

# Chlorine and its importance in the inactivation of bacteria, can it inactivate viruses?

## El cloro y su importancia en la inactivación de bacterias, ¿Puede inactivar virus?

Laila Nayzzel Muñoz-Castellanos, Alejandra Borrego-Loya, Cindy Viviana Villalba-Bejarano, Román González-Escobedo, Nuvia Orduño-Cruz, Grisel Paloma Villezcas-Villegas, María Janeth Rodríguez-Roque, Graciela Dolores Avila-Quezada\*, Facultad de Ciencias Químicas, Facultad de Zootecnia y Ecología, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Escorza 900, Chihuahua, CP 31000, México; Irasema Vargas-Arispuro, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas, No. 46, Hermosillo, Sonora, CP 83304, México. \*Corresponding author: gavilaq@gmail.com; gdavila@uach.mx

Received: February 02, 2021.

Accepted: March 30, 2021.

Muñoz-Castellanos LN, Borrego-Loya A, Villalba-Bejarano CV, González-Escobedo R, Orduño-Cruz N, Villezcas-Villegas GP, Rodríguez-Roque MJ, Avila-Quezada GD and Vargas-Arispuro I. 2021. Chlorine and its importance in the inactivation of bacteria, can it inactivate viruses? Mexican Journal of Phytopathology 39(4): 198-206.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2021-4>

**Abstract.** Sodium hypochlorite (NaClO) and its active ingredient, hypochlorous acid (HClO), are the most widely used chlorine-based disinfectants. HClO is a fast-acting antimicrobial that interacts with many biomolecules, including amino acids, lipids, nucleic acids, and sulfur-containing membrane components, causing cell damage. In this review, we present examples of the effectiveness of chlorine in general disinfection procedures to inactivate bacteria and, under some conditions, bacteria in biofilms and viruses.

**Resumen.** El hipoclorito de sodio (NaClO) y su ingrediente activo, el ácido hipocloroso (HClO), son los desinfectantes a base de cloro más utilizados a nivel mundial. El HClO es un antimicrobiano de acción rápida que interactúa con muchas biomoléculas, como aminoácidos, lípidos, ácidos nucleicos y componentes de la membrana que contienen azufre, causando daño celular. En esta revisión se exponen ejemplos de la efectividad del cloro en procedimientos generales de desinfección, para inactivar bacterias, y bajo ciertas condiciones bacterias en biopelículas y virus.

**Palabras clave:** Bacterias, COVID-19, inactivación de patógenos, virus.

### Antecedentes

En el contexto actual de la pandemia del COVID-19, enfermedad causada por el Severe Acute

**Key words:** Bacteria, COVID-19, pathogen inactivation, virus.

### Antecedents

In the current context of the COVID-19 pandemic, a disease caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), sanitary measures such as washing surfaces and equipment to reduce the risk of contamination by pathogens are crucially important (Avila-Quezada *et al.*, 2010; Nussbaumer-Streit *et al.*, 2020; Avila-Quezada *et al.*, 2008; Gil *et al.*, 2015). One of the most widely used sanitary products, due to its affordability, is chlorine, usually sold as sodium hypochlorite and calcium hypochlorite (OIRSA, 2020). The use of sodium hypochlorite (NaClO) as a disinfectant has increased during the COVID-19 pandemic (Patel *et al.*, 2020), since it is a commonly used antiseptic for cleaning environmental surfaces in the healthcare sector, without the flammability and rapid evaporation that characterizes ethanol. An additional advantage of chlorine is that it can easily cover large surfaces (Hulkower *et al.*, 2011). Some studies have shown that chlorine can inhibit fungal growth at a concentration of 75 ppm (Zoffoli *et al.*, 2005), while Owoseni and Okoh (2017) reported that the lethal dose against bacteria was 1 ppm. But is chlorine effective against viruses? This review aims to describe the mode of action of chlorine when used as a disinfectant.

### Persistence of SARS-CoV-2 on surfaces

The speed at which SARS-CoV-2 has spread throughout the world is alarming, as is the long period during which the virus remains latent outside the host (Riddell *et al.*, 2020). Laboratory studies have assessed the persistence of the virus on different surfaces (Table 1) but there are still

Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), las medidas sanitarias como el lavado de superficies y equipo para reducir riesgos de contaminación por patógenos son imprescindibles (Avila-Quezada *et al.*, 2010; Nussbaumer-Streit *et al.*, 2020; Avila-Quezada *et al.*, 2008; Gil *et al.*, 2015). Uno de los productos más utilizados por su costo accesible es el cloro, en los compuestos de hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio (OIRSA, 2020). El uso de hipoclorito de sodio (NaClO) como desinfectante ha aumentado durante la actual pandemia COVID-19 (Patel *et al.*, 2020), ya que es un importante antiséptico de superficies ambientales en el sector sanitario, sin la inflamabilidad y rápida evaporación que caracteriza al etanol, además, es adecuado para verse en superficies extensas (Hulkower *et al.*, 2011). Algunos trabajos de investigación han demostrado que el cloro puede inhibir hongos a una concentración de 75 ppm (Zoffoli *et al.*, 2005) y en bacterias la dosis letal reportada por Owoseni y Okoh (2017) fue de 1 ppm, pero ¿éste es realmente eficaz contra virus? El objetivo de esta revisión es conocer el modo de acción del cloro para ser usado como desinfectante.

### Permanencia del SARS-CoV-2 en superficies

La velocidad a la que el SARS-CoV-2 se ha extendido por todo el mundo ha sido alarmante, al igual que el largo período de tiempo en el que el virus permanece latente fuera del hospedante (Riddell *et al.*, 2020). Estudios realizados en condiciones de laboratorio han determinado la permanencia del virus en diferentes superficies (Cuadro 1). Hasta el momento no hay estudios del SARS-CoV-2 en muestras de ambientes agrícolas, como maquinaria y herramienta utilizada en campo y poscosecha. Esta información es útil para establecer procedimientos de sanitización y desinfección de superficies como una medida preventiva de contagio por SARS-CoV-2.

**Table 1. Persistence of SARS-CoV-2 on different inert surfaces.**

**Cuadro 1. Permanencia del SARS-CoV-2 en diferentes superficies inertes.**

Superficie	Permanencia	Referencia
Ropa y madera	≤ 1 d	Chin <i>et al.</i> , 2020
Plástico	4 d	Chin <i>et al.</i> , 2020; van Doremalen <i>et al.</i> , 2020
Mascarilla médica	≤ 7 d	Chin <i>et al.</i> , 2020
Cobre	4 h	van Doremalen <i>et al.</i> , 2020
Cartón	24 h	van Doremalen <i>et al.</i> , 2020
Superficies no porosas (vidrio, acero inoxidable, billetes y papel)	> 28 d	Riddell <i>et al.</i> , 2020

no studies of the persistence of SARS-CoV-2 on surfaces from agricultural environments, such as machinery and tools used in the preharvest and postharvest stages. Having this information would be useful to establish procedures for sanitizing and disinfecting surfaces as a preventive measure against contagion by SARS-CoV-2.

### How does chlorine destroy bacteria?

The concentration of commercial sodium hypochlorite products is usually between 3 and 6%, which is equivalent to 30,000-60,000 ppm of free chlorine. Free chlorine refers to the amount of hypochlorous acid and hypochlorite in the water. Hypochlorous acid (HClO) is electrically neutral, while hypochlorite ions (ClO<sup>-</sup>) are electrically negative. These ions constitute free chlorine, which, when in contact with bacteria, oxidizes them in a process known as chemical disinfection (Lafaurie *et al.*, 2015).

When chlorine is diluted in water, an aqueous solution is formed in which undissociated HClO becomes activated, penetrating the cell walls and membranes of bacteria by passive diffusion due to the negative charge of these structures (da Cruz Nizer *et al.*, 2020; Radovic-Moreno *et al.*, 2012). ClO<sup>-</sup> ions have a negative charge too, so they can hardly pass through the bacterial wall since the

### ¿Cómo destruye el cloro a las bacterias?

El hipoclorito de sodio en su presentación comercial generalmente se encuentra entre 3 y 6%, lo que equivale a 30,000 a 60,000 ppm de cloro libre. El “cloro libre” es la cantidad de ácido hipocloroso e hipoclorito en el agua. El ácido hipocloroso (HClO) es eléctricamente neutro y los iones hipoclorito (ClO<sup>-</sup>) son eléctricamente negativos. Estos iones forman cloro libre que al estar en contacto con las bacterias las oxidan, a este proceso se le conoce como desinfección química (Lafaurie *et al.*, 2015).

Cuando el cloro se diluye en agua se forma una solución acuosa en la que el HClO sin disociar, se activa logrando penetrar por difusión pasiva las paredes y membranas de las bacterias, ya que estas estructuras poseen carga negativa (da Cruz Nizer *et al.*, 2020; Radovic-Moreno *et al.*, 2012). Los iones ClO<sup>-</sup> también tienen carga negativa, por lo tanto, se repelen y difícilmente atraviesan la pared bacteriana (da Cruz Nizer *et al.*, 2020), por lo que conforme aumenta el pH de la solución, el ion hipoclorito se vuelve el predominante y la actividad microbicida disminuye (Figura 1).

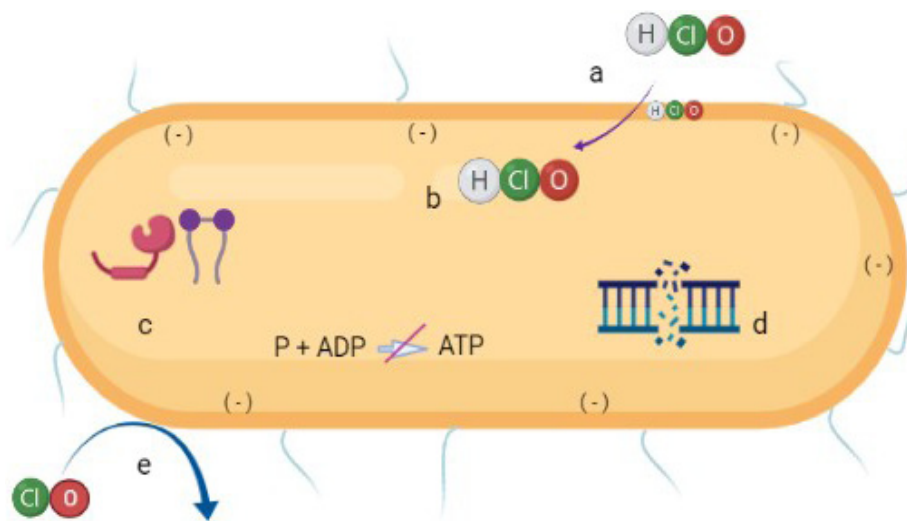
Se ha comprobado también que la actividad antimicrobiana del HClO es a causa de la pérdida respiratoria en las membranas bacterianas, debido a una reacción irreversible con las enzimas de

charges repel each other (da Cruz Nizer *et al.*, 2020). Thus, as the pH of the solution increases, hypochlorite ions become the predominant ones and the microbicidal activity decreases (Figure 1).

It has also been proven that the antimicrobial activity of HClO works by causing respiratory loss in bacterial membranes as a result of an irreversible reaction with structural, proteins and sulfur- and heme-containing membrane enzymes, causing cell death (Sam and Lu, 2009; Ghernaout, 2017). Damage to membrane proteins has a negative effect on energy transduction and transport that can lead to ATP hydrolysis (Barrette *et al.*, 1987). Protein fragmentation also disrupts DNA synthesis (Kiamco *et al.*, 2019). The reaction of HClO with the amino groups of nucleotides generates reactive chloramines, which break the hydrogen bonds that hold the two DNA strands together (Fukuzaki,

membrana que contienen azufre y grupos hemo, así como de proteínas estructurales, causando la muerte celular (Sam y Lu, 2009; Ghernaout, 2017). El daño ocasionado a las proteínas indican un efecto negativo en la transducción y el transporte de energía, lo que conduce a hidrólisis del ATP (Barrette *et al.*, 1987). La fragmentación de las proteínas también interrumpe la síntesis de ADN (Kiamco *et al.*, 2019). La reacción de HClO con los grupos aminos de los nucleótidos produce cloraminas reactivas, las cuales rompen los enlaces de hidrógeno y disocian las dobles cadenas de ADN (Fukuzaki, 2006). El HClO reacciona con ácidos grasos insaturados produciendo clorohidrininas. Las clorohidrininas lipídicas provocan lisis celular y toxicidad (Dever *et al.*, 2006; Spickett *et al.*, 2000) (Figura 1).

En el estudio de Chen *et al.* (2016), la eficacia del HClO a 180 ppm eliminó bacterias Gram



**Figure 1.** Diagram of the mechanism of action of hypochlorous acid (HClO) in bacterial cells. HClO penetrates the bacterial cell due to its neutral charge (a), affecting membrane components (b) such as transporters, proteins, and ATPase; it also degrades lipids and proteins (c) and interrupts DNA synthesis (d). Bacterial oxidation can also occur from contact with hypochlorite ions (ClO<sup>-</sup>) (e). Figure created in BioRender.com

**Figura 1.** Esquema del mecanismo de acción del ácido hipocloroso (HClO) en células bacterianas. HClO penetra la célula bacteriana debido a su carga neutra (a), afectando los componentes de la membrana (b), como transportadores, proteínas y ATPasa; degrada lípidos y proteínas (c), e interrumpe la síntesis del ADN (d). También puede ocurrir oxidación bacteriana por contacto con el ion hipoclorito (ClO<sup>-</sup>) (e). Figura creada en BioRender.com

2006). HClO reacts with unsaturated fatty acids to form chlorohydrins, and lipid chlorohydrins cause cell lysis and toxicity (Dever *et al.*, 2006; Spickett *et al.*, 2000) (Figure 1).

A study by Chen *et al.* (2016) showed that, at a concentration of 180 ppm, HClO eliminated Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Porphyromonas gingivalis*) and Gram-positive bacteria (*E. faecalis* and *Streptococcus sanguinis*) on titanium surfaces contaminated with biofilms of these microorganisms. The antibacterial efficacy of HClO increased as the treatment time increased. Owoseni and Okoh (2017) found that chlorine doses of 0.75 to 1.0 ppm, although very low, reduced the tolerance to HClO of *Enterococcus* species isolated from two wastewater treatment plants.

However, eliminating bacteria organized into biofilms is difficult due to the protection provided by polysaccharides (Torres-Armendariz *et al.*, 2015). Williams and Braun-Howland (2003) found that the commonly recommended dose of HClO (1 ppm) is not sufficient to inactivate bacteria in biofilms, specifically *Legionella pneumophila*, *E. coli*, and  $\beta$  and  $\delta$  proteobacteria.

### Virus inactivation on surfaces

Regarding the effectiveness of chlorine in the inactivation of viruses, various studies have obtained controversial results. Some authors mention that coronaviruses can be inactivated with a 1000 ppm NaClO solution due to its interaction with the external lipid envelope of the virus (Campagna *et al.*, 2016; Kampf *et al.*, 2020). A study by Lin *et al.* (2020) concluded that, at a concentration of 100 ppm, NaClO can effectively disinfect a surface contaminated with the HIV-1 virus in 30 s. However, NaClO is very sensitive to the presence of organic matter (e.g. plasma and blood) on inert smooth surfaces, so significantly

negativas (*Escherichia coli* y *Porphyromonas gingivalis*) y Gram positivas (*E. faecalis* y *Streptococcus sanguinis*) en superficies de titanio contaminadas con biopelículas de estos microorganismos. Se observó mayor eficacia antibacteriana del HClO a medida que aumentó el tiempo de tratamiento. Owoseni y Okoh (2017) encontraron que las dosis de cloro de 0.75 a 1.0 ppm, aunque son muy bajas, mostraron buena capacidad desinfectante para reducir la tolerancia al HClO por especies de *Enterococcus* aislados de dos plantas de tratamiento de aguas residuales.

Sin embargo, cuando se trata de biopelículas la eliminación es difícil por la protección que los polisacáridos proporcionan a las bacterias (Torres-Armendariz *et al.*, 2015). Williams y Braun-Howland (2003) encontraron que la dosis comúnmente recomendada de HClO (1 ppm) no es suficiente para inactivar bacterias en biopelículas, específicamente *Legionella pneumophila*, *E. coli* y proteobacterias  $\beta$  y  $\delta$ .

### Inactivación de virus en superficies

Respecto a la efectividad del cloro para inactivar virus, diversos estudios han obtenido resultados controversiales. Algunos autores mencionan que los coronavirus pueden inactivarse con una solución de NaClO a 1000 ppm debido a la interacción de ésta con la envoltura lipídica externa del virus (Campagna *et al.*, 2016; Kampf *et al.*, 2020). Por otra parte, los estudios de Lin *et al.*, 2020 concluyen que el NaClO a una concentración de 100 ppm puede desinfectar eficazmente una superficie con el virus VIH-1 en 30 s. Sin embargo, el NaClO es muy sensible a la presencia de materia orgánica (p. ej., plasma y sangre) en superficies lisas inertes por lo que se requieren concentraciones significativamente más altas para que conserven la eficacia desinfectante. Hulkower *et al.* (2011) utilizaron el

higher concentrations are required to maintain its disinfecting efficacy. Hulkower *et al.* (2011), using the mouse hepatitis virus (MHV) and the transmissible gastroenteritis virus (TGEV) as coronavirus models, determined that, after 1 min of contact with 1:100 hypochlorite (~ 600 ppm), there was a reduction of 0.62 and 0.35  $\log_{10}$  in viral load, respectively. However, a  $\log_{10}$  viral reduction factor > 3 has previously been suggested as a benchmark for the effective virucidal activity against coronaviruses and other surface viruses (Sattar, 2004).

### Virus inactivation in plant tissue and other samples

When the virus is inside a tissue or sample, it is not easy to remove it with chlorine; therefore, alternative techniques are required to inactivate it. Molina-Chavarria *et al.* (2020) reported that a 200 ppm NaClO dose was not efficient in reducing human norovirus (Human norovirus-HuNoV) in a stool sample. Kingsley *et al.* (2014) treated a stool filtrate containing 10% HuNoV with free chlorine at 189 ppm. This treatment reduced the viral load by 4  $\log_{10}$ , whereas a concentration of 350 ppm of  $\text{ClO}_2$  dissolved in water did not inactivate HuNoV after 1 min but reduced the viral load by 2.8  $\log_{10}$  after 60 min. The authors concluded that chlorine dioxide has limited activity against HuNoV. Hirneisen and Kniel (2013) reported that chlorine treatment was one of the least effective in inactivating viruses such as murine norovirus (MNV), hepatitis A virus (HAV), and human adenovirus type 41 (Ad41) in onion tissue. In a study by Duizer *et al.* (2004), two types of calicivirus and one norovirus were inactivated with a dose of NaClO greater than 300 ppm. The high doses of chlorine that are effective against some viruses confirm that the concentrations used to disinfect fruit are insufficient to prevent

virus de la hepatitis de ratón (MHV) y el virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) como modelos de coronavirus, determinando que con 1 min de contacto con hipoclorito 1:100 (~600 ppm), hubo una reducción viral de 0.62 y 0.35  $\log_{10}$ , respectivamente. Sin embargo, se ha sugerido previamente un factor de reducción viral  $\log_{10}$  >3 como punto de referencia para la actividad virucida eficaz contra coronavirus y otros virus en superficies (Sattar, 2004).

### Inactivación de virus en tejido vegetal y otras muestras

Cuando el virus se encuentra dentro de un tejido o muestra no resulta fácil eliminarlo con cloro, por lo tanto, se requieren otras técnicas adicionales para inactivarlo. Molina-Chavarria *et al.* (2020) reportan que la dosis de 200 ppm NaClO no fue eficiente para reducir al norovirus humano (Human norovirus-HuNoV) en una muestra de heces. Kingsley *et al.* (2014) trataron un filtrado de heces que contenían 10% de HuNoV con cloro libre a 189 ppm, redujo a 4  $\log_{10}$  la carga viral, mientras que una concentración de 350 ppm de  $\text{ClO}_2$  disuelto en agua durante 1 min, no inactivó el HuNoV; sin embargo, a 60 min redujo el virus en 2.8  $\log_{10}$ , concluyendo que el dióxido de cloro tiene actividad limitada contra este virus. Por su parte, Hirneisen y Kniel (2013) mencionan que el tratamiento con cloro es uno de los menos efectivos para inactivar virus como el norovirus murino (MNV), virus de la hepatitis A (HAV) y adenovirus humano tipo 41 (Ad41) en tejido de cebolla. Los estudios de Duizer *et al.* (2004) inactivaron a dos tipos de calicivirus y un norovirus con una dosis mayor de 300 ppm de NaClO. Las dosis altas de cloro que resultaron efectivas contra algunos virus confirman que los niveles utilizados durante la desinfección de frutas son insuficientes para evitar la transmisión de virus.

viral transmission. Based on these results, it can be deduced that chlorine must be in direct contact with the virus, not only with the material, which may contain a large amount of organic matter.

### Prospects for the inactivation of SARS-CoV-2

To reduce the persistence of SARS-CoV-2 on the surfaces of doors and window handles, kitchens, toilets, and faucets, touch screens, and work furniture and tools, various health organizations have recommended the use of NaClO at a concentration of 0.05% to 0.1% (500 to 1000 ppm) (WHO, 2020a). The high concentrations recommended can affect SARS-CoV-2, since this is a virus that, as the influenza and other coronaviruses, has a lipoprotein coating, which makes it much more vulnerable to chemical disinfectants than other viruses without that property. This is confirmed by the works of Maris (1989) and Lai *et al.* (2020), who required disinfectant solutions 20 to 500 times denser to kill viruses without a lipoprotein coating (parvovirus) than those required to eliminate coronaviruses (WHO, 2020b). It is necessary to consider that hypochlorite solutions should be prepared with water free of organic matter. This is important because, after washing fruits and vegetables, soil and plant material residues remain in the water, reducing the effectiveness of NaClO (Weng *et al.*, 2016). Furthermore, the bad performance of hypochlorite may be due to its absorption by proteins and other organic compounds (e.g. amino acids), which limits its availability for disinfection (Hulkower *et al.*, 2011). Moreover, halomethanes, which are potential carcinogens, are formed when chlorine comes into contact with organic matter in water (Kingsley *et al.*, 2014). Due to the importance of coronaviruses in various fields, further studies are required to investigate the effect of hypochlorite against SARS-CoV-2, considering

Con base en estos antecedentes se deduce que el cloro debe estar en contacto directo con el virus, y no solo en contacto con la muestra, la cual contiene gran cantidad de materia orgánica.

### Perspectivas en la inactivación del SARS-CoV-2

Para reducir la permanencia del SARS-CoV-2 en superficies de manijas de puertas y ventanas, cocina, superficies de inodoros y grifos, pantallas táctiles y superficies de trabajo, diversas organizaciones de salud recomiendan el uso del NaClO a una concentración de 0.05% a 0.1% (500 a 1000 ppm) (WHO, 2020a). Las altas concentraciones de NaClO recomendadas pueden lograr un efecto sobre SARS-CoV-2, ya que al ser un virus con cubierta lipoproteica, como el de la influenza y otros coronavirus, son mucho más vulnerables a desinfectantes químicos que otros virus sin esa propiedad del tipo de los norovirus. Esto fue inferido por los trabajos de Maris (1989) y Lai *et al.* (2020), quienes requirieron soluciones desinfectantes de 20 a 500 veces más densas para eliminar virus sin cubierta lipoproteica (parvovirus) que las requeridas para matar coronavirus (WHO, 2020b). Es necesario considerar que las soluciones de hipoclorito deben prepararse con agua libre de materia orgánica, debido a que, después del lavado de frutas y vegetales, quedan residuos de suelo y material vegetal, reduciendo la efectividad del NaClO en el agua (Weng *et al.*, 2016). También el bajo rendimiento del hipoclorito puede deberse al consumo de éste por las proteínas y otros compuestos orgánicos (p. ej., aminoácidos) presentes, por lo que limitan su disponibilidad para desinfección (Hulkower *et al.*, 2011). Adicionalmente, el cloro al entrar en contacto con la materia orgánica en el agua, forma halometanos, potenciales compuestos carcinógenos (Kingsley *et al.*, 2014). Por la importancia que los coronavirus tienen en diversos ámbitos, son necesarios más es-

both the concentration and the time of contact, in order to determine if these factors can improve the virucidal activity of hypochlorite on inanimate surfaces after treatment.

tudios del efecto del hipoclorito contra el SARS-CoV-2, al evaluar tanto la concentración como el tiempo de contacto, con el fin de determinar si estos factores pueden mejorar la actividad viricida del hipoclorito en superficies después del tratamiento.

## LITERATURE CITED

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

- Avila-Quezada G, Sánchez E, Gardea-Béjar AA and Acedo-Félix E. 2010. *Salmonella* spp. and *Escherichia coli*: survival and growth in plant tissue. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 38(2):47-55. <https://doi.org/10.1080/01140671003767834>
- Avila-Quezada G, Sánchez E, Muñoz E, Martínez LR and Villalobos E. 2008. Diagnosis of the microbiological quality of fruits and vegetables in Chihuahua, Mexico. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 77:129-136. <https://doi.org/10.32604/phyton.2008.77.129>
- Barrette W, Albrich J and Hurst J. 1987. Hypochlorous acid-promoted loss of metabolic energy in *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* 55(10): 2518-2525. <https://ia.asm.org/content/ia/55/10/2518.full.pdf>
- Campagna MV, Faure-Kumar E, Treger JA, Cushman JD, Grogan TR, Kasahara N and Lawson GW. 2016. Factors in the selection of surface disinfectants for use in a laboratory animal setting. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 55(2): 175-188. <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/jaalas/2016/00000055/00000002/art00009#>
- Chen CJ, Chen CC and Ding SJ. 2016. Effectiveness of hypochlorous acid to reduce the biofilms on titanium alloy surfaces in vitro. *International Journal of Molecular Sciences* 17(7): 1161. <https://doi.org/10.3390/ijms17071161>
- Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen H-L, Chan MCW, Peiris M and Poon LML. 2020. Stability of SARS-CoV2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe* 1(1): E10. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3)
- DaCruzNizerWS, Inkovskiy V and Overhage J. 2020. Surviving reactive chlorine stress: Responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid. *Microorganisms* 8(8): 1220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081220>
- Dever G, Wainwright CL, Kennedy S and Spickett CM. 2006. Fatty acid and phospholipid chlorohydrins cause cell stress and endothelial adhesion. *Acta Biochimica Polonica* 53(4): 761-768. [https://doi.org/10.18388/abp.2006\\_3304](https://doi.org/10.18388/abp.2006_3304)
- Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F and Koopmans M. 2004. Inactivation of caliciviruses. *Applied and Environmental Microbiology* 70(8): 4538-4543. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.8.4538-4543.2004>
- Fukuzaki S. 2006. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Science* 11(4): 147-157. <https://doi.org/10.4265/bio.11.147>
- Gheraout D. 2017. Microorganisms' electrochemical disinfection phenomena. *EC Microbiology* 9: 160-169. [https://www.academia.edu/33867440/Microorganisms\\_Electrochemical\\_Disinfection\\_Phenomena](https://www.academia.edu/33867440/Microorganisms_Electrochemical_Disinfection_Phenomena)
- Gil MI, Selma MV, Suslow T, Jacxsens L, Uyttendaele M and Allende A. 2015. Pre-and postharvest preventive measures and intervention strategies to control microbial food safety hazards of fresh leafy vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(4): 453-468. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.657808>
- Hirneisen KA and Kniel KE. 2013. Inactivation of internalized and Surface contaminated enteric viruses in green onions. *International Journal of Food Microbiology* 166(2): 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.013>
- Hulkower RL, Casanova LM, Rutala WA, Weber DJ and Sobsey. 2011. Inactivation of surrogate coronaviruses on hard surfaces by health care germicides. *American Journal of Infection Control* 39(5): 401-407. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.08.011>
- Kampf G, Todt D, Pfaender S and Steinmann E. 2020. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection* 104(3): 246-251. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>
- Kiamco MM, Zmuda HM, Mohamed A, Call DR, Raval YS, Patel R and Beyenal H. 2019. Hypochlorous-acid-generating electrochemical scaffold for treatment of wound biofilms. *Scientific Reports* 9: 2683. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38968-y>
- Kingsley DH, Vincent EM, Meade GK, Watson CL and Fan X. 2014. Inactivation of human norovirus using chemical sanitizers. *International Journal of Food Microbiology* 171(3): 94-99. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.018>
- Lafaurie GI, Calderón JL, Zaror C, Millán LV and Castillo DM. 2015. Ácido Hipocloroso: una nueva alternativa como agente antimicrobiano y para la proliferación celular para uso en odontología. *International Journal of Odontostomatology* 9(3): 475-481. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2015000300019>
- Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ and Hsueh PR. 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19):



- The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents* 55(3): 105924. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>
- Lin Q, Lim JY, Xue K, Yew PYM, Owh C, Chee PL and Loh XJ. 2020. Sanitizing agents for virus inactivation and disinfection. *View* 1(2): e16. <https://doi.org/10.1002/viw.2.16>
- Maris P. 1989. Virucidal efficacy of eight disinfectants against pneumovirus, coronavirus and parvovirus. *Annals of Veterinary Research* 21(4): 275-279. <https://europepmc.org/article/med/2288453>
- Molina-Chavarria A, Félix-Valenzuela L, Silva-Campa E and Mata-Haro V. 2020. Evaluation of gamma irradiation for human norovirus inactivation and its effect on strawberry cells. *International Journal of Food Microbiology* 330: 108695. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108695>
- Nussbaumer-Streit B, Mayr V, Dobrescu AI, Chapman A, Persad E, Klerings I, Wagner G, Siebert U, Ledingger D, Zachariah C and Gartlehner G. 2020. Quarantine alone or in combination with other public health measures to control COVID-19: a rapid review. *Cochrane Database of Systematic Reviews* Art. No. CD013574 9:1-77. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013574.pub2>
- Oirsa. 2020. Guía para uso de cloro en desinfección de frutas y hortalizas de consumo fresco, equipos y superficies en establecimientos <https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf>. (consulta: noviembre, 2020)
- Owoseni M and Okoh A. 2017. Evidence of emerging challenge of chlorine tolerance of *Enterococcus* species recovered from wastewater treatment plants. *International Biodeterioration & Biodegradation* 120: 216-223. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.016>
- Patel P, Sanghvi S, Malik K and Khachemoune A. 2020. Back to the basics: Diluted bleach for COVID-19. *Journal of the American Academy of Dermatology* 83(1): 279-280. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.04.033>
- Radovic-Moreno AF, Lu TK, Puscasu VA, Yoon CJ, Langer R and Farokhzad OC. 2012. Surface charge-switching polymeric nanoparticles for bacterial cell wall-targeted delivery of antibiotics. *ACS Nano* 6(5): 4279-4287. <https://doi.org/10.1021/nn3008383>
- Riddell S, Goldie S, Hill A, Eagles D and Drew TW. 2020. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Virology Journal* 17: 145. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01418-7>
- Sam CH and Lu HK. 2009. The role of hypochlorous acid as one of the reactive oxygen species in periodontal disease. *Journal of Dental Sciences* 4: 45-54. [https://doi.org/10.1016/S1991-7902\(09\)60008-8](https://doi.org/10.1016/S1991-7902(09)60008-8)
- Sattar, S. 2004. Microbicides and the environmental control of nosocomial viral infections. *Journal of Hospital Infection* 56(2): 64-69. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2003.12.033>
- Spickett CM, Jerlich A, Panasencko OM, Arnhold J, Pitt AR, Stelmaszyńska T and Schaur J. 2000. The reactions of hypochlorous acid, the reactive oxygen species produced by myeloperoxidase, with lipids. *Acta Biochimica Polonica* 47(4): 889-899. [http://www.actabp.pl/pdf/4\\_2000/889.pdf](http://www.actabp.pl/pdf/4_2000/889.pdf)
- Torres-Armendáriz, V, Manjarrez-Domínguez CB, Acosta-Muñoz CH, Guerrero-Prieto VM, Parra-Quezada RA, Noriega-Orozco LO and Ávila-Quezada GD. 2015. Interactions between *Escherichia coli* O157:H7 and food plants. Has this bacterium developed internalization mechanisms? *Mexican Journal of Phytopathology* 34(1): 64-83. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-4>
- Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI, Lloyd-Smith JO, Wit E and Munster VJ. 2020. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *The New England Journal of Medicine* 382: 1564-1567. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
- Weng S, Luo Y, Li J, Zhou B, Jacangelo JG and Schwab KJ. 2016. Assessment and speciation of chlorine demand in fresh-cut produce wash water. *Food Control* 60: 543-551. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.031>
- WHO. 2020a. Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/cleaning-and-disinfection-of-environmental-surfaces-in-the-context-of-covid-19>. (consulta, noviembre 2020).
- WHO. 2020b. Water, sanitation, hygiene and waste management for COVID-19: technical brief, 03 March 2020. World Health Organization. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331305/WHO-2019-NCoV-IPC\\_WASH-2020.1-eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331305/WHO-2019-NCoV-IPC_WASH-2020.1-eng.pdf) (consulta, noviembre 2020).
- Williams MM and Braun-Howland EB. 2003. Growth of *Escherichia coli* in model distribution system biofilms exposed to hypochlorous acid or monochloramine. *Applied and Environmental Microbiology* 69(9): 5463-5471. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5463-5471.2003>
- Zoffoli JP, Latorre BA, Daire N and Viertel S. 2005. Efectividad del dióxido de cloro, en función de la concentración, pH y tiempo de exposición en el control de *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer*. *Ciencia e Investigación Agraria* 32(3): 181-188. <https://dioxido.com.uy/Efectividad-del-Dioxido-de-Cloro.pdf>