



# Evaluación del crecimiento de bacterias en biopelículas de tuberías de agua potable

## Assessment of Bacterial Growth in Biofilms of Drinking Water Pipes

 Yony Rodriguez Minaya<sup>1\*</sup>

 Yelisca Lopez Molina<sup>1</sup>

 Ibeth Mejia Menacho<sup>1</sup>

 Yerson Chavez Cochachin<sup>1\*</sup>

 Yenica Narcizo Reyes<sup>1</sup>

 Cesar Reaño Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Huaraz, Perú.

Recibido: 01 Feb, 2024 | Aceptado: 10 May, 2024 | 20 Jul.2024

Autor: de correspondencia\*: yrodriguez@unasam.edu.pe

**Como citar este artículo:** Rodríguez Minaya, Y., Lopez Molina, Y., Mejia Menacho, I., Chavez Cochachin, Y., Narcizo Reyes, Y., & Reaño Romero, C.

(2024). Evaluación del crecimiento de bacterias en biopelículas de tuberías de agua potable. *Aporte Santiaguino*, 17(1). <https://doi.org/10.32911/as.2024.v17.n1.1126>

n1.1126

## RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el tiempo de crecimiento de bacterias en las biopelículas de tuberías de agua potable mediante la simulación de las redes de distribución a nivel escala, muestra, cultivo y recuento de bacterias en placas durante 28 días para diferentes materiales. Los resultados evidencian la dinámica de formación de biopelículas y crecimiento bacteriano. Después de la puesta en marcha del simulador de redes de distribución, se observó la formación de la biopelícula y el crecimiento de las bacterias en la superficie de las paredes internas de las tuberías. Los valores cuantitativos obtenidos dependieron del tiempo y las condiciones de funcionamiento del simulador. Después de recopilar y validar los datos en el laboratorio, se concluyó que el crecimiento de las bacterias en las biopelículas se produce en un tiempo de cinco días de operación del simulador, mostrando cambios a lo largo del tiempo. Además, se evidencia la presencia de bacterias aerobias como *Escherichia Coli* y *Staphylococcus Aureus*.

**Palabras Clave:** Biopelícula; Bacterias; Agua potable; Simulador.

## ABSTRACT

The aim of this study is to assess the bacterial growth time within biofilms in drinking water pipes. By simulating distribution networks at a scale level, bacteria were sampled, cultured, and quantified on plates over a 28-day period using various materials. The results underscore the dynamics of biofilm formation and bacterial growth. Following the initiation of the distribution network simulator, the formation of the biofilm and bacterial growth on the inner surfaces of the pipes was observed. Quantitative values were contingent upon the time and operational conditions of the simulator. After collecting and validating the data in the laboratory, it was concluded that bacterial growth within biofilms occurs within a 5-day operational period of the simulator, revealing temporal changes. Furthermore, the presence of aerobic bacteria such as *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*.

**Keywords:** Biofilm; Bacterium; Drinking water; Simulator.



## INTRODUCCIÓN

El agua es la esencia de la vida y la calidad es un factor crítico que afecta a la salud, pues constituye un problema latente debido a variables biológicas, físicas y químicas (Birhan et al., 2023). Las biopelículas, están compuestas heterogéneamente con material orgánico e inorgánico que crecen en superficies que estén en contacto con el agua. Albergando en su interior comunidades bacterianas, los cuales pueden causar problemas operativos en las redes de distribución de agua potable y también disminuir la calidad del agua. (Beyenal y Lewandowski, 2002; Simunič et al., 2020).

La formación, comportamiento y comunidad microbiana de las biopelículas están relacionadas con las propiedades biológicas y factores hidráulicos de las redes de agua potable. La temperatura, junto con los nutrientes, es indispensable para la formación y desarrollo de las biopelículas. Los microorganismos oligotróficos son capaces de adaptarse y desarrollarse en bajas concentraciones de nutrientes, convirtiéndolos en los principales habitantes de las tuberías. Además, es importante mencionar que las biopelículas que albergan diversas comunidades bacterianas presentan mayor estabilidad funcional frente a las diferentes condiciones ambientales (Cowle et al., 2020; Donoso, 2009; Liu et al., 2020).

La formación de biopelículas conlleva la adhesión de microorganismos con diferentes características. En la mayoría de las muestras se ha identificado la presencia de *Legionella spp.*, el protozoo *V. vermiformis*, hongos, *Mycobacterium spp.* y *Pseudomonas spp.*, generando variabilidad en la presencia de estos microorganismos en función del tipo de material utilizado para el muestreo (Learbuch et al., 2021). Las biopelículas contribuyen a la ineficiencia de los sistemas de agua potable al proporcionar microhábitats protectores para la proliferación de microorganismos patógenos. Entre las bacterias patógenas más frecuentes se encuentran *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, *Escherichia Coli* y *Legionella* (Moreno et al., 2019).

La problemática de las biopelículas en las redes de distribución ha sido objeto de numerosos estudios y continúa siendo tema de discusión en la actualidad. En una investigación reciente, Goraj et al. (2021) evaluaron diferentes materiales de tuberías para determinar la presencia de microorganismos en cada tipo. Concluyen que el material tiene una influencia en la comunidad bacteriana bajo condiciones de funcionamiento similares. Además, Barrera (2014) evidenció que el material juega un papel positivo en el desarrollo de los microorganismos de las biopelículas.

Trinh et al. (2020) analizaron la formación de biopelículas en los diferentes materiales en presencia de desinfectante. Concluyeron que la formación de las biopelículas no era diferente en los materiales debido a la presencia del desinfectante. Por otro lado, Learbuch et al. (2021) investigaron la influencia de diferentes tipos de materiales en el desarrollo de las biopelículas. Concluyeron que el material de las tuberías afecta la concentración de la biomasa, abundancia de microorganismos y la composición de la comunidad bacteriana, siendo similar en los distintos materiales con el tiempo.

En relación a la velocidad de flujo, Liu et al. (2020) estudiaron su influencia en el desarrollo de microorganismos en las biopelículas. Concluyeron que la velocidad media determina la formación de las biopelículas y genera medios de protección de los microorganismos como la liberación de sustancias poliméricas extracelulares (EPS).

La hidrodinámica y los tipos de materiales en la formación de las biopelículas fue abordado por Cowle et al. (2020), quienes determinaron que la rugosidad de los materiales y el tipo de flujo son determinantes en la formación de biopelículas. Observaron mayor abundancia de microorganismos en flujos bajos y dependencia de la rugosidad en flujos altos.

Simunič et al. (2020) se enfocaron en las zonas sin movimiento de las tuberías conocidas como zonas muertas bajo diferentes regímenes de flujo. Determinaron que la eliminación y formación de biopelículas pueden controlarse mediante la manipulación de los regímenes de flujo, aunque esta medida no garantiza la eliminación completa de las biopelículas. Por ello, sugieren la implementación de acciones adicionales.

Las biopelículas, al albergar diversos microorganismos, en su mayoría patógenos, presentan un riesgo para la salud al liberar estos patógenos en el agua que fluye a través de las redes de distribución. Los microorganismos liberados pueden llegar a los grifos de consumo y generar problemas de salud y aumentar los costos asociados al tratamiento y mejora de la calidad del agua.

Mejorar la gestión de calidad en las redes de distribución de agua potable requiere comprender la dinámica de formación y desarrollo de las biopelículas en estos ambientes. El estudio de los microorganismos presentes en estas biopelículas presenta un desafío debido a la dificultad de acceso a los ambientes donde se desarrollan. Las tuberías, al ser sistemas cerrados y ubicarse en el subsuelo, requieren enfoques y métodos de estudio adecuados para asegurar la calidad del agua que consumen las personas de acuerdo con las normativas vigentes.

La revisión bibliográfica indica que la formación y desarrollo de las biopelículas, así como la presencia de microorganismos en ellas, depende de varios factores como las condiciones ambientales, la calidad del agua potable, las condiciones hidráulicas, condiciones de desinfección, entre otros aspectos. No existe una teoría o modelo matemático único que explique el dinamismo de esta compleja estructura biológica, y actualmente sigue siendo tema de discusión y estudio.

En Perú, específicamente en la región Áncash, y en la localidad de Tuyu Ruri, hay escasez de estudios sobre las biopelículas en las redes de distribución de agua potable, lo cual es de suma importancia para gestión de la calidad del agua. Las características climatológicas y la calidad de agua de esta localidad ofrecen una oportunidad para explorar el complejo dinamismo de formación y desarrollo de las biopelículas en las redes de agua potable.

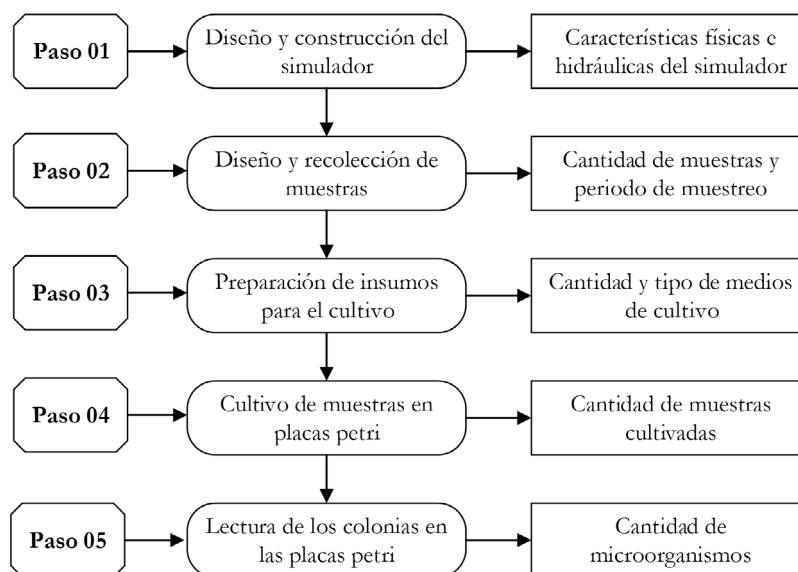
Con base en la revisión bibliográfica y la necesidad de investigar en esta localidad, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el tiempo de crecimiento de bacterias en las biopelículas de tuberías de agua potable. Se llevó a cabo en un simulador de redes de distribución de agua potable y se consideró condiciones ambientales locales, características de calidad del agua potable, cambios hidráulicos de funcionamiento y condiciones de desinfección del sistema.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación tuvo un enfoque descriptivo y no experimental, de naturaleza longitudinal, con una duración de 28 días para la evaluación continua del crecimiento y desarrollo de las bacterias en las biopelículas. El estudio se realizó en el centro experimental Tuyu Ruri, donde se implementó un simulador diseñado localmente para replicar condiciones similares a un sistema real. Los procedimientos se describen en la Figura 1.

**Figura 1**

*Procedimientos para evaluar el crecimiento de las bacterias en las biopelículas*



### a. Diseño y construcción del simulador

El simulador de redes de distribución de agua potable ubicado en el centro experimental Tuyu Ruri consta de tres series de tuberías HDPE de 1,5 pulgadas de diámetro y 50 metros de longitud por cada serie. Cuenta con un tanque elevado de 1100 litros de volumen y un punto de descarga que conecta las tres series. El caudal de funcionamiento del simulador fue de 1,15 L/s, distribuido equitativamente entre las tres series para una velocidad promedio de 1 m/s. La presión del sistema dependió de la altura de ubicación del tanque elevado, que estuvo a 3 m del nivel del suelo. El control óptimo del funcionamiento del simulador se realizó a través de válvulas al ingreso y salida.

Para evaluar el crecimiento de las biopelículas, se sometió al simulador a dos tipos de estrés: i) Cambio hidráulico con la variación de velocidad de 0,90 a 1,30 m/s y ii) Desinfección del sistema mediante hipoclorito de calcio en un rango de concentración de 0,50 a 1,50 mg/L de cloro residual. El agua utilizada para el simulador fue de la localidad de Tuyu Ruri y se realizaron cuatro muestreos.

### b. Diseño y recolección de muestras

Se implementó seis puntos de muestreo distribuidos de la siguiente manera: i) Dos puntos de muestreo en la primera serie, uno para tubería de PVC y otro para tubería HDPE; ii) Dos puntos de muestreo en la segunda serie, uno para tubería PVC y otro para tubería HDPE; iii) Dos puntos para la tercera serie, ambos para tubería PVC.

Las muestras fueron recolectadas del simulador mediante una cuchara de muestreo y una botella de vidrio previamente esterilizado. Para prevenir la contaminación se utilizó guantes al momento de la toma de la muestra. La recolección de la muestra de las biopelículas se realizó en los puntos de muestreo que contenían las tuberías. Se procedió con el desajuste de las uniones para poder retirar el pedazo de tubería que contenía las biopelículas. De la misma tubería retirada se procedió a llenar unos 20 mL de agua y mediante el uso de una cuchara se realizó el raspado interno de la tubería de forma ascendente. Posteriormente, se retiró la muestra y llevó al envase de vidrio esterilizado, conjuntamente con el volumen de agua extraída. Este procedimiento se realizó a los 5, 17, 24 y 28 días de funcionamiento del simulador.

### c. Preparación de insumos para el cultivo

La preparación de los insumos para los cultivos involucró seis pasos: i) Llevar a la autoclave el Agar nutritivo y Agar Mac Conkey para 11 placas petri de cada medio de cultivo; ii) Añadir los medios de cultivo a los 11 placas petri y dejar enfriar a temperatura ambiente; iii) Preparar 10 botellas de vidrio con 90 mL de agua destilada y llevar al autoclave hasta que las botellas lleguen tener una presión de 120 psi; iv) Retirar las botellas de vidrio de la autoclave y enfriar a temperatura ambiente; v) Rotular las botellas desde la dilución  $10^{-1}$  hasta  $10^{-10}$  y vi) Diluir la muestra desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-10}$  mediante volumen de 10 mL de una dilución a otra.

### d. Cultivo de muestras en las placas petri

El cultivo en las placas petri se realizó con una espátula de Drivalsky y consistió en 4 pasos que se describen a continuación: i) Se realizó el rotulado de las placas de la muestra madre y las diluciones de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-10}$ ; ii) Se encendió el mechero, ya que todo sembrado se realiza cerca del mechero para evitar contaminación externa; iii) Se extrajo un 1mL de muestra de cada botella con las diluciones de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-10}$  y la muestra madre. Inmediatamente, se esparció la muestra a toda la superficie de la placa petri con la ayuda de una espátula de Drivalsky y finalmente se dejó reposar unos minutos para que el agar absorba la muestra; y iv) Una vez obtenidas las placas sembradas, se envolvió las placas y se las llevó a la incubadora a  $37^{\circ}\text{C}$ , por lo menos tres días.

### e. Lectura de las colonias en las placas petri

La lectura de las colonias en las placas Petri se realizó en tres pasos: i) Retiro de las placas Petri de la incubadora y conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC); ii) Marcar la cantidad de unidades formadoras de colonia (UFC) en las placas de la muestra; iii) Anotar los datos de la lectura.

## Resultados

En la investigación, se evaluó el crecimiento de bacterias en dos tipos de materiales (PVC y HDPE) para 5, 17, 24 y 28 días de desarrollo de biopelículas. Los resultados de esta evaluación se presentan en la Tabla 1 y Figura 2.

**Tabla 1**

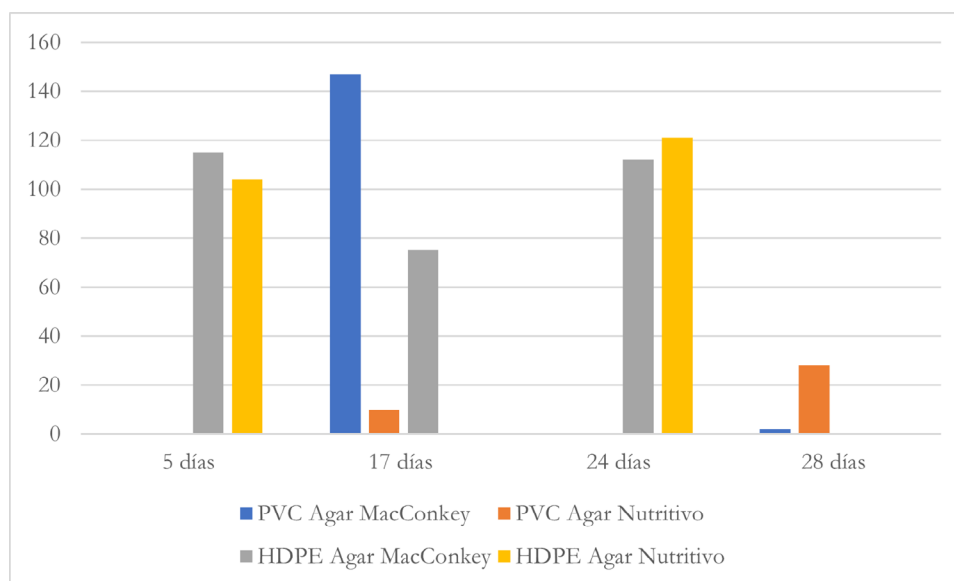
*Formación de biopelículas y crecimiento de bacterias en diferentes materiales*

Tiempo de crecimiento	Material PVC		Material HDPE	
	Agar MacConkey (UFC/mL)	Agar Nutritivo (UFC/mL)	Agar MacConkey (UFC/mL)	Agar Nutritivo (UFC/mL)
5 días	-	-	$1,15 \times 10^2$	$1,04 \times 10^2$
17 días	$1,47 \times 10^2$	10	$7,5 \times 10^1$	-
24 días	-	-	$1,12 \times 10^4$	$1,21 \times 10^2$
28 días	2	28	-	-

*Nota: (-) No generó crecimiento de las colonias*

## Figura 2

### Formación de biopelículas y crecimiento de bacterias en diferentes materiales



En los primeros cinco días, se observó la formación de las biopelículas y el crecimiento de las bacterias en la tubería HDPE, donde el agar MacConkey mostró mayor crecimiento bacteriano en comparación con el agar Nutritivo. A los 17 días, el simulador fue sometido a pruebas hidráulicas que afectaron el crecimiento de las bacterias en la tubería HDPE, resultando en una ligera disminución. En la tubería PVC, se observó un ligero crecimiento de las bacterias, a diferencia de los primeros 5 días que estuvo sin crecimiento.

A los 24 días, se evidenció el crecimiento de las bacterias en la biopelícula de la tubería HDPE, mientras que en la tubería PVC no se observó crecimiento, atribuido a las pruebas hidráulicas que impactaron negativamente en la tubería PVC.

A los 28 días, se realizaron las pruebas de desinfección del simulador. Se eliminaron las bacterias en la biopelícula de la tubería HDPE. Se evidenció que no existe crecimiento en los medios de cultivo. En la tubería PVC, se detectó una mínima cantidad de bacterias que sobrevivieron a la desinfección, considerándose resistentes al estrés extremo.

En el medio de cultivo agar MacConkey, se observó el crecimiento de enterobacterias del género *Escherichia Coli*, identificadas por su coloración rosa. En el agar Nutritivo, se evidencian las bacterias aerobias del género *Staphylococcus Aureus* de coloración amarilla.

## DISCUSIÓN

Los resultados de la investigación indican que la formación de las biopelículas y el crecimiento de las bacterias en ella varían entre los diferentes materiales, manifestando una formación temprana en las tuberías HDPE y de manera más tardía en las de PVC. Estos resultados están respaldados por investigaciones previas como las de Goraj et al. (2021) y Barrera (2014), quienes concluyeron que los materiales juegan un papel positivo en el desarrollo de microorganismos en las biopelículas, así como en la comunidad bacteriana. Además, estudios de Trinh et al. (2020) y Learbuch et al. (2021) respaldan la influencia del material en la formación y desarrollo de las biopelículas, así como en la biomasa, abundancia y composición de las bacterias. Estos estudios recientes respaldan los resultados de la investigación, pues concluyen que el material utilizado para la conducción del agua influye en la formación de las biopelículas y las características específicas de las bacterias en ellas, aspectos importantes para la gestión óptima de las redes de distribución de agua potable.

Las pruebas hidráulicas aplicadas como medida de limpieza someten a las biopelículas a estrés, evidenciado por la disminución en la cantidad de UFC en el material HDPE y la aparición de bacterias en las tuberías de PVC y posterior eliminación. Estos resultados encuentran respaldo en la investigación de Liu et al. (2020) que determinaron que la velocidad media de 1m/s influye en la formación de las biopelículas, y velocidades más altas generan medios de protección como la liberación de las sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Las pruebas hidráulicas realizadas en la investigación a velocidades de 0,90 a 1,30 m/s alteraron la formación y desarrollo de las biopelículas.

Cowle et al. (2020) determinaron que la hidrodinámica, combinada con el tipo de material, afecta la dinámica de las biopelículas, con mayor abundancia a flujos bajos y dependiendo de la rugosidad en flujos altos. Simunič et al. (2020) determinaron que, en zonas sin movimiento (zonas muertas), las biopelículas pueden controlarse manipulando los regímenes de flujo. Pero esta medida tiene limitaciones, surgiendo la implementación de acciones adicionales para la gestión óptima. Los resultados de la investigación, respaldados por otros estudios, determinan que las características hidráulicas de las redes de distribución influyen en la formación y desarrollo de las biopelículas, así como la cantidad de bacterias presentes en ellas.

Otro aspecto importante abordado en la investigación es la desinfección del sistema. Cuando se sometió a desinfección, las bacterias de la tubería HDPE fueron eliminados por completo, y los del material PVC se redujeron al mínimo, sugiriendo la resistencia de estos últimos a la desinfección. Trinh et al. (2020) indican que cloro residual interviene en el crecimiento de biopelículas, provocando una descompensación del cloro debido al crecimiento. Además, Potgieter et al. (2018) encontraron cambios en las comunidades bacterianas después de la desinfección, y la temperatura ejerce influencia a largo plazo. X. Zhang et al. (2022) informaron que los materiales y la cloración impactan en la estructura de las biopelículas y la comunidad microbiana, donde el material es el factor impulsor en la composición de las biopelículas en comparación de la cloración. Zhu et al. (2020) señalan que la resistencia al cloro de las biopelículas está relacionada con el estado fisiológico de las células bacterianas, así como la capacidad de formación de esporas y la segregación de las sustancias poliméricas extracelulares como medios de protección. Zhang et al. (2019) indican que dosis mayores a 2 mg/L suprimen bacterias resistentes a antibióticos, inhibiendo su crecimiento en las biopelículas, aunque existe transferencia de genes resistentes en la comunidad. Li et al. (2021) determinaron que la desinfección con cloro influye en el riesgo de desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos en las redes de agua potable.

Todos los estudios indican que la dosis del desinfectante influye en la eliminación de las biopelículas, pero es importante considerar la formación de subproductos del desinfectante a altas concentraciones, como indica Duan et al. (2020), quienes encontraron que los trihalometanos y ácidos haloacéticos aumentan con la dosis del desinfectante. Se debe tener especial cuidado en la formación de los subproductos del desinfectante ya que pueden llegar a afectar la salud de las personas.

## CONCLUSIONES

El tiempo de crecimiento de las bacterias en las biopelículas de tuberías de agua potable, se evidenció desde los primeros cinco días de funcionamiento del simulador. Asimismo, su presencia se manifestó en diferentes medios de cultivo como agar Mac Conkey y el agar Nutritivo, afirmando que el acondicionamiento de las paredes de la tubería se desarrolló durante los primeros cinco días y los otros cinco días se inició con la adhesión de las bacterias a las paredes. Esto ocurrió como consecuencia de la liberación de nutrientes por parte del tipo de material. Además, a pesar de haber realizado tanto las pruebas hidráulicas y la desinfección dentro del simulador se evidenció presencia de bacterias en las biopelículas.

## REFERENCIAS

- Barrera, J. (2014). *Determinación experimental del crecimiento de biopelículas, en condiciones de baja velocidad en tuberías de distribución de agua potable* [Universidad de los Andes]. <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/17128/u703546.pdf?sequence=1>
- Beyenal, H. y Lewandowski, Z. (2002). *Internal and External Mass Transfer in Biofilms Grown at Various Flow Velocities*. 55–61. <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1021/bp010129s>
- Birhan, T. A.; Bitew, B. D.; Dagne, H.; Amare, D. E.; Azanaw, J.; Andualem, Z.; Dessie, A.; Guyasa, G.; Getaneh, A.; Addisu, A.; Genet, M.; Engdaw, G. T.; Tesfaye, A. H.; Asmare, T. K. y Yimer, T. F. (2023). Household drinking water quality and its predictors in flood-prone settings of Northwest Ethiopia: A cross-sectional community-based study. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15072>
- Cowle, M. W.; Webster, G.; Babatunde, A. O.; Bockelmann-Evans, B. N. y Weightman, A. J. (2020). Impact of flow hydrodynamics and pipe material properties on biofilm development within drinking water systems. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 41(28), 3732–3744. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1619844>
- Donoso, A. (2009). *Efecto de los materiales de las tuberías en la generación de biopelículas en redes de distribución de agua potable* [Universidad de los Andes]. <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/11077/u371953.pdf?sequence=1>
- Duan, X.; Liao, X.; Chen, J.; Xie, S.; Qi, H.; Li, F. y Yuan, B. (2020). THMs, HAAs and NAs production from culturable microorganisms in pipeline network by ozonation, chlorination, chloramination and joint disinfection strategies. *Science of the Total Environment*, 744, 140833. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140833>
- Goraj, W.; Pytlak, A.; Kowalska, B.; Kowalski, D.; Grządziel, J.; Szafranek-Nakonieczna, A.; Gałazka, A.; Stępniewska, Z. y Stępniewski, W. (2021). Influence of pipe material on biofilm microbial communities found in drinking water supply system. *Environmental Research*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110433>
- Learbuch, K. L. G.; Smidt, H. y van der Wielen, P. W. J. J. (2021). Influence of pipe materials on the microbial community in unchlorinated drinking water and biofilm. *Water Research*, 194. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116922>
- Li, J.; Zhang, S.; Guo, L.; Chen, L. y Yu, Z. (2021). Chlorination contributes to multi-antibiotic resistance in a pilot-scale water distribution system. *Water Supply*, 21(8), 4369–4381. <https://doi.org/10.2166/ws.2021.185>
- Liu, Y.; Shan, R.; Chen, G. y Liu, L. (2020). Linking flow velocity-regulated EPS production with early-stage biofilm formation in drinking water distribution systems. *Water Science and Technology: Water Supply*, 20(4), 1253–1263. <https://doi.org/10.2166/ws.2020.039>



- Moreno, Y.; Moreno-Mesonero, L.; Ponce, A. S. y Cervera, J. M. (2019). Estudio de las poblaciones bacterianas en biofilms de sistemas de distribución de agua potable mediante metagenómica. *TecnoAqua*. [www.tecnoaqua.es](http://www.tecnoaqua.es)
- Potgieter, S.; Pinto, A.; Sigudu, M.; du Preez, H.; Ncube, E. y Venter, S. (2018). Long-term spatial and temporal microbial community dynamics in a large-scale drinking water distribution system with multiple disinfectant regimes. *Water Research*, 139, 406–419. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.077>
- Simunič, U.; Pipp, P.; Dular, M. y Stopar, D. (2020). The limitations of hydrodynamic removal of biofilms from the dead-ends in a model drinking water distribution system. *Water Research*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115838>
- Trinh, Q. T.; Bal Krishna, K. C.; Salih, A.; Listowski, A. y Sathasivan, A. (2020). Biofilm growth on PVC and HDPE pipes impacts chlorine stability in the recycled water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(6). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104476>
- Zhang, J.; Li, W.; Chen, J.; Wang, F.; Qi, W. y Li, Y. (2019). Impact of disinfectant on bacterial antibiotic resistance transfer between biofilm and tap water in a simulated distribution network. *Environmental Pollution*, 246, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.077>
- Zhang, X.; Lin, T.; Jiang, F.; Zhang, X.; Wang, S. y Zhang, S. (2022). Impact of pipe material and chlorination on the biofilm structure and microbial communities. *Chemosphere*, 289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133218>
- Zhu, Z.; Shan, L.; Hu, F.; Li, Z.; Zhong, D.; Yuan, Y. y Zhang, J. (2020). Biofilm formation potential and chlorine resistance of typical bacteria isolated from drinking water distribution systems. *RSC Advances*, 10(52), 31295–31304. <https://doi.org/10.1039/d0ra04985a>

