

Artículo Científico

Actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre indicadores de calidad microbiológica: un estudio a partir de muestras ambientales

Bactericidal activity of the colloidal silver water upon microbiological quality indicators: an analysis from environmental samples

Puente-Balda M.B¹, Gudiño-Gomezjurado M.E², Granda-Moreno E.^{3*}

¹Agronaturaliza. Calle Vicente Cadena y Galo Molina. CP: 170602. Sector La Magdalena. Quito-Ecuador.

²Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería, Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay, Hacienda San José, s/n, Urcuquí, Ecuador.

³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Avenida 12 de octubre 10-76 y Roca. CP: 17012184. Quito-Ecuador

*egradam@puce.edu.ec

Doi: 10.26807/remcb.v1i41.221

Recibido 14-11-2019; Aceptado 15-05-2020

RESUMEN. - El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica aislados a partir de muestras de: (i) agua de 16 canales de riego en la provincia de Tungurahua-Ecuador y (ii) los utensilios e insumos de una cocina en una cafetería en Quito-Ecuador. Para esto se confrontó 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal durante 15, 30 y 60 minutos con los crecimientos equivalentes a A_{625} de 0,08-0,1 de las cepas de: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Una vez estandarizada la técnica se comparó la densidad poblacional de: mesófilos aerobios, *E. coli* -coliformes totales y enterobacterias de 16 muestras de agua de canales de riego y de 11 superficies de preparación de alimentos antes y después de la exposición a 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de la suspensión de plata coloidal. La plata inhibió el crecimiento de todos los grupos microbianos evaluados en los canales de riego excepto en el 31,3 % ($n = 5$) de los casos en los que a 4 ppm de plata los recuentos de las bacterias mesófilas aerobias estuvieron en un rango de entre 10×10^2 UFC/mL y 40×10^2 UFC/mL. Para el caso de las muestras recolectadas en la cafetería, los recuentos de mesófilos aerobios disminuyeron en el 64,3 % ($n = 9$) del total de superficies muestreadas mientras que el número de *E. coli* - coliformes totales disminuyó en el 93 % ($n = 13$) de las áreas muestreadas a partir los 5 minutos de exposición con de 4 ppm de agua de plata coloidal.

PALABRAS CLAVES: canal de riego, coliformes, enterobacterias, mesófilos aerobios, plata coloidal,

ABSTRACT. - The aim of this study was to evaluate the bactericidal activity of colloidal silver on microorganisms classified as indicators of microbiological quality which were isolated from samples of: (i) water of 16 irrigation canals in the province of Tungurahua – Ecuador and (ii) utensils and supplies from the kitchen in a café located in Quito – Ecuador. For this, silver water with a concentration of 4 ppm, 10 ppm, or 15 ppm was applied during 15, 30 or 60 minutes on cell suspensions equivalent to A_{625} between 0,08 – 0,1 of the strains: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. After the standardization of the technique, we compared the population density of: aerobic mesophilic bacteria, *E. coli* – coliform and Enterobacteriaceae in 16 samples of irrigation canal water and 11 samples of food preparation surfaces,

before and after exposure to 4 ppm, 10 ppm or 15 ppm of colloidal silver. Regarding the irrigation canal water, the treatments inhibited the growth of all the evaluated microbial groups except in 31,3 % ($n = 5$) of the cases where exposure to 4 ppm of colloidal silver resulted in aerobic mesophilic bacteria counts ranging between 10×10^2 CFU/mL and 40×10^2 CFU/mL. In the case of samples collected in the cafe, the mesophilic bacteria counts decreased in 64,3 % ($n = 9$) of the total sampled surfaces, whereas counting of *E. coli* – coliform decreased in 93 % ($n = 13$) of the sampled areas after 5 minutes of exposure to 4ppm of colloidal silver.

KEYWORDS: aerobic mesophilic bacteria, coliform, colloidal silver, Enterobacteriaceae, irrigation canal water.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son seres vivos con gran capacidad de adaptación al entorno en el que se encuentran. Uno de los factores que permite este hecho es la adquisición de genes que les confieren características de supervivencia frente a condiciones adversas (Chen y Xiuping 2017; García et al. 2013; Papadimitriou et al. 2015). En la actualidad se han descrito procesos de resistencia a diferentes familias de antibióticos (Bado et al. 2018; Ferreira et al. 2017; Sabtu et al. 2015) y desinfectantes, en especial los compuestos derivados de amonio (Tezel y Pavlostathis 2015) o a compuestos clorados (Khan et al. 2016). La resistencia a los desinfectantes tiene impacto en la salud pública ya que estas sustancias constituyen uno de los primeros mecanismos profilácticos para el control de infecciones tanto a nivel terapéutico como en la industria de alimentos (Martínez-Suárez et al. 2016; Tipton et al. 2018). Frente a estos antecedentes surge la necesidad de investigar la actividad bactericida de nuevos compuestos que pueden ser utilizados como nuevos desinfectantes. Entre ellos se encuentran los coloides de plata en suspensión acuosa. Es por esto que, en el presente trabajo nos planteamos como objetivo evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal en diferentes grupos de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica, que fueron aislados a partir de muestras de: (i) agua de 16 canales de riego en la provincia de Tungurahua-Ecuador y (ii) los utensilios e insumos de una cocina en una cafetería en Quito-Ecuador.

MATERIALES Y METODOS

Microorganismos utilizados y condiciones de crecimiento.- Para la ejecución de este trabajo se utilizaron las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Estos microorganismos fueron mantenidos en

congelación a -20 °C, en viales de caldo BHI a los que se añadió una solución crioprotectora de glicerol con concentración final del 1:5 (v/v).

Cribado de la actividad bactericida del agua de plata coloidal.- Un vial de cada cepa bacteriana se reconstituyó de manera directa. Cada tubo de 1,5 mL se incubó a 35 °C durante 30 minutos y se vertió y homogeneizó su contenido en 5 mL de BHI hasta estandarizar el inóculo a A_{625} entre 0,08 y 0,1, equivalente a la densidad poblacional teórica de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. A partir de esta suspensión se efectuaron diluciones seriadas en agua de peptona 0,1% (p/v) hasta 10^{-6} ($1,5 \times 10^2$ UFC/mL). Cada dilución se mezcló en proporción 1:1 con las soluciones de 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal (ARGENTUM CP). Al cabo de 15, 30 y 60 minutos de exposición de las diluciones de cada cepa con las 3 concentraciones de agua de plata coloidal se inocularon 4 estrias de cada mezcla en cajas Petri que contenían el medio de cultivo TSA (Tripticasa Soya Agar) y se incubó a 35 °C durante 24 horas.

Para cada tratamiento se efectuaron 4 réplicas técnicas, y se incubaron bajo las mismas condiciones los controles del: (i) medio de cultivo, (ii) agua de peptona 0,1% (p/v), (iii) agua de plata coloidal y (iv) de cada cepa bacteriana. Transcurrido el tiempo de incubación los resultados se interpretaron como presencia (+) o ausencia (-) de crecimiento.

Actividad bactericida del agua de plata coloidal en muestras de agua de canales de riego.- Las muestras de agua se recolectaron a partir de 16 canales de riego, alimentados por el río Pachanlica. Estos canales se encuentran en los cantones Ambato, Cevallos y Pelileo de la provincia de Tungurahua (Tabla S1, Material Suplementario). A partir de cada canal se tomaron en un recipiente de plástico estéril 1 000 mL de agua, aproximadamente a una profundidad de entre 5 cm y 10 cm, y se

transportaron y mantuvieron a 4 °C hasta realizar los análisis. Con el propósito de determinar la carga microbiana (mesófilos aerobios, *Escherichia coli*, coliformes totales y enterobacterias) se realizaron diluciones de cada muestra en agua de peptona 0,1% (p/v) hasta la dilución 10^{-3} . A partir de cada dilución se sembró 1 mL de estas en las placas de Petrifilm 3M™ correspondientes a cada grupo de microorganismos, conforme las especificaciones del fabricante. Transcurrido el período de incubación a 35 °C entre 24 y 48 horas se realizó el recuento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por cada mililitro de agua.

Para evaluar la actividad bactericida del agua de plata coloidal sobre las bacterias presentes en los canales de riego se diluyó una muestra de agua con 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm de agua de plata coloidal en una proporción 1:1. Una vez transcurridos 15, 30 y 60 minutos de exposición se procedió a sembrar en placas Petrifilm 3M™ y a incubarlas conforme se describió anteriormente antes de realizar los recuentos de las UFC.

Actividad desinfectante del agua de plata coloidal en superficies.- El análisis de la actividad desinfectante del agua de plata coloidal se efectuó en 14 áreas de preparación de los alimentos de una cafetería de la ciudad de Quito (Tabla S2, Material Suplementario). Para esto: se tomaron muestras de hisopados correspondientes a 100 cm² de cada una de las superficies. El hisopo se colocó en un tubo con 5 mL de caldo TAT (Triptona Azolectina Tween) antes de ser transportado al laboratorio. De cada superficie se tomaron tres muestras, dos a las que se les añadió agua de plata coloidal en proporción 1:1 con una concentración de 4 ppm y 10 ppm, respectivamente y una tercera que sirvió como control de crecimiento. Un mililitro de cada muestra se sembró en placas Petrifilm 3M™ con el propósito de realizar el recuento de mesófilos aerobios, *Escherichia coli* y coliformes totales, tal como se mencionó previamente y antes de realizar los recuentos de las UFC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agua de plata coloidal inhibe el crecimiento bacteriano de manera selectiva. Los resultados de este estudio demuestran que la actividad bactericida del agua de plata coloidal depende del microorganismo. En primer lugar, la inhibición de crecimiento de las bacterias Gram negativas ocurrió a menor concentración y tiempo de exposición que en *S. aureus* ATCC 6538 (Tabla 1). Este hecho, posiblemente se debe a las diferencias

en la estructura celular bacteriana. La pared de las bacterias Gram positivas es más gruesa que la de las bacterias Gram negativas (Mai-Prochnow et al. 2008) lo que dificultaría la difusión de las partículas de plata para alcanzar el espacio periplasmático y actuar sobre la diana biológica que inhibe al crecimiento de este microorganismo.

Por otro lado, entre las bacterias Gram negativas el efecto bactericida de los coloides de plata difiere según la especie. Para *S. Cholerae* ATCC 10708, 10 ppm de agua plata coloidal durante 30 minutos de exposición inhibieron el crecimiento de $\leq 1,5 \times 10^6$ UFC/mL; mientras que a esas condiciones el crecimiento de *E. coli* ATCC 11229 y *P. aeruginosa* ATCC 15442 no se vio afectado (Tabla 1). Esta variación en la susceptibilidad probablemente se debe a la adquisición de mecanismos de resistencia propios de una determinada especie.

El agua de plata coloidal inhibe el crecimiento de indicadores de calidad microbiológica de muestras ambientales de agua.- Al evaluar el efecto del agua de plata coloidal en muestras obtenidas de 16 canales de riego de la provincia de Tungurahua-Ecuador encontramos que el 100 % ($n = 16$) de las muestras presentaron contaminación por bacterias mesófilas aerobias (Tabla 2). Esto se podría esperar ya que son muestras ambientales que no han sido sometidas a ningún tipo de tratamiento de desinfección o esterilización.

En cuanto a las enterobacterias, el 56,3 % ($n = 9$) de las muestras presentaron recuentos de entre 10×10^2 UFC/mL y 70×10^2 UFC/mL para este grupo de microorganismos (Tabla 2). De estas 9 muestras el 31,3 % ($n = 5$) estuvieron contaminadas con coliformes totales y el 6,3% ($n = 1$) con *E. coli*.

El agua de plata coloidal, en todas las concentraciones evaluadas inhibió el crecimiento de: (i) *E. coli*, (ii) los coliformes fecales y (iii) las enterobacterias en todas las muestras de agua (Datos no presentados). Sin embargo, en el 31,3 % ($n = 5$) de las muestras persistieron las bacterias mesófilas aerobias en un rango de entre 10×10^2 UFC/mL y de 40×10^2 UFC/mL después del tratamiento con 4 ppm de agua de plata coloidal (Tabla 3).

Con base a estos resultados el efecto de la concentración de los coloides de plata sobre el grupo de microorganismos que se analice es variable, tal como se han descrito en estudios previos a partir de microorganismos aislados de diferentes muestras (Bonifaz 2015; Jara 2015; Vaca 2015).

Tabla 1. Actividad bactericida del agua de plata coloidal frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Densidad bacteriana y tiempo de exposición del agua de plata coloidal			<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 10708	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC15442
1,5 x 10 ⁸ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	15 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
1,5 x 10 ⁷ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	+
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	-
	15 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	+	+	+
		60 min	+	+	+	-
1,5 x 10 ⁶ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	+	+	-
		30 min	+	-	+	-
		60 min	+	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	+	+	+
		30 min	+	-	+	+
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	+
1,5 x 10 ⁵ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	+	+
		30 min	-	-	-	-
		60 min	+	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
1,5 x 10 ⁴ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	+	-	+	-
		30 min	-	-	+	-
		60 min	-	-	+	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-

Continuación Tabla 1. Actividad bactericida del agua de plata coloidal frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Choleraesuis ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Densidad bacteriana y tiempo de exposición del agua de plata coloidal			<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 10708	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC15442
1,5 x 10 ³ UFC/mL	4 ppm	15 min	+	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	-	-	+	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
1,5 x 10 ² UFC/mL	4 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	10 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-
	15 ppm	15 min	-	-	-	-
		30 min	-	-	-	-
		60 min	-	-	-	-

El símbolo (+) representa presencia de crecimiento, el símbolo menos (-) indica ausencia de crecimiento.

Tabla 2. Recuento del número de UFC/mL de mesófilos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y enterobacterias de las muestras de agua no tratadas de los canales de riego del río Pachanlica

Canal de riego	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	<i>E. coli</i> (UFC/mL)	Enterobacterias (UFC/mL)
Mocha Huachi	60 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
Alborno Naranjo	19 x 10 ⁴	30 x 10 ²	20 x 10 ²	70 x 10 ²
Sevilla Chica	10 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Mondongo	40 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
Alborno Baja	32 x 10 ³	20 x 10 ²	<10 x 10 ²	30 x 10 ²
Los Cruces	28 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	60 x 10 ²
Mocha Quero Ladrillos	30 x 10 ²	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
La Victoria	30 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
San José	18 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	20 x 10 ²
La Torre	31 x 10 ³	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	30 x 10 ²
Pachanlica	60 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
San Miguel	11 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	40 x 10 ²
Porvenir o García Moreno	20 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Cisneros Alta o San Cristóbal	14 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Las Brevas	90 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Troya Huasinga	36 x 10 ³	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	60 x 10 ²

En base a los resultados expuestos es necesario efectuar estudios posteriores que permitan estandarizar los procesos y realizar ensayos a mayor escala. Esto permitirá disminuir la carga bacteriana en caudales naturales de agua a través de la utilización de las partículas de coloidales de plata.

El agua de plata coloidal: una alternativa para la desinfección de superficies de preparación de alimentos.- De las muestras tomadas sobre superficies de una cafetería, el 100 % ($n = 14$) presentaron contaminación con bacterias mesófilas aerobias y el 64,3 % ($n = 9$) con coliformes totales-*E. coli*.

Tras la exposición de los hisopados con el agua de plata coloidal los recuentos de mesófilos aerobios disminuyeron en el 64,3 % ($n = 9$) (Tabla 4). Sin embargo, en los tubos con las muestras de tablas de picar, mesones de material de trabajo y de preparación de alimentos y utensillos de postres, persistieron microorganismos viables (Tabla 4 y Tabla S2). Los coloides de plata a concentración de 10 ppm disminuyeron los recuentos de coliformes

totales-*E. coli* en todas las muestras evaluadas, excepto en el mesón de acero inoxidable con material de trabajo (Tabla 4 y Tabla S2).

Estos resultados sugieren que los microorganismos presentes en estos lugares de muestreo posiblemente desarrollaron resistencia frente a este desinfectante. Este hecho podría estar asociado a un mecanismo bacteriano de resistencia cruzada a compuestos a los cuales estos microbios hayan sido expuestos previamente, tal como se ha visto con el empleo inadecuado de los antibióticos (Karkman et al. 2018; Khan et al. 2016; Liu et al. 2018; Zhang et al. 2017).

Considerando el efecto desinfectante del agua de plata coloidal, demostrado con nuestros resultados, esta suspensión podría presentar importancia biotecnológica para el control de potenciales microorganismos patógenos. No obstante, resultan necesarias futuras investigaciones encaminadas a evaluar en modelos experimentales e *in situ* el efecto de la aplicación directa de esta suspensión a nivel ambiental sin que afecte a los seres humanos ni a los animales.

Tabla 3. Efecto de 4 ppm del agua de plata coloidal sobre el crecimiento de las bacterias mesófilas aerobias de las muestras de agua de los canales de riego del río Pachanlica.

Canal de riego	4 ppm		
	15 min	30 min	60 min
Mocha Huachi	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
Albornoz Naranjo	40 x 10 ²	40 x 10 ²	20 x 10 ²
Sevilla Chica	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Mondongo	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Albornoz Baja	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Los Cruces	10 x 10 ²	20 x 10 ²	10 x 10 ²
Mocha Quero Ladrillos	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
La Victoria	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
San José	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
La Torre	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Pachanlica	10 x 10 ²	<10 x 10 ²	10 x 10 ²
San Miguel	10 x 10 ²	10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Porvenir	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Cisneros Alta	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Las Brevas	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²
Troya Huasinga	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²	<10 x 10 ²

Tabla 4. Recuento del número de UFC/mL de mesófilos aerobios y de coliformes totales-*Escherichia coli* en muestras de superficies de una cafetería

Muestra	Control	Mesófilos aerobios (UFC/20 cm ²)						Coliformes totales- <i>Escherichia coli</i> (UFC/20 cm ²)					
		4 ppm			10 ppm			4 ppm			10 ppm		
		1 min	5 min	1 min	1 min	5 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min	1 min	5 min
S1	*MNPC	380	340	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S2	60	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S3	10	20	60	0	10	10	10	0	0	0	0	0	0
S4	MNPC	RES 46 x 10 ²	RES 34 x 10 ²	RES 42 x 10 ²	RES 42 x 10 ²	RES 42 x 10 ²	RES 42 x 10 ²	480	30	10	20	10	10
S5	790	160	190	10	70	70	0	0	0	0	0	0	0
S6	MNPC	180	80	30	70	70	0	50	0	0	20	0	0
S7	† RES 22 x 10 ²	290	600	290	0	0	0	0	70	60	0	0	0
S8	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	40	100	40	20	50	50
S9	MNPC	RES 6 x 10 ²	RES 40 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 22 x 10 ²	RES 22 x 10 ²	MNPC	MNPC	RES 26 x 10 ²	RES 30 x 10 ²	RES 44 x 10 ²	RES 24 x 10 ²	RES 24 x 10 ²
S10	MNPC	MNPC	RES 22 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 32 x 10 ²	RES 52 x 10 ²	MNPC	MNPC	300	240	170	230	230
S11	RES 60 x 10 ²	RES 14 x 10 ²	RES 36 x 10 ²	1350	1220	1220	90	90	370	250	40	30	30
S12	1050	40	0	90	70	70	10	10	0	0	0	0	0
S13	RES 50 x 10 ²	1080	1020	600	710	710	70	70	0	0	20	0	0
S14	730	200	200	90	60	60	20	20	0	0	0	0	0

*MNPC: Muy numeroso para contar; † Recuento Estimado Estándar

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por el financiamiento de la presente investigación como parte de los Proyectos: “Determinación de la concentración mínima inhibitoria del Agua de Plata coloidal frente a microorganismos patógenos y sus posibles beneficios como desinfectante natural”, número código J13128 y “Aplicaciones del Agua de Plata como agente bactericida en varias matrices intervinientes en el proceso de elaboración de alimentos listos para el consumo en las Cafeterías”, número código K13101. Además, al Ing. Juan Carlos González por la asesoría en el análisis de datos. PBMB agradece al ingeniero Asael Sánchez y al geógrafo Juan Carlos Mena por el asesoramiento y determinación de coordenadas de los lugares de muestreo en los canales de riego.

REFERENCIAS

- Bado I, Papa-Ezdra R, Delgado-Blas JF, Gaudio M, Gutiérrez C, Cordeiro NF, García-Fulgueiras V, Araújo Pirez L, Seija V, Medina JC, et al. 2018. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in the Intensive Care Unit of Uruguay's University Hospital Identifies the First rmtC Gene in the Species. *Microb Drug Resist.* 24(7):1012–1019. doi:10.1089/mdr.2017.0300. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2017.0300>.
- Bonifaz Panamá DA. 2015. Evaluación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo en cafeterías de una institución de educación superior. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Chen Z, Xiuping J. 2017. Thermal Resistance and Gene Expression of both Desiccation-Adapted and rehydrated *Salmonella enterica* Serovar Thyphimurium Cells in Aged Broiler Litter. *Applied Environ Microbiol.* 83(12):1–14. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.00367-17>.
- Ferreira JC, Penha Filho RAC, Andrade LN, Berchieri Junior A, Darini ALC. 2017. Diversity of plasmids harboring bla_{CMY-2} in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 88(4):361–364. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2017.04.014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.04.014>.
- García E, Alonso Á, Platas G, Sacristán S. 2013. The endophytic mycobiota of *Arabidopsis thaliana*. *Fungal Divers.* 60(1):71–89. doi:10.1007/s13225-012-0219-0.
- Jara Santamaría VM. 2015. Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Karkman A, Do TT, Walsh F, Virta MPJ. 2018. Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends Microbiol.* 26(3):220–228. doi:10.1016/j.tim.2017.09.005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005>.
- Khan S, Beattie TK, Knapp CW. 2016. Relationship between antibiotic- and disinfectant-resistance profiles in bacteria harvested from tap water. *Chemosphere.* 152:132–141. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.02.086. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.086>.
- Liu SS, Qu HM, Yang D, Hu H, Liu WL, Qiu ZG, Hou AM, Guo J, Li JW, Shen ZQ, et al. 2018. Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. *Water Res.* 136:131–136. doi:10.1016/j.watres.2018.02.036. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.036>.
- Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. 2016. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Sci Rep.* 6(November):1–11. doi:10.1038/srep38610. <http://dx.doi.org/10.1038/srep38610>.
- Martínez-Suárez J V., Ortiz S, López-Alonso V. 2016. Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Front Microbiol.* 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00638.
- Papadimitriou K, Zoumpopoulou G, Foligné B, Alexandraki V, Kazou M, Pot B, Tsakalidou E. 2015. Discovering probiotic microorganisms: In vitro, in vivo, genetic and omics approaches. *Front Microbiol.* 6(FEB):1–28. doi:10.3389/fmicb.2015.00058.
- Sabtu N, Enoch DA, Brown NM. 2015. Antibiotic resistance: What, why, where, when and how? *Br Med Bull.* 116(1):105–113. doi:10.1093/bmb/ldv041.

Tezel U, Pavlostathis SG. 2015. Quaternary ammonium disinfectants: Microbial adaptation, Degradation and ecology. *Curr Opin Biotechnol.* 33(Mic):296–304. doi:10.1016/j.copbio.2015.03.018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2015.03.018>.

Tipton KA, Chin C-Y, Farokhyfar M, Weiss DS, Rather PN. 2018. Role of Capsule in Resistance to Disinfectants, Host Antimicrobials, and Desiccation in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 62(12):1–6. doi:<https://doi.org/10.1128/AAC.01188-18>.

Vaca Báez DA. 2015. Determinación de la concentración mínima inhibidora (CMI) de la plata coloidal sobre el crecimiento de microorganismos patógenos en carne fresca vacuna. Universidad Tecnológica Equinoccial.

Vollmer W, Blanot D, De Pedro MA. 2008. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev.* 32(2):149–167. doi:10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x.

Zhang Y, Gu AZ, He M, Li D, Chen J. 2017. Subinhibitory Concentrations of Disinfectants Promote the Horizontal Transfer of Multidrug Resistance Genes within and across Genera. *Environ Sci Technol.* 51(1):570–580. doi:10.1021/acs.est.6b03132.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S1. Ubicación geográfica de los canales de riego muestreados originados a partir del río Pachanlica en la provincia de Tungurahua-Ecuador

Cantón	Parroquia	Canal de riego	Coordenadas	Altura (msnm)*
Ambato	Picaihua	La Victoria	Norte: 9856699 y Este: 768850	2 667
		Troya Huasinga	Norte: 9856397 y Este: 768896	2 611
Cevallos	Cevallos	Mocha Huachi	Norte: 9851982 y Este: 763179	2 985
	Benítez	Sevilla Chica	Norte: 9853216 y Este: 767875	2 701
		Las Cruces	Norte: 9852022 y Este: 767890	2 701
		Mondongo	Norte: 9852545 y Este: 768737	2 764
		Albornoz Baja	Norte: 9852162 y Este: 768141	2 711
Pelileo	Chiquicha	Albornoz-Naranjo	Norte: 9861948 y Este: 772952	2 596
		Pachanlica	Norte: 9861464 y Este: 772876	2 655
		Cisneros Alta	Norte: 9863557 y Este: 772090	2 334
		San José	Norte: 9863135 y Este: 773092	2 316
		San Miguel	Norte: 9863282 y Este: 773329	2 363
	García Moreno	Porvenir	Norte: 9855570 y Este: 772449	2 675
		Pelileo	Mocha Quero Ladrillos	Norte: 9849763 y Este: 774003
	La Torre		Norte: 9857205 y Este: 770086	2 492
	Las Brevas		Norte: 9856967 y Este: 769956	2502

* msnm: metros sobre el nivel del mar.

Tabla S2. Codificación de las superficies muestreadas en una cafetería

Codificación	Tipo de superficie
S1	Mesón de acero inoxidable de preparación de sánduches.
S2	Mesón de acero inoxidable de preparación de sánduches y de ensaladas.
S3	Mesón de acero inoxidable de preparación de ensaladas y de corte de verduras.
S4	Tabla de picar.
S5	Mesón de expendio de comida.
S6	Mesa de preparación de infusiones y de café.
S7	Bandeja de plástico.
S8	Tabla de picar papas de plástico.
S9	Mesón de acero inoxidable con material de trabajo.
S10	Mesón de acero inoxidable para preparación de comida.
S11	Mesón de acero inoxidable para preparación de postres.
S12	Paleta de madera utilizada para mecer comida.
S13	Mesón de acero inoxidable para preparación de jugos.
S14	Mesón de acero inoxidable con platos limpios.