas mismas producen.

La adhesión primaria (reversible) de bacterias a una superficie puede ser de dos maneras:

-*Activa*: La motilidad, otorgada por flagelos, fimbrias y pilis tipo IV, ayudaría a la bacteria a alcanzar la superficie en las etapas iniciales de la adhesión, siendo su función principal vencer las fuerzas de repulsión más que actuar como adherente. Sin embargo, la motilidad no parece ser un requisito esencial para el acercamiento al sustrato, puesto que bacterias Gram-positivas inmóviles, como estafilococos, estreptococos y micobacterias, también poseen la capacidad de formar biofilms. En el caso de las bacterias Gram-positivas se ha descrito, en esta primera etapa, la participación de proteínas de superficie. Una vez que llegan a la superficie pueden desplazarse sobre ella mediante movimientos individuales o grupales (Díaz, 2011).

-*Pasiva*: Factores externos tales como la gravedad, difusión, precipitación de partículas y dinámica de fluidos pueden favorecer la adhesión de los microorganismos a cualquier superficie (Díaz, 2011).

En la adhesión bacteriana primaria pueden también influir, tal como se mencionó previamente, variaciones en la velocidad de flujo, temperatura del agua, y concentración de nutrientes. Así, por ejemplo, se ha encontrado que la variación en la concentración de diversos cationes (sodio, calcio, hierro) afecta la adhesión de *Pseudomonas spp* a superficies de vidrio (Díaz, 2011).

3. Formación de la capa gelatinosa: Los polímeros extracelulares consisten en grupos de polisacáridos cargados y neutros que cementan las células a las paredes de las tuberías y que además actúan como un sistema de intercambio de iones para

atrapar y concentrar los nutrientes que flotan en el agua. En la medida en que los nutrientes se van acumulando, las bacterias pioneras se van reproduciendo. Después las células hijas ya producen su propia capa permitiendo aumentar el volumen del sistema de intercambio iónico, y así sucesivamente se va formando una próspera colonia. En un biofilm maduro gran parte de su volumen (75%-95%) está ocupado por la matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y agua. Esta sustancia acuosa da al biofilm un aspecto gelatinoso y resbaladizo.

En esta etapa predominan las reacciones moleculares entre las estructuras superficiales bacterianas y la superficie del sustrato. Estas reacciones implican una adhesión firme entre la bacteria y la superficie mediadas por estructuras poliméricas superficiales como, por ejemplo, cápsulas, fibrilas, fimbrias, pilis y EPS. La adhesión irreversible específica puede ser definida como la unión específica entre las adhesinas bacterianas (un componente específico molecular de la superficie bacteriana) y un receptor del sustrato (un componente específico de la superficie del material) estando menos afectada por factores ambientales (pH, electrolitos y temperatura) (Díaz, 2011).

El sello distintivo que diferencia a los biofilms de las bacterias simplemente adheridas a una superficie es que los biofilms contienen EPS que rodea a las bacterias residentes. La composición del exopolisacárido es diferente en cada bacteria y varía desde alginato en *Pseudomona aeruginosa*, celulosa en *Salmonella typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *Vibrio cholerae* hasta poly-N-acetilglucosamina en *Staphylococcus aureus*. Además, estudios recientes han puesto de manifiesto que una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir distintos exopolisacáridos como componentes de la matriz de la biopelícula (Díaz, 2011).

4. Colonizadores secundarios: La EPS que está atrapando nutrientes, ahora también comienza a atrapar otras bacterias por interacción electrostática y por una obstrucción física. Estos colonizadores secundarios metabolizan los desperdicios de los colonizadores primarios y a su vez producirán sus propios desperdicios. Es así como paulatinamente se van formando diferentes capas en un mismo biofilm, llegando a convertirse las capas internas en una biopelícula anaerobia ante la falta de oxígeno, y las externas en aerobias. La presencia de estas capas anaeróbicas son las causantes habituales de la corrosión de las tuberías metálicas.

Esta etapa corresponde a la maduración que da como resultado una arquitectura compleja, con canales, poros y redistribución de bacterias en el sustrato.

La densidad global y la complejidad del biofilm aumenta a medida que los organismos adheridos se replican, mueren y los componentes extracelulares de las bacterias interactúan con las moléculas orgánicas e inorgánicas presentes en el medio ambiente circundante. El potencial crecimiento de cualquier biofilm está limitado por la disponibilidad de nutrientes en el ambiente inmediato, la penetración de estos nutrientes dentro del biofilm y la eliminación de residuos. Otros factores que pueden controlar la maduración del biofilm son el pH interno, la penetración de oxígeno y fuentes de carbono y la osmolaridad (Díaz, 2011).

5. **Funcionamiento del biofilm:** Un biofilm maduro funciona como un tejido que vive sobre la pared de las tuberías. Es una comunidad compleja, metabólicamente cooperativa, en la cual cada especie de bacteria vive en un micro nicho adaptado de acuerdo con sus requerimientos. En la medida en que el espesor del biofilm aumente hasta llegar a zonas de un flujo turbulento, las capas externas se desprenderán y posiblemente tratarán de colonizar las paredes de la tubería aguas abajo. De acuerdo con lo anterior la tasa de desprendimiento de la biopelícula será proporcional a su crecimiento. El tiempo que un biofilm toma para llegar a su madurez depende de las condiciones del sistema en el que se desarrolle (Muñoz, 2005).

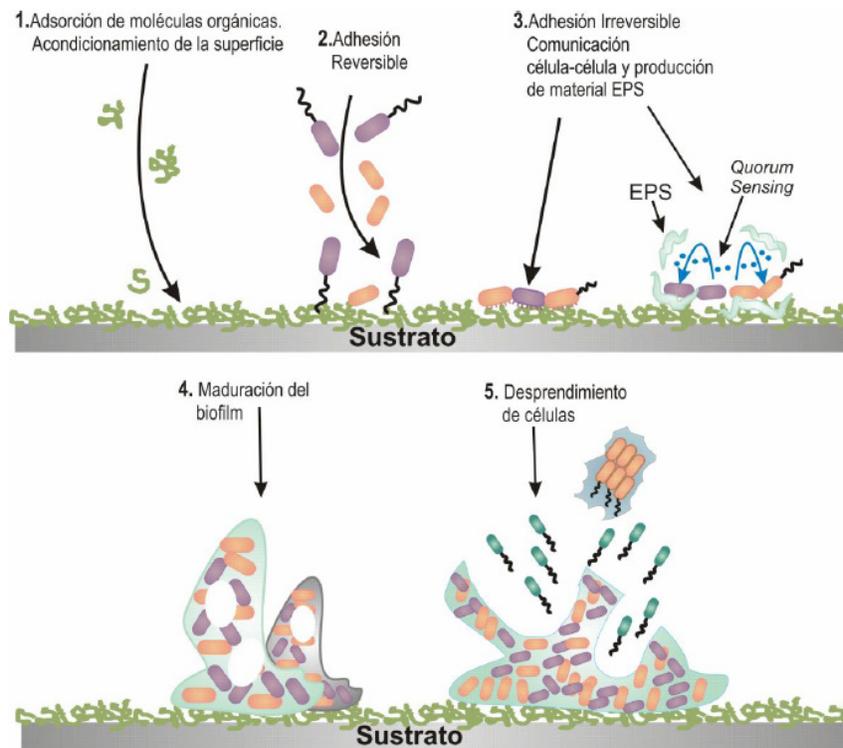


Figura 4: Esquema representando las etapas presentes durante el desarrollo de un biofilm sobre un sustrato (Díaz Caballero y col., 2011)

Resumiendo las etapas anteriores; en primer lugar existe un acondicionamiento de la superficie de la tubería por adsorción de materia orgánica en las paredes, ayudado por el transporte de células microbianas desde la masa de agua circulante. Parte de las células que llegan a la superficie del tubo se adhieren irreversiblemente y otras vuelven al flujo de agua. Las células que han conseguido mantenerse adheridas a la superficie crecen a expensas del sustrato contenido en el agua, aumentando así el número de microorganismos integrantes del biofilm. Además, estas células excretan sustancias poliméricas que pasan a formar parte de la película biológica, aumentando su tamaño. Posteriormente, y una vez formada una capa base de biofilm, ésta se convierte en un lecho viscoso que permite el atrapamiento de células y nutrientes, formando en ocasiones una superposición de microcolonias entre las cuales puede circular agua (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Por último, el biofilm experimenta un desprendimiento parcial de su masa por efecto del movimiento del fluido y de la acción mecánica de otras partículas que chocan contra él, pudiendo llegar a producirse desprendimientos masivos de capas por pérdida de cohesión o adherencia. Durante esta formación, las condiciones hidrodinámicas del flujo regulan el transporte de microorganismos desde la masa de agua hacia la superficie; una vez formada la película, las condiciones hidrodinámicas en las inmediaciones de la superficie modificada controlan el transporte de nutrientes y metabolitos hacia, desde y en el biofilm (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

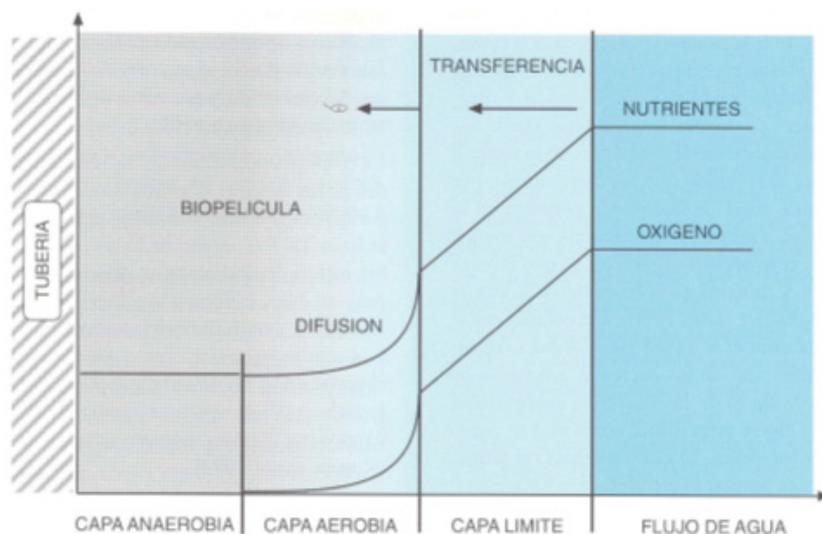


Figura 5: Transporte de los materiales en la biopelícula (Tejera y col., 1995)

Tal como lo describe la **Figura 5**, las concentraciones de nutrientes, de oxígeno y de desinfectante disminuyen desde la zona de libre circulación del agua hacia el interior de la biopelícula. Por tanto, esto predispone para que los biofilms puedan contener microorganismos aerobios y anaerobios formando diferentes microambientes, en función de su accesibilidad al sustrato y al oxígeno (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

C.3 FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL CRECIMIENTO DE LOS BIOFILMS

Las condiciones que influirán en el crecimiento, incluyen factores tales como el desinfectante utilizado y el mantenimiento de la concentración residual en el sistema, la resistencia de los microorganismos a los desinfectantes, la naturaleza y concentración de componentes biodegradables en el tratamiento del agua, el tipo de material usado en las tuberías, así como la temperatura del agua (Momba y col., 2000).

En términos de la ecología microbiana es pertinente indicar que la temperatura, el pH y la actividad de agua (a_w), son los tres factores principales que afectan el desarrollo microbiano (Rodríguez, 2012).

Cuando las bacterias presentes en la red de distribución se encuentran con condiciones adecuadas para su desarrollo, se multiplican fácilmente. Estas condiciones serán descriptas a continuación:

C.3.1 TEMPERATURA DEL AGUA

La temperatura del agua afecta los procesos microbiológicos relacionados con la calidad del agua: tasa de crecimiento de las bacterias, eficiencia y decaimiento de los desinfectantes y la ocurrencia de la corrosión. Varios autores han determinado como la presencia de bacterias aumenta en las épocas de verano cuando la temperatura del agua puede alcanzar valores mayores. Las bacterias crecen en un rango de temperatura entre 15 y 50°C (Besner y col. 2002).

Ahmed y col. (2012) reportaron que si bien aislaron biofilms durante todo los meses del año; este aislamiento fue significativamente mayor durante el período Mayo/Agosto, coincidente con los meses más calurosos en Bangladesh.

Según Córdoba y col. (2010), en un trabajo sobre la ocurrencia de *coliformes* dañados realizado en el sistema de distribución de agua potable en la ciudad de La Plata, Prov. de Buenos Aires, otro factor a considerar es el alto consumo de agua durante los meses de verano; ellos indican que esto podría aumentar la remoción de bacterias patógenas presentes en el biofilm.

C.3.2 TIPO Y CONCENTRACIÓN DEL DESINFECTANTE

Como se indicara anteriormente, el biofilm es un lecho viscoso que dificulta y reduce la penetración de los desinfectantes hacia sus capas interiores y por tanto actúa como barrera protectora de los microorganismos que allí se encuentran. Diferentes investigadores han demostrado que la mayoría de las bacterias presentes en aguas cloradas están adheridas a partículas suspendidas o a las paredes de las tuberías, lo que hace suponer que los microorganismos asociados a una superficie están protegidos frente a una desinfección convencional (cloro residual de 0,1 a 0,3 mg/l) y no son normalmente inactivados (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Ha sido demostrado que algunas bacterias pueden sobrevivir y multiplicarse a pesar de la presencia de desinfectantes en el sistema de distribución debido al posible desarrollo de resistencia hacia estos compuestos. Los biofilms son menos susceptibles a los desinfectantes que las células planctónicas (Momba y col., 2000) (Córdoba y col., 2010).

La eficiencia desinfectante del cloro sobre los microorganismos fijados en un biofilm depende al menos de cuatro factores:

- 1° Demanda de cloro del agua y del biofilm.
- 2° Cantidad de película biológica acumulada.
- 3° Concentración de cloro en la interfase agua-materia.
- 4° Dosis de cloro aplicada

La variación observada en la morfología celular de las microcolonias integrantes de un biofilm sugiere una estrecha relación fisiológica entre las especies presentes, lo que confiere a las células una mayor protección frente a los desinfectantes (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Las células adheridas experimentan una expresión genética diferencial que favorece la producción de polímeros extracelulares, aumentando así la adherencia o la consolidación de la estructura del biofilm. Los organismos adheridos también alteran su morfología y su tasa de crecimiento dependiendo del sustrato y de las características físico-químicas del medio. Por estas razones, la resistencia aparente de la biopelícula a los biocidas puede ser el resultado de la alteración química de la superficie celular y de los mecanismos de adsorción, afectando de este modo la penetración del desinfectante en la película biológica; por otra parte, una tasa de crecimiento lento de las células hace que su metabolismo y sus ácidos nucleicos sean

menos sensibles al efecto de los biocidas en puntos específicos (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Las células presentes en el biofilm están protegidas y solamente son inactivadas con concentraciones de biocida un orden de magnitud superior al necesario para inactivar las células suspendidas. Por otra parte, durante el tiempo que el agua permanece en la red, el cloro utilizado como desinfectante reacciona o se combina con la materia orgánica presente en el agua o adherida a la pared de la tubería, disminuyendo su concentración y limitando así el número de células sobre las que puede actuar; esto fue corroborado por Córdoba y col. (2010) quienes observaron correlaciones inversamente proporcionales entre coliformes aislados y el nivel de cloro libre a lo largo del sistema de conducción de agua (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

El cloro libre reacciona rápidamente con la materia orgánica (dos veces más rápido que las cloraminas), por lo que se consume antes de que pueda penetrar en la biopelícula. Por otra parte, las cloraminas son menos reactivas con los compuestos orgánicos, lo que favorece su penetración y difusión en la biopelícula (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Un estudio realizado por LeChevallier y col. (1988) indica que la resistencia a la desinfección de las bacterias adheridas es 150 veces mayor que el de las bacterias suspendidas cuando se utiliza cloro, pero sólo 2 veces mayor cuando se usa monoclорamina. El cloro es pues un desinfectante eficaz para limitar la proliferación bacteriana, pero no consigue impedirla totalmente.

La elección del desinfectante residual depende de los mecanismos de resistencia observados en las bacterias de la biopelícula. LeChevallier y col. (1988) muestran que la adherencia a una superficie altera el mecanismo de interacción del desinfectante con las bacterias. Teóricamente, la barrera física que una superficie representa puede afectar la capacidad de un desinfectante para acceder a la membrana celular; dicho de otro modo, un organismo adherido es susceptible de ser atacado por una sola zona, mientras que los organismos suspendidos libremente (fase planctónica) pueden ser atacados por todo su perímetro. Estos mismos autores concluyen que la eficacia desinfectante del cloro depende del tipo de superficie a la que está adherida la biopelícula, de la edad de la película biológica, del encapsulamiento de las células y de la concentración de nutrientes presente; por el contrario, el mismo estudio concluye que la eficacia desinfectante de la monoclорamina tan sólo se ve afectada por el tipo de superficie. Estas diferencias entre los

mecanismos de acción de los desinfectantes y entre los mecanismos de resistencia de las bacterias han sugerido la posibilidad de desarrollar programas de desinfección basados en una alternancia de los desinfectantes utilizados, como forma de controlar el desarrollo del biofilm (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

C.3.3 NUTRIENTES

Como cualquier ser viviente, las bacterias necesitan alimento para su crecimiento y desarrollo, al limitar los nutrientes se limita su crecimiento, el problema es que tan solo basta con una mínima cantidad de estos para alimentar muchas bacterias. Teóricamente 1 ppb es suficiente para producir 9500 bacterias/l. Estas cantidades mínimas de nutrientes (generalmente expresadas en miligramos o microgramos), difíciles de cuantificar y controlar para el hombre, además de las bajas cantidades de oxígeno que requieren las bacterias aerobias para su crecimiento, hacen difícil inhibir el desarrollo de los biofilms en los sistemas de distribución (Muñoz, 2005).

C.3.4 EFECTOS DEL MATERIAL DE LA TUBERÍA

Es conocido que hay una relación directa entre el material usado para la construcción del sistema de distribución de agua potable y la calidad del agua. El contacto del agua con ciertos materiales de la red de abastecimiento puede favorecer el crecimiento bacteriano. Algunos materiales usados en las conducciones a nivel domiciliario pueden permitir incluso la multiplicación de bacterias patógenas oportunistas. Evitar esta situación en los sistemas de abastecimiento requiere medidas que van más allá de un buen tratamiento del agua en la planta potabilizadora (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Momba y col., 2000).

El biofilm es capaz de desarrollarse sobre las paredes de las tuberías si los materiales que las constituyen pueden suministrar nutrientes para el crecimiento bacteriano. La lixiviación de iones metálicos por parte de los *materiales plásticos* es suficientemente baja como para causar efectos tóxicos, pero aportan cationes esenciales para la función enzimática de las bacterias. Las células bacterianas en contacto con los materiales absorben más fácilmente los iones, por lo que los materiales con base orgánica pueden ser directamente utilizados por algunos microorganismos del biofilm (Rogers y col., 1994).

La colonización bacteriana de los sistemas de abastecimiento de agua está ampliamente referida en la bibliografía especializada. En 1988, LeChevallier y col. describen la presencia de coliformes en forma de biofilms dispersos sobre nódulos de

corrosión, hasta alcanzar valores de 2×10^4 bacterias/cm², y concluyen que la presencia de este tipo de microorganismos en el agua puede depender del tipo de material y de la edad de la propia red. Sin embargo, Momba y col. (2000) han demostrado que muchas de las superficies de las tuberías en los sistemas de distribución pueden contener biofilms con densidad bacteriana incluso mayor a 10^9 /cm².

Colbourne y col. (1988) han atribuido la presencia de organismos patógenos en sistemas de abastecimiento de agua potable a la supervivencia de estos organismos en biofilms formados sobre las juntas de caucho. Los *materiales de base orgánica* (revestimientos, sellantes, plásticos y caucho) o con aditivos orgánicos (mortero de cemento con compuestos orgánicos) pueden favorecer un intenso crecimiento microbiano.

Los *materiales inorgánicos* (fibrocemento, hormigón, hierro colado, hierro dúctil y acero) se han utilizado desde hace muchos años para la construcción de sistemas de abastecimiento de agua. Los nódulos producidos por corrosión de las tuberías metálicas reaccionan con el cloro, aumentan la demanda del mismo, y favorecen el desarrollo microbiano al impedir la penetración del desinfectante (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

Lu y col. (1999) demostraron la relación existente entre el material de la tubería y la demanda de cloro de biofilms en los sistemas de distribución de agua. Señalaron que, en la distribución por red, el consumo de cloro necesita ser considerado en forma separada, entre *materiales sintéticos* y *metálicos*. En el primer caso, la mayor parte del cloro es consumido por los depósitos: agua y biomasa. Por ejemplo para un diámetro de 250 mm de tubería de material sintético, el consumo de cloro total en 2 horas es igual a 0,22 mg/l. Mientras que para una de hierro fundido, el consumo de cloro después de las 2 horas es igual a 0,50 mg/l, en este caso, la demanda de cloro por biomasa es insignificante, y el cloro es principalmente consumido por el material y luego por el agua.

Pedersen (1990) examinó la formación de biofilm sobre superficies de acero inoxidable y cloruro de polivinilo (PVC), observando que el tiempo necesario para detectar la formación de biofilm sobre acero inoxidable (cloro libre residual = 0,1 mg/l; velocidad del agua = 100 milímetros/segundos) fue de 4 meses aproximadamente; mientras que Donlan y col. (1994) observaron el desarrollo de biofilm sobre hierro colado al cabo de un mes.

Por otro lado, Rogers y col. (1994) realizaron un extenso estudio comparativo entre diferentes materiales utilizados en sistemas de abastecimiento domiciliario y observaron que todos tenían un alto nivel de colonización en comparación con el vidrio (patrón). A las 24 horas de comenzado el estudio, el acero inoxidable registró la menor concentración de la biota bacteriana ($5,24 \times 10^4$ UFC/cm²), mientras que los elastoméricos (látex y etilenopropileno usados como control positivo de crecimiento) exhibieron concentraciones superiores a 1×10^7 UFC/cm². El acero dulce y los materiales plásticos llegaron a desarrollar biofilms con concentraciones del orden de 10^5 a 10^6 UFC/cm² en el mismo período de tiempo. Concluyendo, el polietileno favorece el mayor crecimiento bacteriano (10^6 UFC/cm²), mientras que el acero inoxidable propicia el menor (10^4 UFC/cm²) (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

La composición química de los materiales en contacto con el agua es un factor determinante del desarrollo del biofilm, pues los compuestos orgánicos liberados por dichos materiales favorecen el crecimiento de los microorganismos que la integran; y por otro lado los de naturaleza metálica requieren una demanda de cloro mayor.

En definitiva, el mantenimiento de una adecuada calidad bacteriológica y organoléptica del agua requiere no sólo limitar la concentración de nutrientes en el agua, antes y después del tratamiento de potabilización, sino también efectuar un control de los materiales utilizados en las conducciones de agua, un riguroso mantenimiento de las instalaciones de distribución y un programa de desinfección adecuado (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

C.3.5 AREA Y RUGOSIDAD DE LA SUPERFICIE

El factor área influye de gran manera en la formación de los biofilms, ya que a una mayor superficie de adhesión, mayor es el número de bacterias que pueden crecer.

Aunque las superficies mas lisas retardan la adhesión de las bacterias pioneras, esto no significa que se vaya a disminuir la cantidad total de biomasa. Se ha demostrado que después de unos días, la cantidad total que se anidará podrá no variar (Muñoz, 2005).

C.3.6 VELOCIDAD DEL FLUJO

Las altas velocidades de flujo no van a prevenir la formación de biofilms ni su desprendimiento total, pero sí puede controlar su espesor. Independiente de la velocidad del flujo y del tipo de flujo (laminar, turbulento) que se presente, la teoría de

la capa límite establece que el agua fluye lentamente en las cercanías de la pared de las tuberías hasta llegar a cero en la pared. Esta zona en donde la velocidad no concuerda con la magnitud del caudal circulante y la geometría de la sección, se denomina subcapa laminar. Se considera que el espesor de esta capa es igual al espesor máximo que puede alcanzar la biopelícula. La biopelícula alcanza un espesor de equilibrio que depende de la velocidad del flujo y del nivel de nutrientes (Knobelsdor y Mujeriego, 1997).

En teoría la velocidad del flujo inmediatamente adyacente a la interfaz sólido líquido es insignificante. Esta zona de flujo insignificante esta condicionada por la capa límite hidrodinámica. Este espesor es dependiente de la velocidad lineal; los incrementos en las velocidades generan una disminución en el espesor de la capa límite. La región fuera de la capa límite es caracterizada por turbulencias. Para regímenes de flujo laminar o de poca turbulencia la capa límite hidrodinámica puede afectar substancialmente las interacciones célula sustrato. Las células se comportan como partículas en un líquido, y la tasa de sedimentación y asociación en la capa sumergida puede depender mayormente de la velocidad del flujo. Con el incremento de la velocidad, se disminuye el espesor de la capa y las células pueden ser cada vez más controladas por la turbulencia y mezcla, como lo muestra la **Figura 6** (Gelves, 2005).

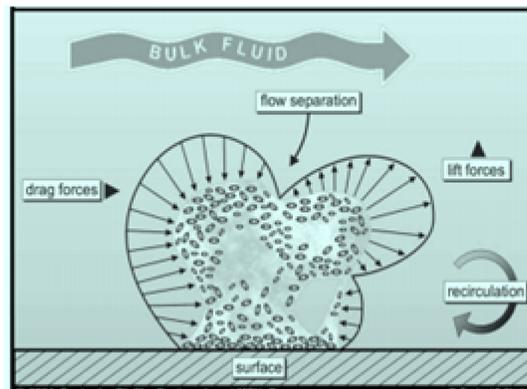


Figura 6: Fuerzas hidrodinámicas sobre la estructura de la biopelícula bajo flujo turbulento (www.erc.montana.edu)

El desprendimiento de biopelículas por fuerzas físicas ha sido descrito por Donlan (2002) y se han encontrado tres principales procesos en este fenómeno de desprendimiento: *erosión* de la biopelícula por el esfuerzo cortante del fluido, lo cual provoca el desprendimiento de pequeños fragmentos de biopelícula, por *remoción rápida y masiva*, y por *abrasión*, debido a la colisión de partículas contenidas en la

masa de agua. La tasa de erosión de las biopelículas se incrementa con el espesor de esta y con el esfuerzo cortante del fluido en la interfaz biopelícula-líquido. Con el incremento en la velocidad del flujo, la capa límite hidrodinámica decrece, resultando en una zona de turbulencia y mezcla muy cerca de la superficie de la biopelícula. Los desprendimientos rápidos y masivos son más aleatorios que la erosión y en la mayoría de ocasiones se deben al decaimiento de oxígeno o nutrientes dentro de la estructura de la biopelícula.

En ensayos realizados por Soini y col. (2002) en sistemas piloto, se demostró que los incrementos en la velocidad del flujo, produjeron disminución en las densidades de bacterias sobre las superficies de las tuberías, lo que indica que el desarrollo de las biopelículas es más favorable en zonas de baja velocidad. Concluyen que el desarrollo de las biopelículas no puede ser controlado únicamente por la velocidad del flujo.

Resultados similares fueron reportados por Cloete y col, (2003), donde aumentos en la velocidad del flujo mostraron una clara disminución en el número de bacterias viables en la biopelícula, e incrementos en la velocidad del flujo resultaron en velocidades específicas de desprendimiento, así, el rango de velocidades de desprendimiento encontrado fue de 3 a 4 m/s. De esta manera se puede considerar, que en la red de distribución, las zonas de bajas velocidades de flujo son más propensas a la formación de biopelículas. Sin embargo, como se nombró anteriormente; hay que tener en cuenta que la velocidad no es el único factor que interviene en la potenciación del crecimiento.

Se ha estudiado el efecto del cambio en el esfuerzo cortante, sobre el desprendimiento de las biopelículas, y se encontró que la tasa de desprendimiento se incrementaba rápidamente con el aumento en el esfuerzo cortante y luego retornó a su nivel previo. Además se observó cómo la biopelícula tenía la capacidad de ajustarse a las condiciones físicas reinantes en el momento (altos o bajos esfuerzos cortantes) (Choi y Morgenroth, 2003).

C.4 BIOFILMS EN LAS REDES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA, SU IMPACTO

Según Larson (1996), un sistema de distribución de agua es un sistema sensible, dinámico y particular con sus propias características y no solamente una red

de tuberías; Grünwald y col. (2001), consideran la red de distribución como reactores químicos y biológicos a gran escala con altos tiempos de residencia.

Geldreich (1990), afirma que el deterioro de la calidad del agua también puede producirse por la existencia de fugas en la red o, como consecuencia de reparaciones en tramos de tuberías o de la instalación de tuberías nuevas. No obstante, el proceso de tratamiento es un determinante en el aseguramiento de la calidad, sin embargo, bajo ciertas condiciones cierto número de bacterias pueden entrar en el sistema con la posibilidad de encontrar un sitio propicio de crecer y de multiplicarse.

Mientras que Clark y col., (1995), definen un sistema de distribución de agua como la última barrera para asegurar la integridad de la calidad del agua.

Aparte del riesgo microbiológico que suponen los biofilms en los sistemas de distribución de agua potable, su presencia también lleva asociada muchos otros aspectos negativos que favorecen el decaimiento de la calidad del agua en los sistemas de distribución, como se describirá en las próximas secciones.

C.4.1 PROBLEMÁTICA ASOCIADA AL DESARROLLO DEL BIOFILM

La presencia de biofilms en los sistemas de distribución de agua potable, como ha venido describiéndose anteriormente, lleva asociada numerosos aspectos negativos.

Los problemas asociados al desarrollo de biofilms en los sistemas de distribución de agua potable, tal como lo menciona Ramos Martínez (2012), siguen la siguiente clasificación:

- Riesgo sanitario
- Deterioro estético del agua
- Proliferación de organismos superiores
- Problemas operacionales
- Consumo de desinfectante
- Biocorrosión

C.4.1.1 RIESGO SANITARIO

Las bacterias tienen capacidad para adaptarse y desarrollarse en los biofilms de los sistemas de distribución de agua potable, los cuales les ofrecen todos los microambientes nutritivos y electroquímicos necesarios para su evolución y protección contra los desinfectantes. Es por ello que los biofilms pueden convertirse en

reservorio de bacterias patógenas, ya que actúan como refugio protegiéndolas de los desinfectantes (Nieto y Saldarriaga., 2009) (Ramos Martínez, 2012).

Es pertinente indicar que en los sistemas de distribución de agua potable se utilizan las bacterias *coliformes* como indicadores de la presencia de microorganismos patógenos. La denominación genérica *coliformes* designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua. Su presencia representa un riesgo potencial para la salud pública y es por ello que estas bacterias son usadas como el principal indicador microbiológico de la calidad del agua. La presencia de coliformes injuriados en agua de red, también ha sido estudiado; y la detección de estos debería ser incluida en los análisis de rutina en el sistema de distribución de agua (Córdoba y col., 2010).

En los países desarrollados, los organismos tradicionalmente asociados con suministros de agua contaminada, como *Vibrio cholerae* y otros patógenos entéricos han dejado de ser un problema. Aunque, desafortunadamente, existen algunos patógenos que siguen causando contaminaciones periódicas, entre los que se *pueden incluir* virus entéricos, *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y protozoos. De hecho, se ha demostrado que el tratamiento insuficiente para el abastecimiento de agua potable, el mal funcionamiento de los sistemas de recolección de aguas residuales, y las tuberías de distribución defectuosas, han dado lugar a la contaminación del agua potable por STEC. Así como también se ha reportado la unión de STEC en superficies abióticas, tales como tuberías, y la consecuente formación de biofilms resistentes (Ramos Martínez, 2012) (Lascowski y col., 2013).

Si bien, frecuentemente las bacterias presentes en los biofilms no son patógenas, es importante tener en cuenta que, aparte del hecho de que existen bacterias patógenas con capacidad para adaptarse y desarrollarse en los biofilms, también se ha demostrado la existencia de subpoblaciones de bacterias resistentes al cloro. Las diferencias observadas entre los mecanismos de acción de los desinfectantes y entre los mecanismos de resistencia de las bacterias han sugerido la idea de desarrollar programas específicos de desinfección, basados en una alternancia de desinfectantes, que permita asegurar un control adecuado del crecimiento del biofilm (Knobelsdor y Mujeriego, 1997) (Szewzyk y col., 2000).

Por ejemplo, se ha demostrado que todas las especies del genero *Mycobacterium* son resistentes a los métodos de desinfección estándares y persisten durante largos periodos de tiempo en los sistemas de distribución de agua potable (Taylor, 1998) (Ramos Martínez, 2012).

Entre otros aspectos a destacar, se encuentra el hecho de que algunos patógenos pueden crecer y persistir en los sistemas de distribución utilizando los productos metabólicos producidos por miembros de comunidades de biofilms no patógenas. Este hecho tiene especial relevancia para organismos como *Legionella pneumophila*, que no puede crecer únicamente con los nutrientes presentes en el agua. También existen casos en los que los biofilms pueden aumentar la patogeneidad de las bacterias, como es el caso de *L. pneumophila*; estudios sugieren que la interacción de esta con otras especies en biofilms mixtos puede aumentar su patogenicidad (Steirnet y col., 1998) (Ramos Martínez, 2012).

A pesar de que las bacterias son las más comunes en los biofilms de los sistemas de distribución, también se han identificado otros tipos de organismos, potencialmente patógenos, como los virus. La mayoría de virus encontrados y que tienen incidencia sobre la salud, son los llamados virus entéricos que son conocidos por causar enfermedades gastrointestinales. En los biofilms, los virus pueden acumularse, pero no reproducirse. Aunque es sabido que se encuentran 10 veces más virus en los biofilms que en el flujo de agua en presencia de cloro, y en ausencia de este, 20 veces más que en el flujo de agua lo que subraya el papel protector y de reservorio de organismos de los biofilms (Gelves, 2005) (Ramos Martínez, 2012).

C.4.1.2 DETERIORO ESTÉTICO DEL AGUA

Los biofilms están asociados con los problemas de coloración del agua y la generación de malos sabores y olores. Estos representan pequeños ecosistemas dentro de los sistemas de distribución y, si bien, las bacterias son las formadoras de los biofilms, y las más abundantes, existen otros tipos de organismos asociados a estos ecosistemas. De hecho, la principal causa para el deterioro estético del agua en las redes y tuberías, no son las bacterias, sino los hongos que se encuentran en los biofilms. Esto se debe a que muchos de los productos y subproductos del metabolismo de estos organismos tienen la capacidad de infundir al agua tratada sabor y olor, lo cual afecta directamente al consumidor final (Gelves, 2005) (Ramos Martínez, 2012).

Se ha encontrado que las algas que tienen la capacidad de crecer en los sistemas de distribución en ausencia de luz y alojadas en los biofilms también pueden deteriorar las características organolépticas del agua. Estas algas pueden proliferar en la oscuridad debido a su capacidad de desarrollar metabolismos heterotróficos, utilizar el carbono como fuente de energía y desarrollarse en los biofilms. Otros organismos presentes en los biofilms también pueden aportar sustancias generadoras de sabores y olores, como nematodos y amebas (Codony y col., 2003).

La coloración del agua que circulante está causada por las sales de hierro y manganeso desprendidas como producto de los procesos de corrosión de las paredes internas de las tuberías. Es sabido, que los procesos de corrosión pueden verse favorecidos por el metabolismo de algunos de los microorganismos presentes en redes y tuberías (Ramos Martínez, 2012).

Sin bien los problemas asociados a episodios de aguas coloreadas son principalmente estéticos; una consecuencia más importante puede ser la pérdida de desinfectante residual y el posterior aumento del desarrollo de biofilms (Imran y col., 2006).

C.4.1.3 PROBLEMAS OPERACIONALES

Los problemas operacionales asociados con el desarrollo de biofilms en los sistemas de distribución de agua potable son diversos. Como se ha mencionado anteriormente, la formación de biofilms en las conducciones de agua potable reduce la velocidad y la capacidad de circulación, lo que conduce a consumir más energía y obtener un menor rendimiento. De la misma manera, la presencia de biofilms puede causar disminución de presión en las tuberías de distribución. Sin embargo, los problemas operacionales, causados por el desarrollo de biofilms, más destacados, debido a su relevancia sanitaria y económica, son el consumo de desinfectante y la biocorrosión (Ramos Martínez, 2012).

C.4.1.3.1 CONSUMO DE DESINFECTANTE

Antes de entrar en el sistema de distribución, el agua es tratada con algún tipo de desinfectante residual con la intención de mantener los niveles de calidad adquiridos en la planta de tratamiento, durante el tiempo que permanezca en el sistema. Los desinfectantes comúnmente usados para este fin son el cloro libre y las cloraminas.

Existen cuatro criterios (Ramos Martínez, 2012) que deben considerarse a la hora de llevar a cabo la elección del desinfectante:

1. Estabilidad del residual
2. Toxicidad del residual
3. Control del biofilm
4. Formación de subproductos

En la actualidad el cloro libre es el desinfectante más comúnmente utilizado por su bajo precio, efectividad y su estabilidad química en el agua, aunque presenta un mal comportamiento en cuanto a la formación de subproductos por su alta reactividad (Kowalska y col., 2006).

Las cloraminas, en cambio, parecen más estables, permaneciendo durante un mayor tiempo en el sistema, y siendo más efectivas penetrando en los biofilms. Sin embargo, el uso de cloraminas como desinfectante secundario también presenta inconvenientes. La nitrificación es uno de los principales problemas que pueden darse. Además, las cloraminas presentan menor capacidad de oxidación y desinfección que el cloro libre. No oxidan ciertas sustancias frecuentes en muchas aguas como el hierro, manganesos y sulfuros (Ramírez, 2005).

El consumo de desinfectante se produce por reacciones que se dan tanto en la masa de agua circulante como en la pared de las tuberías de los sistemas de distribución: depósitos, productos de corrosión, microorganismos, impurezas orgánicas, compuestos amónicos y metálicos (como iones ferrosos y manganeso), son algunos de los constituyentes del agua que reaccionan con el cloro y lo consumen. Los factores que se ha demostrado influyen en el decaimiento de cloro asociado a la pared de las tuberías son el material y el diámetro de la tubería, la concentración inicial de cloro, los depósitos y productos de corrosión y los biofilms (Ramos Martínez, 2012).

Aunque el consumo de cloro por parte de los biofilms es un proceso que aún se entiende pobremente, se sabe que la presencia de biofilms en las paredes de las tuberías tiene implicancia en la tasa de decaimiento de cloro debido a que el biofilm reacciona con él y lo consume (Ramos Martínez, 2012).

Dick de Beer y col. en 1994 observaron que las concentraciones de cloro medidas en los biofilms eran tan sólo de un 20%, o menos, de la concentración existente en el agua circulante. Los datos obtenidos demostraron que existe difusión de cloro hacia el interior de la matriz del biofilm, y allí es consumido.

Concluyeron que la limitación en la penetración del cloro en el biofilm no se debe únicamente a una difusión transitoria, sino que está causada por la neutralización del cloro en la matriz del biofilm. También se observaron que existía variabilidad en las tasa de penetración del cloro en el biofilm bajo condiciones comparables. Este hecho sugiere la existencia de diferencias locales en los biofilms con respecto a la resistencia a la eficacia del cloro. Las zonas con una alta resistencia al cloro pueden tener una mayor capacidad de reducción del cloro que las zonas que presentan una mayor rapidez en la penetración del cloro. Esto puede deberse a la existencia de una mayor densidad celular, subpoblaciones con mayor poder reductor por célula o mayor densidad o poder reductor de las sustancias poliméricas extracelulares.

Seo (2009), observó que la cubierta de polímeros extracelulares de los biofilms está implicada en la interacción con el desinfectante y que puede atribuírsele parte del consumo.

C.4.1.3.2 BIOCORROSIÓN

La biocorrosión se refiere a la influencia de los microorganismos en la cinética de los procesos de corrosión de metales y es causada por los adheridos a la interfase. El proceso está asociado con los microorganismos o con los productos de su actividad metabólica, incluyendo enzimas, exopolímeros, ácidos orgánicos e inorgánicos, así como componentes volátiles como el amoniaco y el sulfuro de hidrógeno (Ramos Martínez, 2012).

La habilidad de producir un amplio espectro de productos metabólicos corrosivos en un gran rango de condiciones ambientales hace que los microorganismos sean una amenaza real para la estabilidad de los metales, incluso para los que han sido diseñados para resistir la corrosión (Ramos Martínez, 2012).

Las condiciones básicas que conducen a la corrosión influenciada por microorganismos están presentes en los sistemas de distribución de agua potable: las bacterias y las superficies metálicas entran en contacto con la formación de biofilms en las paredes de las tuberías (Lopes y col., 2009).

El principal grupo de bacterias asociado con fallos por corrosión en estructuras metálicas, son las bacterias reductoras de azufre, aunque existen muchos otros grupos capaces de llevar a cabo la biocorrosión. Todos ellos coexisten en los biofilms, a menudo formando comunidades capaces de afectar a los procesos electroquímicos a través de metabolismo cooperativo, el cual las especies individualmente no son capaces de iniciar. La colonización microbiana de superficies

metálicas produce importantes cambios en el tipo y la concentración de iones, el pH y el potencial de oxidación-reducción, alterando el comportamiento pasivo, o activo, del sustrato metálico y sus tasas de corrosión (Beech y Gaylarde, 1999) (Ramos Martínez, 2012).

Aunque no haya datos concretos del impacto económico que produce la corrosión influenciada por microorganismos en los sistemas de distribución de agua potable; no es difícil hacerse a la idea de la importancia que tiene. Entre los costes atribuibles a este proceso se encuentran una parte de los gastos asociados a tratamientos anti-corrosión, reemplazo de tuberías y estructuras dañadas y costes relacionados con averías o fugas, entre otros (Ramos Martínez, 2012).

C.5 PROPUESTA PARA EL ABORDAJE DE LA PROBLEMÁTICA PLANTEADA

Los biofilms pueden encontrarse, en mayor o menor medida, en todos los sistemas de distribución de agua potable; conocer cómo contribuyen los diferentes factores al crecimiento de estos y los criterios para controlar esos parámetros se presenta como la mejor prevención.

El análisis de los problemas de la gestión de la calidad del agua desde el origen de la fuente hasta el consumidor trae consigo consecuencias directas en la calidad final de agua suministrada, por lo que es necesaria una visión integral bajo el marco conceptual de barreras múltiples. Un buen programa de control del desarrollo de biofilms en los sistemas de distribución de agua potable debe incorporar múltiples enfoques (OMS, 2006).

La seguridad del agua se mejora mediante la implementación de barreras múltiples, como la protección de los recursos hídricos, la selección y aplicación correctas de una serie de operaciones de tratamiento, adecuados procesos de desinfección y la gestión de los sistemas de distribución para mantener y proteger la calidad del agua tratada. En este sentido, se resalta la importancia de que la primera barrera contra la contaminación sea la protección a la fuente; luego se debe garantizar que el agua que sale de la planta de tratamiento a partir de criterios rigurosos, cumpla con los niveles permisibles (Obando, 2014).

Minimizar la cantidad de nutrientes y componentes potencialmente formadores de depósitos que entran en el sistema de distribución, ayudará a prevenir la proliferación de biofilms (Levi, 2004).

Una vez que el agua ya se encuentra en el sistema de distribución, aparte del control con sustancias químicas, también debe llevarse a cabo un control periódico mediante lavados hidráulicos, que ayudarán a redistribuir el desinfectante residual a todas las secciones del sistema y a eliminar los biofilms y sedimentos existentes. Si bien el lavado hidráulico no es una solución permanente y es posible que no sea suficiente para controlar un biofilm bien establecido; en algunos casos, el reemplazamiento de la tubería es la opción más sensata (Carvajal y col., 2007) (Mains, 2008).

Un método preventivo del desarrollo de biofilms puede ser evitar, en la medida de lo posible, la existencia de puntos muertos en los sistemas de distribución o aumentar el control sobre ellos, ya que en estos puntos el consumo de desinfectante es muy alto y la presencia de biofilms aumenta. También es recomendable llevar a cabo tratamientos anti-corrosión mediante inhibidores químicos, o ajustes de pH, que pueden ser de ayuda para evitar la formación y acumulación de productos derivados de la corrosión que favorecen el desarrollo de biofilms.

Ante la evidencia que resulta imposible realizar muestreos en toda la red, se genera toda una incertidumbre en muchos tramos del sistema, aunado a que se cuenta con pocas herramientas para emplear protocolos sistemáticos de la recolección de estas muestras.

Un diagnóstico claro de la magnitud de la contaminación biológica en combinación con un diseño operacional apropiado y un plan eficaz de limpieza debería permitir el control eficaz del desarrollo del biofilm (Nguyen y col., 2012).

Es de destacar el hecho que la utilización de diversos métodos de microscopía y espectroscopía ha aumentado; estos son medios para elucidar los factores relacionados con la ocurrencia de formación de biofilm, con el fin de controlar el proceso en la práctica (Nguyen y col., 2012).

Por otro lado si bien los métodos biológicos para el control de la formación de biofilm (la inhibición de la detección del quórum, la interrupción enzimática del EPS, la hidrólisis de la pared celular, el desacoplamiento de energía metabólica, etc.) tienen potencial; sus aplicaciones en agua y tratamiento de aguas residuales a gran escala requieren investigación adicional (Nguyen y col., 2012).

Por lo tanto, es urgente la necesidad de apoyo y estrategias de gestión que minimicen el riesgo de desarrollo de biofilms en el abastecimiento y distribución de agua en los sistemas comunitarios. Surge la necesidad de generar herramientas que

puedan ser sostenibles en el tiempo, que ayuden a minimizar los costos y a un nivel de comprensión que se adapte a los operadores de los sistemas.

La selección de una determinada tecnología de potabilización de agua tiene vínculo con aspectos sociales y económicos además de la estrecha relación con la fuente de abastecimiento y su calidad, por lo que las alternativas de tratamiento consideradas deben poder eliminar o minimizar el riesgo sanitario.

Por último, y no menos importante; resulta menester propiciar la inversión y el apoyo tecnológico y logístico por parte de Instituciones y Organismos asociados a la problemática de distribución de agua de manera que se garantice la sostenibilidad de las instalaciones, la gestión de la operatoria de la distribución de agua segura y sobretodo la salud pública.

D. CONCLUSIONES

Hoy en día, los biofilms representan un paradigma en la gestión de la calidad del agua en todos los sistemas de distribución; y son sin lugar a dudas el mecanismo de supervivencia que han desarrollado los microorganismos para enfrentar las condiciones físicas adversas que predominan en las tuberías de los sistemas de distribución. Esta estrategia de supervivencia que las bacterias y otros microorganismos han aprovechado por millones de años –pero relativamente hace poco conocidas, les ha permitido habitar bajo condiciones ambientales desfavorables, incrementar su resistencia a agentes antimicrobianos y elevar su transferencia horizontal de genes.

Como se ha mencionado, no existen dos situaciones de formación de biofilms similares, ya que el crecimiento y control de los mismos depende de interacciones biológicas, químicas e hidráulicas. Sin lugar a dudas, para adoptar medidas de control es preciso conocer la totalidad de los factores que influyen en su desarrollo. La complejidad de los biofilms significa que la obtención de una buena comprensión de ellos es un paso importante para el desarrollo de mejores estrategias de control.

La presencia y control del biofilm implicarán en el futuro hacer diseños de redes considerando los diámetros, accesorios y radios de curvatura apropiados. La tarea de un buen servicio debe incluir la opción de prever su formación en las zonas críticas y adelantar proactivamente los controles respectivos. Básicamente el tipo de tratamiento del agua en las plantas de potabilización y el diseño de las redes propenderán por la formación de la biopelícula en mayor o menor grado.

El control efectivo de los biofilms requiere un enfoque de avanzada en pos del control microbiano que vaya más allá de la determinación de parámetros individuales, sino que resulte una tecnología de control microbiano integral.

Por todo lo expresado anteriormente, el conocimiento del desarrollo de una biopelícula, y las interacciones que existen dentro de ella, es de suma importancia para el abordaje y tratamiento eficaz de problemáticas que se dan en los sistemas de almacenamiento y distribución de agua potable.

El desarrollo de nuevas investigaciones encaminadas a identificar las interacciones existentes dentro de estas estructuras y los genes implicados en su formación y desarrollo, además del avance de las técnicas para su estudio, nos podrán permitir una mejor comprensión de estos consorcios y seguramente nos podrán indicar una mejor avenida para su control y eventual eliminación de estos biofilms. Por otra parte, un modelo que ayude a determinar tasas de formación de biofilms en tuberías, también, sería de gran interés y ayuda.

E. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed D, Islam MS, Begum YA, Janzon A, Qadri F y Sjoling A. *Presence of enterotoxigenic Escherichia coli in biofilms formed in water containers in poor households coincides with epidemic seasons in Dhaka*. Journal of Applied Microbiology 2012; 114, 1223-1229.
- Barreto AC. *Quorum sensing: sistemas de comunicación bacteriana*. Cienciactual. 2011; 1 (1): 46-55.
- Beech I y Gaylarde CC. *Recent advances in the study of biocorrosion - an overview*. Rev. Microbiol. 1999; Vol.30 (3).
- Besner MC, Gauthier V y Camper A. *Explaining the occurrence of coliforms in distribution systems*. Jour- nal AWWA. 2002. 94(8)
- Betancourth M, Botero JE, Rivera SP. *Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo*. Colombia Médica 2004; Vol. 35 N° 3 (Supl 1)
- Carvajal LF, Gomez A y Ochoa S. *Simulación de un lavado hidráulico en tuberías para el control del crecimiento de biopelícula*. Dyna rev.fac.nac.minas. 2007; Vol. 74(152).
- Choi YC y Morgenroth E. *Monitoring biofilm detachment under dynamic changes in shear stress using laserbased particle size*. Water Science and Technology. 2003; 7(5):69-76.
- Clark RM, Rossman LA y Wymer LJ. *Modeling Distribution System Water Quality: Regulatory Implications*. Journal of Water Resources Planning & Management. 1995; 121(6), 423.
- Cloete TE, Westaard D y van Vuuren SJ. *Dynamic response of biofilm to pipe surface and fluid velocity*. Water Science and Technology. 2003; 47(5):57-59.
- Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. 1978. *How bacteria stick*. Sci. Am. 238:86–95.
- Costerton JW. *Bacterial transport, biofilms and bioremediation*. Center for Biofilm Engineering News. 1993; 1,2, 2-3.
- Colbourne JS, Trew RM, Dennis PJ. *Treatment of water for aquatic bacterial growth studies*. J. Appl. Bacteriol 1988; 65: 79-85.

- Codony F, Miranda AM y Mas J. *Persistence and proliferation of some unicellular algae in drinking water systems as result of their heterotrophic metabolism*. Water SA. 2003; Vol. 29(1).
- Córdoba, MA, Del Coco, VF, Minvielle, MC and Basualdo, JA *Influencing factors in the occurrence of injured coliforms in the drinking water distribution system in the city of La Plata, Argentina*. Journal of Water and Health. Pag.205, 2010
- De Sousa C, Colmenares MC, Correia A. *Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control*. Bol. Mal. Salud Amb 2008; 48: 17-26.
- Díaz C. Adherencia y colonización de *Pseudomonas fluorescens* sobre sustratos sólidos: influencia de la topografía y composición química de la superficie. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. 2011.
- Díaz Caballero AJ, Vivas Reyes R, Puerta L, Ahumado Monterrosa M, Arévalo Tovar L, Cabrales Salgado R y Herrera Herrera A. *Biopelículas como expresión del mecanismo de quorum sensing: Una revisión*. Av Periodon Implantol. 2011; 23, 3: 195-201.
- Dick de Beer D, Srinivansa R y Stewart PS. *Direct Measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection*. Applied Environmental Microbiology. 1994; Vol. 60(3), pp. 4339.
- Donlan RM, Pipes WO, Yohe TL. *Biofilm formation on cast iron substrata in water distribution systems*. Wat. Res 1994; 28, 6: 1497-1503.
- Donlan R. *Biofilm: microbial life on surfaces*. Emerging Infectious Disease. 2002; 8(9).
- Farkas A, Ciataras D y Bocos B. 2012. *Biofilms Impact on Drinking Water Quality, Ecological Water Quality*. Water Treatment and Reuse, Dr. Voudouris (Ed.), ISBN: 978-953-51-0508-4, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/ecological-water-quality-water-treatment-andreuse/biofilms-impact-on-drinking-water-quality>
- Feng L, Wu Z y Yu X. *Quorum sensing in water and wastewater treatment biofilms*. Journal of Environmental Biology, 2013; 34(2 suppl), 437.
- Geldreich, E. (1990). *Microbial quality control in distribution systems*. [ed.] McGraw-Hil. Cuarta. New York : American Water Works Association.
- Gelves MF. *Deterioro de la calidad del agua por el posible desprendimiento de las biopelículas en las redes de distribución de agua potable*. Universidad de los Andes. 2005

- Grünwald A, Št'astný B, Slavičková K y Slaviček M. *Effect of the Distribution System on Drinking Water Quality*. Acta Polytechnica. Journal of Advanced Engineering. 2001; 41(3), 1-5.
- Imran M, Sadiq R y Kleiner Y. *Identifying research needs related to impacts of water quality on the integrity of distribution infrastructure*. National research council Canada, NRCC-48703. 2006.
- Kerr CJ, Osborn KS, Robson GD y Handley PS. *The relationship between pipe material and biofilm formation in a laboratory model system*. Journal of applied microbiology, 1998; 85(S1).
- Knobelsdorf J y Mujeriego R. *Crecimiento Bacteriano en las Redes de Distribución de Agua Potable: Una Revisión Bibliográfica*. Ingeniería del Agua. 1997; 4:17-28. [on line]
- Kowalska, B., Kowalski, D. & Musz, A. *Chlorine decay in water distribution systems*. Environment Protection Engineering, vol. 32 (2), 2006.
- Lascowski KM, Guth BE, Martins FH, Rocha SP, Irino K, Pelayo JS. *Shiga toxin-producing Escherichia coli in drinking water supplies of north Paraná State, Brazil*. J Appl Microbiol. 2013;114 (4):1230-9.
- Latorre Sánchez RM, Saldarriaga JG. *Efecto hidráulico de las biopelículas en tuberías de distribución agua potable*. Universidad de los Andes. Bogotá. Colombia. 2005.
- Le Chevallier M, Cawthorn C, Lee R. *Inactivation of biofilm bacteria*. Appl. Environ. Microbiol. 1988; 54: 2492-2499. [on line]
- Levi Y. *Safe Piped Water: Managing Microbial Water Quality in Piped Distribution Systems. Minimizing potential for changes in microbial quality of treated water*. Edited by Richard Ainsworth. ISBN: 1 84339 039 6. Published by IWA Publishing, London, UK. 2004.
- Lopes FA, Morin P, Oliveira R y Melo LF. *Impact of biofilms in simulated drinking water and urban heat supply systems*. International Journal of Environmental Engineering, 2009; Vol. 1(3).
- Lu K y Levi Y. *Chlorine demand of biofilms in water distribution systems*. Water Res. 1999; 33 (3) 827-835.
- Mains, C. *Biofilm control in distribution systems*. Biofilm Control in Distribution Systems, Vol. 8(2), 2008.

- Momba MNB. *The Impact of Disinfection Processes on Biofilm Formation in Potable Water Distribution Systems*. Ph. D Thesis, Univ. of Pretoria, South Africa. 1997
- Momba MNB, Kfir R, Venter S N y Cloete TE. *Overview of biofilm formation in distribution systems and its impact on the deterioration of water quality*. Water SA, 2000; 26 (1): 59-66
- Muñoz LF. *Velocidad de desprendimiento de las biopelículas en tuberías de distribución de agua potable*. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 2005
- Muro AL, Castillo FYR, González FJA, y Barrera ALG. *Biopelículas multi-especie: asociarse para sobrevivir*. Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 2012; (54): 49-56.
- Nguyen T, Roddick, FA, y Fan L. *Biofouling of water treatment membranes: a review of the underlying causes, monitoring techniques and control measures*. Membranes, 2012; 2(4), 804-840.
- Nieto L y Saldarriaga JG. *Eventos de coloración del agua potable como consecuencia del desprendimiento de biopelículas: el caso de Bogotá D.C.* Universidad de los Andes. 2009.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). *Guías para la calidad del agua potable [recurso electrónico]: incluye el primer apéndice*. Vol. 1: Recomendaciones. Tercera edición. [Versión electrónica para la web]. Ginebra, Suiza. 2006.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). *Legionella and the prevention of legionellosis*. Ginebra, Suiza, ISBN 92 4 1562. 2007
- Obando AA. *Riesgo microbiológico en sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano*. Revista Ingeniería en Construcción 1.1. 2014; 12-17.
- Poulton W y Mixon M. *Investigation into the Degradation of Mortar Linings and Concrete by Microorganisms in Industrial Water Systems*. Water Research Commission. 1992. Report N°398/1/93. SA
- Ramírez, F. *Desinfección del agua con cloro y cloraminas*. Técnica Industrial, Vol. 260. Diciembre, 2005.
- Ramos Martínez E. *Evaluación del desarrollo de biofilms en los sistemas de distribución de agua potable mediante la extracción de conocimiento a través de los datos (Knowledge Discovery in Databases)*. 2012.

- Reynolds KA. *Nueva información sobre Cryptosporidium en el agua y el papel de las biopelículas*. Water Conditioning & Purification 2011; 53: 46-48. [on line]
- Rodríguez R. *Ecología microbiana de alimentos*. Clases en la CESA, Carrera de Especialización en Seguridad Alimentaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Cohorte 2012.
- Rodríguez Jerez JJ. *Experiencias y soluciones en la detección y eliminación de biofilms en la industria alimentaria*. Universidad Autónoma de Barcelona; Research Group AMicS (Microbiological Analysis of Surfaces and Biofilms), Animal and Food Science. Magiar Group e iTram. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2016.
- Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. *Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of Legionella pneumophila in potable water systems*. Appl. Environ. Microbiol 1994; 60, 6, 1842-1851 [on line]
- Schoenen, D. *Influence of materials on the microbiological colonization of drinking water*. Aqua 1989; 38: 101-113. [on line]
- Soini SM, Koskinen KT, Vilenius MJ y Puhakka JA. *Effects of fluid – flow velocity and water quality on planktonic and sessile microbial growth in water hydraulic system*. Water Research. 2002; 36: 3812-3820.
- Srey S, Jahid IK y Ha SD. *Biofilm formation in food industries: A food safety concern*. Food Control. 2013; 31, 572-585
- Steirnet M, Birkness K, White E, Fields B y Quinn F. *Mycobacterium avium Bacilli Grow Saprozoically in Coculture with Acanthamoeba polyphaga and Survive within Cyst Walls*. App. And Environ. Microb. 1998. Vol 63(6), 2256-2261.
- Szewzyk U, Szewzyk R, Manz W y Schleifer KH. *Microbiological safety of drinking water*. Ann. Rev. Microbiol. 2000; Vol. 54, 81-127.
- Taylor RH. *Disinfectant Susceptibility of Mycobacterium avium*. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia. 1998
- Tejera I, Jácome A, Lorda I y Santamaría C. *Procesos biopelícula de depuración de aguas residuales: procesos convencionales*. Medio Ambiente, RETEMA. 1995; 45, 68-84.