

Efectividad de cinco desinfectantes de uso casero en el control del crecimiento de *Escherichia coli* observado en superficies de madera y plástico.

Effectiveness of five home-use disinfectants in controlling the growth of *Escherichia coli* observed on wooden and plastic surfaces.

¹José Him Fábrega; ²Eliécer Medina y ³Abad Aizprúa.

1. Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Veraguas. Escuela de Biología. Panamá. <https://orcid.org/0000-0002-7872-4098> jose.him@up.ac.pa
2. Ministerio de Educación de Panamá. Panamá. <https://orcid.org/0000-0002-9445-3312> emedinap24@gmail.com
3. Ministerio de Educación de Panamá. Panamá. <https://orcid.org/0000-0002-0599-0563> aizprua7080@hotmail.com

Recibido: 6/4/ 2022 Aceptado: 3/7/2022 -- Págs. 20-29

ARTÍCULO EN EXTENSO

Resumen

Cinco desinfectantes de uso casero fueron puestos a prueba sobre superficies de madera y plástico. Estos desinfectantes estaban constituidos de diferentes agentes activos. El primero contenía formaldehído, detergente aniónico sintético y alcohol láurico etoxilado; el segundo basado en hipoclorito de sodio; el tercero basado en formaldehído, el cuarto basado en cloruro de benzalconio (zephiran); y el quinto basado en sales de amonio cuaternario. Cada desinfectante fue probado en tablas para cortar alimentos hechas de plástico y madera, las cuales fueron obtenidas en el comercio local. Sobre la superficie de las tablas se esparció un cultivo de *Escherichia coli* diluido en agua peptonada a una concentración aproximada de 10^3 ^{bact}/mL según un estándar de McFarlan. Inmediatamente se tomó una muestra con una placa de PetriFilm para *E. Coli*; luego se aplicó un desinfectante diluido en agua normal según la concentración especificada por el fabricante. Los muestreos de bacterias se repitieron a los cinco y veinte minutos después de la aplicación del desinfectante. Cada muestra fue incubada a 37°C por 24 horas. Después de la incubación se hicieron los recuentos de cada muestra. Los resultados mostraron que los desinfectantes tienen diferencias significativas a los 5 minutos, sin embargo, a los 20 minutos casi todos tienden a igualar su efectividad, situándose alrededor del 100%. Se pudo determinar que el desinfectante a base de hipoclorito de sodio es el más efectivo; entretanto, el desinfectante basado en sales de amonio cuaternario es el menos efectivo de todos. Al hacer un análisis de los resultados

en las superficies de madera y plástico, no se observó diferencias significativas entre ambas.

Palabras Clave: capacidad desinfectante; antibacterial; superficies.

Abstract

Five disinfectants for home uses were tested over wood and plastic surfaces. These disinfectants were made with several active agents. The first had formaldehyde, anionic detergent and etoxilade lauric alcohol; the second one was made of sodium hipocloride; the third one made of just formaldehyde; the fourth made of benzalconio chloride (zephiran); and the fifth was made of quaternary ammonium. Each disinfectant was tested in cut tables made of wood and plastic, which were bought in the commerce. Over the surface of these tables it was spread a diluted (peptone water 1%) culture of *Escherichia coli*, approximately 10^3 bact/mL follow a McFarlan standard. Immediately, a sample was taken from the surfaces with a Petrifilm plate system for *E. Coli*; after that, one of the disinfectants was applied following the concentration indicated for the manufactures. The samples were repeated after 5 and 20 minutes of the disinfectant application. After incubation at 37 °C for 24 hours, the number of colonies was registered. The results shown that the disinfectants had significant differences at 5 minutes; however, after 20 minutes, almost all of them had the same efficiency (approximately 100 %). The disinfectant with sodium hipocloride was the most efficient; while, the disinfectant made of quaternary ammonium was the less efficient. An analysis of the results between wood and plastics surfaces did not show significant differences.

Keywords: disinfectant capacity; antibacterial: surfaces

Introducción

Generalmente los distintos desinfectantes son utilizados de igual forma sin importar de que tipo sean y que sustancias lo componen. En el aseo doméstico, hospitales e industrias son utilizados por personal poco capacitado que carecen del conocimiento de la mecánica de acción de los desinfectantes y de los factores que influyen sobre ellos. Estos factores incluyen la concentración el tiempo de acción, la temperatura, el pH, la

coexistencia con otros compuestos químicos, naturaleza y porosidad de la superficie, presencia de suciedad y materia orgánica, entre otros (ICMSF, 1980).

Un desinfectante es un producto químico que se utiliza para eliminar la mayoría de los microbios patógenos, aunque no todos, sobre todo sus esporas. Según la FDA de Estados Unidos, los desinfectantes son aquellas sustancias químicas capaces de destruir en 10 a 15 minutos los gérmenes depositados sobre un material inerte, alterando lo menos posible el sustrato donde residen. Estos gérmenes incluyen a las formas vegetativas de las bacterias, hongos y virus; y excluyen a los virus de la hepatitis, VIH y a las esporas de bacterias y hongos (FDA, 2001).

Estos químicos tienen dos tipos de efectos sobre las bacterias: bacteriostáticos o bactericidas (Iáñez, 1998). Gran número de químicos, en concentraciones apropiadas, son capaces de matar o inhibir a los microorganismos y la concentración y el tiempo de exposición del compuesto que se utiliza son factores importantes en la efectividad del mismo. (Banwart, 1981; Brock y Madigan, 1998; Jawetz et al., 1990, Tebbut, 1990; Rios Castillo, 2013).

De acuerdo con su naturaleza química, los desinfectantes químicos que más se usan, se basan en cloro, yodóforos, compuestos de amonio cuaternario, agentes anfóteros tensoactivos, ácidos y álcalis fuertes, fenol, aldehídos, alcoholes y peróxidos (Frazier y Wethoff, 1985).

Por todo esto es necesario tener a mano formas de evaluar la efectividad de estos productos. De manera estándar, los desinfectantes son evaluados para determinar su eficiencia por varios métodos; uno de ellos es el coeficiente de fenol, en donde se somete una cepa de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomona aeruginosa* o *Salmonella thyphimurium*, a la acción del desinfectante y se compara la acción con la que ejerce el fenol. Esta prueba es muy utilizada en Estados Unidos (Pelczar et. al. 1996). Existen otros métodos estándares, pero casi todos son pruebas *in vitro*.

En este estudio se hizo una evaluación práctica de los desinfectantes que son utilizados en el comercio nacional. Esta evaluación se hizo con la bacteria *Escherichia coli*, una cepa aislada en el Hospital Regional de Veraguas. Esta bacteria ha sido probada también en otras latitudes para determinaciones de la acción desinfectante de ciertos productos

sobre superficies de azulejo, cristal, plástico y metal. Es un organismo muy importante en cuanto a la seguridad alimentaria y doméstica (Atlas, 1991).

Materiales y Métodos

Para los ensayos se utilizó una cepa de *Escherichia coli* aislada e identificada en el Hospital Regional de Veraguas Dr. Luis Fábrega. Esta cepa fue cultivada en agar ENDO y luego replicada en agar nutritivo en el laboratorio de microbiología del Centro Regional Universitario de Veraguas.

Las superficies utilizadas para hacer las pruebas fueron tablas de picar alimentos de uso doméstico obtenidas del comercio local. Se utilizaron tablas de madera y plástico que eran esterilizadas en autoclave cada vez que se realizaban las pruebas.

Los desinfectantes analizados y los componentes de cada uno de ellos se pueden observar en el **Cuadro 1**. Todos estos desinfectantes de presentación líquida fueron adquiridos en el comercio local y fueron seleccionados según su composición química. Para las pruebas, cada desinfectante fue diluido en agua destilada en las concentraciones sugeridas por los fabricantes.

Para realizar las pruebas, las superficies de madera y plástico fueron sembradas con el cultivo de *E. coli* que había sido diluido a una concentración aproximada de 10^3 bact/mL según un estándar de McFarland. De esta dilución, se aplicó 1 mL a cada superficie, distribuyéndose por la parte central de cada superficie (aprox. 325 cm^2), a una temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Inmediatamente después se hizo una toma de muestra con una placa de Petrifilm *E. coli*, la cual representa el recuento inicial de microorganismos en 20 cm^2 de área de la tabla. Se esperaron 5 minutos y luego se procedió a realizar un nuevo muestreo. Lo mismo se hizo después de 20 minutos de acción de los desinfectantes sobre la tabla de picar. Los recuentos iniciales y los de 5 y 20 minutos se hicieron en áreas diferentes de la tabla.

Cada placa de Petrifilm fue incubada a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas, luego de lo cual se procedió al conteo de colonias típicas de *E. coli*. Los ensayos para cada desinfectante fueron repetidos en 5 oportunidades. Con estos datos, para cada desinfectante se calculó un porcentaje de efectividad (cantidad de bacterias eliminadas en un tiempo dado). Este valor se calculó según la fórmula:

$$\%R = \frac{Ci - Ct}{Ci} \times 100$$

donde; %R es el porcentaje de reducción (efectividad), C_i es el conteo inicial inmediatamente después de sembrar las bacterias, C_t es el conteo después de un tiempo específico (5 o 20 min.) de haber aplicado el desinfectante correspondiente.

Los datos fueron analizados con el programa Statistix 3.5 mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey para determinar diferencias verdaderamente significativas entre los diferentes desinfectantes. Los datos fueron organizados en dos grupos: uno de 5 minutos y otro de 20 minutos. En cada grupo se consideró a cada desinfectante y cada superficie como un tratamiento diferente. Así, se obtuvieron 10 tratamientos diferentes, los cuales fueron designados como desinfectante 1 en madera (D1M), desinfectante 1 en plástico (D1P), desinfectante 2 en madera (D2M) y así sucesivamente (**Cuadros 2 y 3**). Para verificar los resultados y comparar las superficies, los datos obtenidos en la superficie de madera y plástico fueron reagrupados (independientemente de los tiempos de acción) y sometidos a un análisis de varianza. También se aplicó una prueba t a los datos de madera y plástico a los 5 minutos y a los 20 minutos de acción.

Resultados y Discusión

Las medias aritméticas de los porcentajes de reducción fueron tabuladas y organizadas según tiempo de acción de los desinfectantes y según el tipo de superficie (**Cuadro 1**).

Cuadro 1.

Media aritmética de los porcentajes de reducción de los diferentes desinfectantes

	5 minutos		20 minutos	
	Madera	Plástico	Madera	Plástico
Desinfectante 1				
Formaldehído, detergente aniónico sintético, alcohol láurico etoxilado.	69.78	64.47	85.72	97.85
Desinfectante 2				
Hipoclorito de sodio	99.12	98.97	100	100
Desinfectante 3				
Formaldehído	42.63	48.13	99.23	97.86
Desinfectante 4				
Cloruro de Benzalconio (amonio cuaternario catiónico)	39.73	56.77	99.56	93.51

Desinfectante 5				
Sales de amonio cuaternario	30.95	12.88	96.82	64.97

La prueba de Tukey aplicada a los datos de los desinfectantes cuando se dejaron actuar por 5 minutos (**Cuadro 2**) demostraron que la razón de varianza de 38.70 (valor crítico de $F_{0.05(9,40)}=2.12$) indica que los tratamientos son diferentes en su acción. El desinfectante 2 a base de hipoclorito de sodio fue el más efectivo en su acción, tanto en madera como en plástico. En su orden le siguieron en efectividad los desinfectantes 1, 3 y 4. Con menor efectividad apareció el desinfectante 5 a base de sales de amonio cuaternario. Además, en este cuadro también se puede observar que las parejas de los resultados para un desinfectante dado aparecen como similares en los dos tipos de superficies. Las superficies no fueron un factor determinante para la acción de los desinfectantes 1, 2, 3, y 5. Sólo se observó una diferencia, según la superficie, en el desinfectante 4 que estaba basado en cloruro de benzalconio (amonio cuaternario catiónico).

Cuadro 2.

Resultados de la prueba Tukey para los datos de los diferentes tratamientos a los 5 minutos de acción de los desinfectantes.

TRATAMIENTO	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
D2M	99.12	
D2P	98.97	
D1M	69.78	
D1P	64.47	
D4P	56.77	
D3P	48.13	
D3M	42.65	
D4M	39.73	
D5M	30.95	
D5P	12.88	

Cuadro 3.

Resultados de la prueba Tukey para los datos de los diferentes tratamientos a los 20 minutos de acción de los desinfectantes.

TRATAMIENTO	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
D2M	100	
D2P	100	
D4M	99.56	
D3P	99.24	
D1P	98.25	
D3M	97.86	
D5M	96.82	
D4P	93.51	
D1M	85.73	
D5P	64.97	

La prueba de Tukey para los datos de los tiempos de acción de 20 minutos (**Cuadro 3**) demostraron que la razón de varianza fue de 66.35 (valor crítico de $F_{0,05 (9,40)}=2.12$) indica que los tratamientos son diferentes en su acción, pero la gran mayoría de los datos resultaron similares. El tiempo de 20 minutos fue más eficaz en la acción de los distintos desinfectantes en ambas superficies. Todos mostraron un mejor efecto al dejárseles por más tiempo con la bacteria en estudio. Los diversos tratamientos tuvieron una mayor similitud en la eficacia, notándose igual eficacia en todos los desinfectantes, sobre todo en la superficie de madera. Se puede notar que el desinfectante 2 tiene una eficacia del 100 %; los desinfectantes 3, 4 y 5 muestran una similitud estadística con el desinfectante 2 en las superficies de madera; mientras que los desinfectantes 1 y 3 mostraron la misma similitud, pero en la superficie de plástico. Los desinfectantes 1, 4 y 5 fueron de menor eficacia en este tiempo de acción (20 min.), sobretodo en la superficie de plástico.

Observando todos los datos, se puede notar que el desinfectante de mayor eficacia en los dos tiempos utilizados (5 y 20 min.) es el basado en hipoclorito de sodio, algo que concuerda para superficies de plástico y este desinfectante en otra experiencia (Peixoto et al., 2007). Los otros desinfectantes tuvieron una actuación aceptable, a excepción del que estaba basado en sales de amonio cuaternario que presentó ineficacia en los dos tiempos analizados. Es importante señalar que los resultados de 12.88 y 64.97 % en eficacia mostradas en la superficie de plástico en 5 y 20 minutos, respectivamente, demuestran que este agente de limpieza muestra pocas cualidades para ser usado como control de microorganismos en estas superficies.

Aunque algunos datos mostraron diferencias al hacer análisis de varianza, se puede observar que los resultados para los análisis de cada desinfectante según la superficie, tienden a mantenerse unidos en la tabla de comparación. Para saber si existía alguna influencia de la superficie utilizada se aplicó la prueba t a los datos agrupados de madera y plástico en los tiempos de 5 y 20 minutos. Estos análisis muestran que no hay diferencia entre las superficies de madera y de plástico a los 5 minutos ($P = 0.9802$) y a los 20 minutos ($P = 0.0761$) de acción, lo que significa que la superficie no fue un factor importante para la acción de los desinfectantes. Estas diferencias se pueden observar en superficies deterioradas, con grietas profundas que alberguen materia orgánica que sirva de cultivo de microorganismos, pero las superficies utilizadas aquí se encontraban en buen estado físico; y aun así, existe evidencia de que sin sistemas de higienización adecuada bacterias como *Listeria monocytogenes* pueden sobrevivir en estas superficies por 75 días (Copes, 2000)

Conclusión

Los mejores resultados fueron obtenidos al utilizar un mayor tiempo de acción, lo cual es congruente con todas las recomendaciones de los usos de agentes desinfectantes que dicen que: entre mayor es el tiempo de contacto con los microorganismos, mayor es la eficacia de la acción del agente químico. El mejor agente desinfectante líquido fue el basado en hipoclorito de sodio. Los otros desinfectantes mostraron eficacias aceptables para el control de los microorganismos en las superficies en contacto con alimentos. Es importante recalcar que los factores más importantes en el uso de desinfectantes son: su componente químico, la concentración de este y el tiempo de acción. La superficie en la cual actúa es de menor consideración al momento de usarlos, pero normalmente los usuarios de estos productos hacen tareas rápidas y no toman mucho en cuenta el tiempo de exposición; así que las diferencias observadas a los cinco minutos de exposición es importante tomarlas en cuenta, ya que algunos actúan en menor tiempo.

El desinfectante con menor eficacia fue el basado en sales de amonio cuaternario. Este resultado puede deberse al microorganismo utilizado para este estudio o a concentraciones menores de químicos en el desinfectante original. Para dilucidar esto, sería prudente probar diferentes desinfectantes basados en el mismo principio químico.

En condiciones generales de empleo, los desinfectantes entran en contacto con grasa, polvo y otras materias incluyendo materia orgánica; lo que los puede afectar negativamente. Así que el criterio final para la efectividad de un agente germicida es su desempeño bajo condiciones prácticas (Copes et al., 2000; Medina Arebalo, 2017; Pelczar et al., 1996). En este trabajo se pretendió simular estas condiciones y encontrar resultados prácticos y aplicables en el uso de desinfectantes. Una de las enseñanzas que se pueden rescatar es que las superficies utilizadas (plástico y madera), después que tengan las condiciones requeridas para el uso en la manipulación de alimentos, no son diferentes en el mantenimiento de la higiene. Más importante aún es que se mantengan en buenas condiciones, sin grietas y con una adecuada aplicación de los métodos de higienización (lo que incluye el uso del mejor desinfectante).

Referencias

- Atlas, R.M. 1991. **Microbiología: Fundamentos y Aplicaciones**. Cía. Editorial Continental. S.A. México.
- AOAC. 1996. **Official Method of Analysis of AOAC**. International. Chapter 6. Desinfectants. Gaithersburg, MD. USA.
- Banwart, G.T. 1981. **Basic Food Microbiology**. Abridged Edition. Nostrvand Revhold, New York. USA.
- Brock, T. D. & M. Madigan. 1993. **Microbiología**. 6a ed. Prentice Hall Hispanoamericana, S.A. México. 956 p.
- Copes, J., Pellicer, K., Malvestiti, L., & Stanchi, N. O. 2000. Sobrevivencia en tablas de cocina de madera y plástico inoculadas experimentalmente con *Listeria monocytogenes*. *Analecta Veterinaria*, 20.
- FDA. 2001. Guia para reducir al mínimo el riesgo microbiano en alimentos, en el caso de frutas y vegetales frescos. Accesado en: www.cfsan.fda.gov/~mow/sprodqui.html.
- Frazier, W.C. & Wethoff, D.C. 1985. **Microbiología de los Alimentos**. 3ª Ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Iáñez, P.E. 1988. Desinfectantes y Antisépticos. En:

http://www.ugr.es/eianez/microbiologia/19_micro.htm

ICMSF. 1980. **Ecología Microbiana de los Alimentos**. Editorial Acribia. España.

Jawetz, E y Melnick, J.L.. 1990. **Microbiología Médica**. 13ª Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V., México.

Medina Arevalo, L. P. 2017. Propuesta para la Optimización del Proceso de Limpieza y Desinfección de Paletas de Madera y Jabas de Plástico en el Área de Logística de la Planta Gloria S.A. Arequipa Mediante la Técnica de Simulación.

Peixoto, R.T.R. da C; Sander, H.H.; Couto, P.H.A.; Diniz, L.M.; Araújo, P.V.; Santos, V.R.; Poletto, L.T. de A. 2007. Análisis de la eficacia de agentes químicos de desinfección en materiales elastoméricos. *Acta odontol. venez* ; 45(1): 29-32.

Pelczar, M.J.; Reid, R.D. y Chan, E.C S.. 1982. **Microbiología**. 4a ed. McGraw-Hill Book Co., S.A. México. 673 p.

Ríos Castillo, A. G. 2013. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo. Nuevos métodos. Universitat Autònoma de Barcelona.

Tebbut, T.H.Y. 1990. **Fundamentos De Control De La Calidad Del Agua**. Trad. de la 1ª Ed. En inglés, 1990. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.