

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia



EFICIENCIA DEL PROCESO DE DESINFECCIÓN DE AMBIENTES DE LA CLÍNICA DE PEQUEÑOS ANIMALES CON EL EMPLEO DEL OZONO (O₃), COMO AGENTE DESINFECTANTE PARA DISMINUIR LA CONTAMINACIÓN

EFFICIENCY OF THE ENVIRONMENTAL DISINFECTION PROCESS OF THE CLINIC OF SMALL PETS WITH THE USE OF OZONE (O₃), AS A DISINFECTANT AGENT TO REDUCE POLLUTION

Tesis presentada por el Bachiller:

Ponce Villanueva, Juan Alberto

Para optar el Título Profesional de:

Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

**Dr. Cuadros Medina, Santiago
Baltazar**

Arequipa – Perú

2023

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DICTAMEN DE APROBACIÓN DE BORRADOR
TITULACIÓN CON TESIS

Arequipa, 18 de Marzo del 2023

Dictamen: 004370-C-EPMVZ-2023

Visto el Borrador del expediente 004370, presentado por:

2016121041 - PONCE VILLANUEVA JUAN ALBERTO

Titulado:

EFICIENCIA DEL PROCESO DE DESINFECCIÓN DE AMBIENTES DE LA CLÍNICA DE PEQUEÑOS ANIMALES CON EL EMPLEO DEL OZONO (O₃), COMO AGENTE DESINFECTANTE PARA DISMINUIR LA CONTAMINACIÓN

Nuestro dictamen es:

APROBADO

1884 - FERNANDEZ FERNANDEZ FERNANDO
DICTAMINADOR



3129 - ROMAN COYLA VERONICA MARIANELLA
DICTAMINADOR



1200 - HERNANDEZ TORI ADOLFO RAUL
DICTAMINADOR



DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mi hija:

Luciana Ponce

Es mi inspiración y que desde el día que nació cambio mi vida 360 grados; gracias a ella me propuse una meta, demostrarle que todo se puede si uno persevera, por tal razón, decidí continuar con mi gran sueño de ser Médico Veterinario y Zootecnista, de esa manera, ella sienta orgullo de ver a su padre hecho un profesional y que sin importar las dificultades y vicisitudes que existan en la vida, si uno se propone algo, lo puede cumplir. Para ti, hijita hermosa, dedico este trabajo que representa todo mi esfuerzo, dedicación y amor por ti.

AGRADECIMIENTO

- Agradezco en primer lugar a mi señora madre Juana Nilda, gracias a ella y su esfuerzo pudimos educarnos, y ser personas de bien; inculcándonos valores, enseñándome a apreciar lo poco que uno posee; además de cuidarnos, protegernos, aconsejarnos y enrumbarnos por el buen camino.
- A mi asesor de tesis Dr. Santiago Cuadros Medina, que desde las aulas siempre fue un amigo.
- A mis docentes, quienes en estos cinco años de carrera universitaria me formaron profesionalmente y los cuales brindaron su amistad, en forma especial al Dr. Fernando Fernández Fernández, a quien le tengo un gran afecto, gracias por sus enseñanzas y consejos.
- A mis hermanos y familia, que estuvieron pendientes de mis avances profesionales dándome su apoyo para seguir adelante, algunos que ya no están con nosotros sino al lado de Dios.
- A Pedrito, que desde el cielo debe sentirse orgulloso de que haya logrado este sueño y desde ahí seguirá disfrutando cada triunfo que tengamos.
- A mis compañeros de trabajo, que con su apoyo moral y compromiso me dieron el espacio necesario para llegar a mi centro de estudio y cumplir con mis labores universitarias de forma correcta.
- A mis compañeros, que me apoyaron siempre brindándome su amistad de forma incondicional, dándome consejos, compartiendo experiencias, alegrías, enojos y tristezas.

RESUMEN

El presente trabajo de tesis como objetivo principal es la evaluación del proceso de desinfección de ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía con el empleo del ozono (O_3), como agente desinfectante para disminuir la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias: UFC por metro cúbico de ambiente, para lo cual, se tomaron muestras de 5 diferentes ambientes antes y después de la desinfección con Ozono, mediante un equipo colector de muestras Biological Air Sampler®, aspirando 1 m^3 de aire de cada ambiente que se recepcionó en tres sustratos de crecimiento bacteriano o medios de cultivos: Agar Nutritivo y Agar Chromocult Coliformes-ES y Sabouraud Dextrosa Potato, para luego ser incubados por 24 y 48 horas a 37°C y determinar la cantidad de Mesófilos aeróbicos totales en Agar Nutritivo, y *Escherichia coli*, Coliformes totales, Enterobacterias en Agar Chromocult Coliformes-ES y Hongos y Levaduras en Agar Sabouraud Dextrosa Potato. Al comparar la cantidad de UFC en cada medio de cultivo, a las 24 y 48 horas, no se encontraron diferencia estadística, motivo por el cual se tomaron resultados de recuento de colonias para el presente estudio de las muestras incubadas a 48 horas.

Los resultados obtenidos con ozono por m^3 cúbico de ambiente fueron 0 UFC de *Escherichia coli* para ambos casos antes y después de la desinfección; para Coliformes totales se obtuvo un promedio de UFC de 2 antes de la desinfección y 1 UFC después de la desinfección; para enterobacterias se obtuvieron 3 UFC antes de la desinfección y 2 UFC después de la desinfección; para Aerobios Mesófilos Totales se obtuvieron 766 UFC antes de la desinfección y 202 UFC después de la desinfección, además para hongos y levaduras, se obtuvieron 236 UFC antes de la desinfección y 83 UFC después de la desinfección. El porcentaje de disminución de UFC para cada uno de los ambientes de la Clínica después de la desinfección con Ozono fue de 71.4% para Coliformes Totales, 30% para Enterobacterias; 73.6 para Mesófilos Aerobios Totales y de 65% para Hongos y Levaduras.

Como conclusión general se puede asegurar que la desinfección con Ozono para ambientes es beneficioso y efectivo por disminuir un gran porcentaje de Unidades Formadoras de Colonia (UFC).

Palabras claves: Desinfección, Ozono (O_3), Unidades formadoras de colonia (UFC). Ambientes de la Clínica Veterinaria.

ABSTRACT

The main objective of this thesis work is the evaluation of the disinfection process of small pet clinic environments with the use of ozone (O_3), as a disinfectant agent to reduce the number of Colony Forming Units: UFC per cubic meter of environment, for which, samples were taken from 5 different environments before and after disinfection with Ozone, by means of a sampler collector equipment (Biological Air Sampler®), aspirating one m^3 of air from each environment that was upset in three growth substrates. bacterial or culture media: Nutrient Agar, Chromocult Coliforms-ES Agar, and Sabouraud Dextrose Potato, to then be incubated for 24 and 48 hours at $37^\circ C$ to determine the amount of total aerobic Mesophiles in Nutrient Agar, and Escherchia coli, total Coliforms, Enterobacteria on Chromocult Coliforms-ES Agar and Fungi and Yeasts on Sabouraud Dextrose Potato Agar. When comparing the amount of CFU in each culture medium, at 24 and 48 hours, no statistical difference was found, which is why colony count results were taken for the present study from the samples incubated at 48 hours.

The results obtained with ozone per cubic m^3 of environment were 0 (cero) CFU of Escherichia coli for both cases before and after disinfection; For total coliforms, an average 2 CFU was obtained before disinfection and 1 CFU after Ozone disinfection; for enterobacteria, 3 CFU were obtained before disinfection and 2 CFU after Ozone disinfection; for Total Mesophilic Aerobes, 766 CFU were obtained before disinfection and 202 CFU after Ozone disinfection, in addition to fungi and yeasts, 236 CFU were obtained before disinfection and 83 CFU after Ozone disinfection. The percentage decrease in CFU for each of the Clinic's environments after disinfection with Ozone was 71.4% for Total Coliforms, 30% for Enterobacteria; 73.6 for Total Aerobic Mesophiles and 65% for Fungi and Yeasts.

As a general conclusion, it can be ensured that ozone disinfection for Veterinary clinic environments is beneficial and effective because it reduces a large percentage of Colony Forming Units (CFU).

Keywords: Disinfection, Ozone (O_3), Colony Forming Units (CFU). Environments of the Veterinary Clinic.

INDICE

	Págs.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Enunciado del Problema.....	3
1.2. Descripción del problema.....	3
1.3. Justificación del trabajo	3
1.3.1. Aspecto general	3
1.3.2. Aspecto tecnológico	4
1.3.3. Aspecto social	4
1.3.4. Aspecto económico	4
1.3.5. Importancia.....	5
1.4. Objetivos.....	5
1.4.1. Objetivos generales	5
1.4.2. Objetivos específicos.....	5
1.5. Hipótesis	6
CAPÍTULO II	7
2. MARCO TEORICO	8
2.1. Análisis bibliográfico	8
2.1.1. Contaminación Atmosférica.....	8
2.1.2. Contaminación del aire.....	8
2.1.3. Bioaerosoles	9
2.1.4. Aerobiología.....	10
2.1.5. Microorganismos en el Aire	10
2.1.6. Mesófilos	11
2.1.7. Hongos y levaduras	11
2.1.8. Factores que contribuyen a la permanencia de los microorganismos en el aire	12

2.1.9. Hábitat y aspectos epidemiológicos	13
2.1.10. La determinación de microorganismos coliformes	15
2.1.11. Agar para coliformes Chromocult® para detección y enumeración de <i>E. coli</i> y bacterias coliformes.....	15
2.1.12. La Bioseguridad efectiva.....	18
2.1.13. Calidad del Aire en Clínicas.....	20
2.1.14. Desinfección de ambientes con Ozono (O ₃)	20
2.1.15. Efecto del ozono sobre bacterias y virus	21
2.2. Antecedentes de investigación.....	23
2.2.1. Análisis de tesis	23
2.2.2. Análisis de trabajos de investigación	26
CAPÍTULO III	28
3. MATERIALES Y METODOS	29
3.1. Materiales	29
3.1.1. Localización del trabajo	29
3.1.2. Materiales biológicos	29
3.1.3. Materiales de laboratorio.....	29
3.1.4. Materiales de campo.....	30
3.1.5. Equipos y maquinarias	30
3.2. Métodos	30
3.2.1. Muestreo.....	30
3.2.2. Métodos de evaluación.....	33
3.3. Variables de respuesta	36
3.3.1. Variables independientes.....	36
3.3.2. Variables dependientes.....	36
3.3.3. Cuadro de Operacionalización de variables	36
3.4. Evaluación estadística.....	37
3.4.1. Diseño Experimental	37
CAPÍTULO IV	38
4. RESULTADOS Y DISCUSION	39
4.1. Resultados.....	39
4.2. Discusión	48

CAPÍTULO V	49
5. CONCLUSIONES	50
CAPÍTULO VI.....	51
6. RECOMENDACIONES	52
CAPÍTULO VII.....	53
7. REFERENCIAS.....	54
8. ANEXOS.....	61



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1:	Recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por metro cúbico de ambiente antes y después de la desinfección	39
Cuadro N° 2:	Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por m ³ de ambiente a las 48 horas de incubación antes y después de la desinfección con Ozono	41
Cuadro N° 3:	Porcentaje de disminución Total de Unidades Formadoras de Colonias por ambiente, después de la desinfección	42
Cuadro N° 4:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Escherichia coli</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	43
Cuadro N° 5:	Estadístico de Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Escherichia coli</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	43
Cuadro N° 6:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Coliformes totales</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	44
Cuadro N° 7:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Enterobacterias</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	45
Cuadro N° 8:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Mesófilos Aerobios Totales</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	46
Cuadro N° 9:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Hongos y Levaduras</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	47

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1:	Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Antes de la desinfección, con incubación 24 y 48 horas	40
Gráfico N° 2:	Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Después de la desinfección, con incubación 24 y 48 horas	40
Gráfico N° 3:	Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por m ³ de ambientes Después de la desinfección con Ozono, con incubación de 48 horas	41
Gráfico N° 4:	Porcentaje de disminución Total de Unidades Formadoras de Colonias por ambiente, después de la desinfección	42
Gráfico N° 5:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Coliformes totales</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	44
Gráfico N° 6:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Enterobacterias</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	45
Gráfico N° 7:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Mesófilos Aerobios Totales</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	46
Gráfico N° 8:	Unidades Formadoras de colonias (UFC) de <i>Hongos y Levaduras</i> en ambientes antes y después de la desinfección.....	47

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	62
ANEXO N° 2	UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	63
ANEXO N° 3	CONSTANCIA DE INCUBACIÓN DE MUESTRAS, LABORATORIO VETERINARIO ANILAB.....	64
ANEXO N° 4	MATRIZ DE DATOS.....	65
ANEXO N° 5	FOTOGRAFÍAS	66





1. INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica se define como la presencia, en las distintas capas de aire que componen la atmósfera terrestre, de sustancias y formas de energía ajenas a su constitución natural que pueden representar una fuente de riesgos, daños y molestias para la vida (1).

Existen diferentes contaminantes atmosféricos, clasificados como primarios que son emitidos directamente al aire, los secundarios que son sustancias originadas en la atmósfera y requieren de precursores contaminantes primarios y los de referencia o de criterio, los cuales están regulados y tienen límites máximos permitidos de concentración en el aire con el objetivo de proteger la salud (2).

La contaminación ambiental ha pasado, desde hace años, a tener una atención prioritaria por parte de científicos, tecnólogos y autoridades que gestionan la producción de los bienes y servicios necesarios para la vida sobre el planeta; esta gestión antes se desarrollaba con bases en insuficiencias en cuanto a lo sostenible y sustentable, en cuanto al ambiente en el que se ejecutan. La protección de los bienes agua, aire y suelo se ha convertido en el principal objeto de observancia en cualquier actividad que en estos o con estos se desarrolle (3).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2006 reportó que el 24% de la carga de enfermedad se atribuye a factores ambientales (4).

Existe el uso de la ozonización en la potabilización del agua de consumo humano, explicando la generación y destrucción del ozono residual. Muchos trabajos se han realizado sobre la industria y la contaminación de los bienes ambientales y, precisamente en este estudio, se atiende a los problemas de contaminación del aire de ambientes de trabajo, donde, la función ambiental principal es la preservación de la calidad del aire que respiran los trabajadores encargados de la producción (5). Los purificadores de aire mediante oxígeno activado (ozono) son muy eficientes para remover olores y contaminaciones microbiológicas, ácaros, bacterias, moho, etc (6; 3).

La calidad del aire en espacios cerrados o intradomiciliarios, es uno de los factores más importantes en la calidad de vida de los individuos; puesto que pasamos del 80 a 90% de nuestro tiempo en espacios cerrados (7).

1.1. Enunciado del Problema

Eficiencia del proceso de desinfección de ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía con el empleo del ozono (O_3), como agente desinfectante para disminuir la contaminación.

1.2. Descripción del problema

El ambiente intramuros, o espacios cerrados, puede afectar la salud de los ocupantes de un lugar en tres formas distintas: alergias, hipersensibilidad y los efectos del lugar enfermo que normalmente se reconocen como malestar, sensaciones de frío o calor, entre otros. En este sentido la contaminación microbiológica que se derive de los tratamientos médicos aplicados a los pacientes o de la que los mismos portan, de manera natural, ha llamado la atención de los investigadores en los últimos años, como posible causa de enfermedades relacionadas con el ambiente. Asimismo, preocupante las condiciones en las que laboran el personal en los hospitales y clínicas veterinarias, que se exponen a condiciones con cierto nivel de riesgo para su salud (7).

Los agentes biológicos influyen en la calidad del aire de los interiores de viviendas, clínicas, tiendas, espacios públicos, donde los causantes de problemas son los hongos, bacterias, virus, protozoarios, insectos, roedores, etc.; por ello, la desinfección de dichos ambientes es muy importante para evitar, reducir cualquier tipo de enfermedad infectocontagiosa.

1.3. Justificación del trabajo

1.3.1. Aspecto general

Todos los días la afluencia en una Clínica Veterinaria es diferente, ingresan pacientes en estados críticos causados por algún microorganismo. Dichos pacientes comparten varios ambientes lo cual podría ser más perjudicial para su salud.

No solo es importante conocer o identificar al microorganismo potencial de causar alguna infección severa, además, es importante saber el número de microorganismos implicados, para establecer si serán capaces de desarrollar una función benéfica o perjudicial (8).

Tener una desinfección constante ayudará a reducir la carga de microorganismos en los diferentes ambientes.

1.3.2. Aspecto tecnológico

En el presente trabajo de investigación realizaremos análisis de laboratorio para el reconocimiento y recuento de Unidades formadoras de colonias (UFC) de los microorganismos a encontrar en los diferentes ambientes de la Clínica Veterinaria, para este proceso, se utilizarán medios Agar Nutritivo, Sabouraud Dextrose y un equipo como el colector de muestras Biological Air Sampler.

1.3.3. Aspecto social

En una Clínica Veterinaria existe una transmisión de microorganismos entre clientes, pacientes y personal médico, lo que causa un aumento de morbilidad en infecciones entre todos los asistentes.

Con el presente trabajo de investigación, se pretende buscar soluciones para la reducción de carga de microorganismos, ya que como médicos veterinarios somos responsables de salvaguardar la salud animal.

1.3.4. Aspecto económico

En relación con el medio ambiente, la transmisión de enfermedades puede ser favorecida a través de herramientas de trabajo y superficies contaminadas; sin embargo, en las últimas décadas ha quedado demostrado el rol del aire en la transmisión de microorganismos y otras sustancias nocivas para la salud, no solo de los pacientes hospitalizados, sino también del personal y visitantes de estos centros.

Las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria elevan los costos, prolongan la estadía hospitalaria e incrementando la mortalidad (9).

Si logramos regular los protocolos de limpieza y desinfección en las Clínicas Veterinarias, se podrá mejorar el trabajo realizado con los clientes, ya que habrá menos infección y contagio causado por los microorganismos del aire y esto se

verá reflejado en el aumento de clientes y/o pacientes; por tanto, el incremento económico de las Clínicas Veterinarias.

1.3.5. Importancia

La identificación de microorganismos en los diferentes ambientes en la Clínica Veterinaria y la eficiencia del proceso de desinfección de ambientes de la clínica de pequeños con el empleo del ozono (O_3), como agente desinfectante para disminuir la contaminación permitirá regular los protocolos de limpieza de la clínica generando un ambiente adecuado con calidad de aire para los clientes, pacientes y personal de trabajo.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivos generales

- Evaluar la eficiencia del proceso de desinfección de ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía con el empleo del ozono (O_3), como agente desinfectante para disminuir la contaminación.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje (%) de UFC a las 24 y 48 horas antes y después de la desinfección con Ozono (O_3).
- Determinar la cantidad UFC *Escherichia coli* en ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía.
- Determinar la cantidad UFC Coliformes en ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía.
- Determinar la cantidad UFC Enterobacterias en ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía.
- Determinar la cantidad UFC mesófilos aerobios totales en ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía.
- Determinar la cantidad UFC Hongos y levaduras totales en ambientes de la clínica de pequeños animales de compañía.

1.5. Hipótesis

Dado que día a día, en las Clínicas Veterinarias existe un tránsito de pacientes críticos, lo cual genera una contaminación ambiental de las diferentes áreas del lugar, es probable: que realizando una desinfección con el empleo del Ozono (O_3), se pueda disminuir la contaminación de ambientes por microorganismos por metro cúbico de aire.





2. MARCO TEORICO

2.1. Análisis bibliográfico

2.1.1. Contaminación Atmosférica

El aire está constituido por una mezcla de gases que contienen aproximadamente 78% de Nitrógeno, 21% Oxígeno y 1% de Argón. Estos elementos, unidos a 0.03% de Anhídrido Carbónico, constituyen el 99.99% del aire seco (10).

Según Solysbeht, F. (2001) la contaminación atmosférica es, producida por sustancias no deseadas que ingresan a la atmósfera; asimismo, es una mezcla de partículas sólidas y gases provenientes de automóviles, fábricas, polvo, incendios, erupciones volcánicas, etc. El ozono es un componente de la contaminación en las ciudades. La contaminación de este medio es un problema que se complica más en las ciudades, afectando el aire en todos lugares. Estas sustancias incluyen varios gases y partículas minúsculas (PM) que perjudican la salud humana, animales y del medio ambiente. Algunos contaminantes pueden ser tóxicos, la inhalación de estos incrementan la posibilidad de tener problemas de salud (11).

De acuerdo a Solís, E. (2007) la presencia y concentración de microorganismos también hace parte de la contaminación y dependerá de la actividad agrícola e industrial que se desarrolle en la zona, al igual que la presencia de seres vivos y cantidad de polvo. El tiempo de permanencia de los microorganismos dependerá de su forma, tamaño, peso y de potencias aéreas que las sostengan y eleven. Los obstáculos que se encuentren en la corriente disminuyen la dispersión de éstos; ya que se presentan una reducción en la velocidad del viento y la potencia de arrastre de las partículas del suelo (12).

2.1.2. Contaminación del aire

Según Jara, E.; Piraquive, J. (2016) la contaminación del aire es uno de los problemas ambientales que más impacto tiene sobre los seres vivos. Es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos procedentes de otros ambientes, que pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles, con el movimiento del aire, usando como medio de transporte el material particulado (PM10), alcanzando diversos medios e instalándose en ellos. Al llegar a su nuevo medio, empiezan a comportarse como agentes patógenos que pueden afectar la salud del huésped (paciente), lo que se

conoce como transmisión nosocomial. La presencia de los microorganismos genera un riesgo biológico, afectando la calidad del aire intramural del lugar donde se encuentre, enfermando a quienes se expongan (10).

De acuerdo Vasco (1997) la mala calidad del aire pone a consideración otro factor importante, que es la exposición que tiene el personal dentro de las entidades, llegando a generar posibles factores de riesgo por la exposición frente a estos agentes aerotransportados en el aire que pueden incidir en la calidad del aire de la unidad (13). El control en la calidad de aire intramural ha sido una herramienta fundamental en la prevención de infecciones al interior de los centros hospitalarios, debido a que gran parte de los pacientes tienen las defensas bajas, por lo que requieren una protección continua de los mismos y al mismo tiempo del personal que trabajan en las instalaciones, teniendo cuenta que cada uno de ellos tiene diferentes grados de susceptibilidad (10).

2.1.3. Bioaerosoles

Calleja, A. H. (1996) afirma que los bioaerosoles se pueden definir como partículas transportadas por el aire, constituidos por partículas finas, moléculas de tamaño grande, compuestos orgánicos volátiles que están vivos o que proceden de un organismo vivo. En los bioaerosoles se pueden encontrar los microorganismos (cultivables, contables y muertos), fragmentos, toxinas y partículas producto de residuos de todo tipo, cuyo origen es la materia viva.

La supervivencia y dispersión de los bioaerosoles en el aire, depende de las condiciones del entorno al cual estén expuestos, ya que factores como la temperatura, el movimiento del aire, la luz y la cantidad de sustrato que encuentren para alimentarse en el medio, van a determinar la cantidad de microorganismos presentes (14).

La OMS (2002), caracterización de bioaerosoles se ha convertido en un tema importante porque relaciona los efectos sobre la salud con el control de la calidad del aire interno (IAQ), el cual juega un papel importante en la prevención de infecciones en hospitales para proteger tanto a pacientes, como al personal que labora, especialmente a pacientes inmunosuprimidos e inmunocomprometidos, quienes tienen alta susceptibilidad a los efectos adversos causados por productos químicos y/o microbios aerotransportados (15).

Generados por una variedad de procesos, tanto naturales como humanos, que incluyen la tos, estornudos, la acción de las olas, el viento, sistemas de ventilación, etc. La inhalación, ingestión, y el contacto dérmico son algunas de las rutas con los bioaerosoles, pero la inhalación es la ruta predominante que resulta en efectos en la salud.

Según Álvarez, A. (2009) microorganismos como *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*; entre otros, son algunos de los microorganismos transmitidos por aerosoles. El asma, la neumonitis hipersensible y otras enfermedades respiratorias también están asociadas con la exposición a bioaerosoles (16).

2.1.4. Aerobiología

Lighthart (1994) el estudio de microorganismos en el aire no sólo se limita a la transmisión y afecciones en las vías respiratorias de los humanos; también son de interés los patógenos para las plantas, los patógenos oportunistas, los no patógenos y los subproductos del metabolismo microbiano en forma de aerosoles, bacterias aéreas cultivables y no cultivables. Así como también, pueden tener un efecto adverso para el medio ambiente los saprofitos, hongos, parásitos libres, virus y algas. La aerobiología, se ocupa del estudio de los bioaerosoles, llamado así al conjunto de partículas biológicas. Generalmente son formados como partículas sólidas o líquidas suspendidas en el aire, que tienen diferentes tamaños en un rango de 0.5 a 30 μm (17).

2.1.5. Microorganismos en el Aire

La atmósfera no tiene una biota autóctona, pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos (esporas, bacterias, virus y hongos), procedentes de otros ambientes. Algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y permanencia. Producen enfermedades en plantas, animales y humanos, alterar los alimentos y materiales orgánicos y contribuyen al deterioro y corrosión de monumentos y metales. Las enfermedades transmitidas por el aire, causadas por bacterias, virus y hongos, son las respiratorias (neumonía, tosferina, tuberculosis, legionelosis, resfriado, gripe), sistémicas (meningitis, sarampión, varicela, micosis) y alérgicas (18).

2.1.6. Mesófilos

Según Passalacqua, N.; Cabrera, J. (2014) en este grupo se incluyen todos los microorganismos, capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos, en condiciones establecidas, estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena.

En alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados. Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto (19).

2.1.7. Hongos y levaduras

Hongos, son eucariotas, organismos cuyas células poseen un núcleo definido que contiene el material genético celular, rodeado por una membrana nuclear. Constituyen el reino Fungi, pueden ser unicelulares (microscópicos) o pluricelulares (macroscópicos) (20). Pueden crecer en dos formas básicas: levaduras y mohos. Los hongos pueden reproducirse de forma sexual o asexual y se nutren absorbiendo materia orgánica en solución de su medio ambiente: suelo, agua o un huésped animal o vegetal. La mayor parte de los hongos se encuentran en la naturaleza y crecen con facilidad sobre fuentes simples de nitrógeno y carbono (21).

El desarrollo fúngico está supeditado a ciertas condiciones ambientales tales como la humedad relativa, temperatura, precipitación, inversiones térmicas, contaminación, disponibilidad de sustrato y actividades humanas, las que influyen de manera determinante en la proliferación y propagación de las partículas fúngicas hacia los espacios interiores (22).

Sáez, G. & colab. (2004), afirma que las esporas fúngicas son componentes normales de ambientes externos y pueden ser la fuente contaminante de los ambientes internos y muchos de estos pueden servir como sitios de amplificación para el crecimiento de los hongos. La inhalación sistémica de esporas y fragmentos de micelio de hongos puede producir una afección alérgica respiratoria, tanto en las vías aéreas superiores como en las inferiores. Los componentes alérgicos de hongos contienen moléculas como: glucoproteínas, proteínas y polisacáridos, estos pueden liberar reacciones de hipersensibilidad tipo I (23).

2.1.8. Factores que contribuyen a la permanencia de los microorganismos en el aire

De acuerdo con Herrera K, (2012) el desarrollo de microorganismos en el aire, está influenciado por su puesto por factores físicos tales como humedad relativa, temperatura, oxígeno, materia orgánica, ventilación, polvo, entre otros, pero lo primero que determina que una bacteria o un hongo se mantenga en el ambiente viable, es la cantidad de agua disponible que existe (24).

- **Humedad relativa.**

Es el factor más importante. Cuando la humedad relativa del aire decrece, disminuye el agua disponible para los microorganismos, lo que causa deshidratación y por lo tanto la inactivación de muchos de ellos. La desecación puede causar una pérdida de viabilidad en las capas más bajas de la atmósfera. El límite menor para el crecimiento de hongos es del 65% de humedad relativa; mientras que las bacterias requieren un porcentaje mayor (25).

- **Temperatura.**

Está muy relacionada con la humedad relativa, por lo que es difícil separar los efectos que producen ambas. A bajas temperaturas inclusive las de congelación, no se destruyen los microorganismos, solo se impide su multiplicación. Diversos estudios muestran, que el incremento de la temperatura disminuye la viabilidad de los microorganismos. Cada microorganismo posee una temperatura óptima de crecimiento y desarrollo, por lo cual la cantidad de los microorganismos, puede variar dependiendo de su clasificación y características intrínsecas (25).

- **Oxígeno.**

Se ha observado una correlación negativa entre la concentración de oxígeno y la viabilidad, que aumenta con la deshidratación y el tiempo de exposición. La causa de esta inactivación podría ser los radicales libres de oxígeno (25).

- **Enterobacterias**

Las Enterobacterias son una gran familia de bacterias gramnegativas reconocidas como un grupo importante en la industria alimentaria para monitorear la higiene y el saneamiento. Este grupo encierra una gama completa de microorganismos. Sus miembros abarcan desde bacterias como la *Salmonella* y la *E. coli*, bien conocidas por originar enfermedades transmitidas por los alimentos, hasta agentes de deterioro de los alimentos y diversos microorganismos que normalmente se encuentran en el tracto intestinal humano como parte de la flora intestinal. Su distribución ubicua hace que sea casi inevitable que algunos miembros de Enterobacteriaceae ingresen a la cadena alimentaria (26).

Las Enterobacterias se describen por ser anaerobios facultativos, con forma de varilla, negativos a la oxidasa, que fermentan la glucosa en ácido y/o dióxido de carbono. Generalmente móviles, tienden a tener una longitud de 1-5µm. Las Enterobacterias no patógenas se consideran “organismos indicadores” en la industria alimentaria, ya que su localización y enumeración puede indicar un procesamiento inadecuado y un saneamiento deficiente en el ambiente de procesamiento (26).

2.1.9. Hábitat y aspectos epidemiológicos

El intestino humano es reconocido como el hábitat y reservorio natural de *Shigella spp.*, aunque también se ha aislado de primates, como monos y chimpancés. *Shigella* se transmite en forma directa por vía fecal-oral en condiciones higiénicas deficientes y la infección puede obtenerse por ingesta de agua o alimentos contaminados con heces humanas (27; 28; 29).

La dosis infectiva es muy baja, ya que 10 a 100 microorganismos son suficientes para causar enfermedad (30). Distintos estudios postularon que esto podría atribuirse parcialmente a la presencia de sistemas de resistencia al ácido que permiten la

supervivencia en el ambiente del estómago, como se observó en *S. flexneri*. Asimismo, se ha demostrado que *Shigella spp.* es capaz de inhibir la expresión de péptidos antimicrobianos, que se producen constantemente en la mucosa del tracto intestinal (31).

La morbilidad y mortalidad asociadas a las infecciones por *Shigella spp.* son un problema importante de salud en el mundo, especialmente en países en desarrollo, donde las condiciones sanitarias son inadecuadas²⁴. Se estima que anualmente ocurren aproximadamente 165 millones de casos con 1.100.000 muertes (32; 33; 29).

En la Argentina, *Shigella spp.* está reconocida como el principal agente causal de diarreas bacterianas y afecta principalmente a los menores de cinco años²⁸. Los casos presentan un patrón estacional con aumento de las infecciones en el período estival. Se han observado numerosos brotes familiares, en el ámbito de instituciones cerradas como jardines maternos y comedores debido a la transmisión entre personas y/o por contaminación de alimentos durante su manipulación. También se registraron brotes en la comunidad, asociados a deficiencias en el tratamiento o disponibilidad de agua para consumo (29).

- *Escherichia coli*

Rodríguez E., Gamboa M., Hernández F., García J. (2008) refiere que son bacilos Gram negativos, fermentadores de glucosa y lactosa, negativo al citrato como fuente de carbono; existen numerosas cepas, siendo los principales patógenos intestinales: *E.C. Enterotoxigénicas*, *E.C. Enteropatógena*, *E.C. Enteroagregativas*, *E.C. Enterohemorrágica* y *E.C. Enteroinvasivas* (34).

E. coli es el nombre de un tipo de bacteria que vive en el intestino. La mayoría de las *E. coli* no causan problemas. Pero, algunos tipos producen enfermedades y causan diarreas. El peor tipo de *E. coli* causa una diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte. Esto, en general, ocurre en niños y en adultos con sistemas inmunitarios debilitados (35).

- *Coliformes*

Según Castro, C. & colab. (2007) las coliformes son una familia de bacterias que se hallan en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo los humanos. La presencia de bacterias coliformes es un indicio de que el agua puede estar contaminada con aguas negras u otro tipo de desechos en desintegración.

Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor cantidad en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo (36).

Marín B. (2005), afirma que la contaminación fecal ha sido y sigue siendo el principal riesgo sanitario en el agua, ya que supone la incorporación de microorganismos patógenos que pueden provocar enfermedades en la salud humana. Por ello, el control sanitario de riesgos microbiológicos es tan significativo, y constituye una medida sanitaria básica para mantener un grado de salud adecuado en la población (37).

2.1.10. La determinación de microorganismos coliformes

La determinación de microorganismos coliformes totales por el método del Número más Probable (NMP), se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 h., utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa (38). En la fase presuntiva el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lauril sulfato de sodio el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. Durante la fase confirmativa se emplea como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante el cual es selectivo y solo accede el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante. La determinación del número más probable de microorganismos coliformes fecales se realiza a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados a una temperatura de $44.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 a 48 h (39).

2.1.11. Agar para coliformes Chromocult® para detección y enumeración de *E. coli* y bacterias coliformes

En la nueva ISO 9308 Parte 1 (2014) se describe la técnica de filtración por membrana e incubación en agar cromogénico para coliformes para el recuento de *Escherichia coli* y de bacterias coliformes en: •agua potable • agua de piscina desinfectada • agua potable procedente de plantas de tratamiento de aguas. El agar para coliformes Chromocult® (CCA) Merck Millipore es el original: el único medio de cultivo cromogénico utilizado

en todos los estudios de validación que fueron realizados para preparar esta nueva norma ISO 9308-1 (40). Con este procedimiento se tarda en obtener resultados positivos mucho menos que las 48 horas necesarias en el método de la anterior ISO 9308 Parte 1 (2000), en el que se utilizaba agar Lactosado TTC; además, el nuevo método no requiere otros medios de cultivo para confirmar el resultado (41).

- **Principio**

El agar para coliformes Chromocult® es un medio de cultivo cromógeno diferencial para el análisis microbiológico de muestras. En un plazo de 24 horas este medio permite la detección, la diferenciación y la enumeración simultáneas de *E. coli* y bacterias coliformes. El recuento de coliformes se basa en la capacidad de la β -D-galactosidasa, una enzima que es característica de las bacterias coliformes, para escindir el sustrato Salmon-GAL. La reacción produce colonias de coliformes de color rojo asalmonado. El recuento de *E. coli* se basa en la escisión de los sustratos X-glucurónido por la β -D-glucuronidasa y Salmon-GAL por la β -D-galactosidasa, una combinación enzimática que es característica de *E. coli*. Cuando hay *E. coli* presente se escinden los dos sustratos, lo que da lugar a colonias que adquieren un color entre azul oscuro y violeta en oposición al rojo asalmonado de otras colonias de bacterias coliformes. Las bacterias no coliformes aparecen como colonias incoloras o, con baja frecuencia, de color turquesa. La formulación del CCA contiene, como inhibidor de las bacterias grampositivas, heptadecilsulfato sódico (por ejemplo, Tergitol 7®), que no tiene efectos negativos sobre el crecimiento de *E. coli* ni de las bacterias coliformes que se desean cultivar (40).

- **Ventajas**

- Del método de la nueva ISO-9308-1 (2014) con respecto a la ISO 9308-1 (2000): Ahorro de tiempo: hasta 24 horas más rápido que el antiguo método de agar Lactosado TTC.
- Resultados claros: recuento fácil de *E. coli* y las bacterias coliformes cuando se utiliza el CCA.
- Ahorro de dinero: no es necesario ningún otro medio de cultivo para confirmación. En cambio, en un minuto se puede confirmar la presencia de coliformes con una económica tira reactiva para determinar la actividad oxidasa.

- Más fácil: el método del CCA es más fácil de realizar que el método del agar Lactosado TTC (41; 40).

- **Métodos para Análisis Microbiológico**

Los principales métodos utilizados para identificar y contar la presencia de microorganismos.

1. Recuento en placa: método utilizado para la cuantificación del número de células viables o unidades formadoras de colonias (UFC).
2. Método del número más probable (NMP): es un cálculo estadístico del número de células viables. Se basa en determinar la presencia o ausencia de un determinado tipo de microorganismos.
3. Técnicas de reducción de colorantes: Se utiliza para el cálculo del número de células viables con capacidad reductora. Está basado en el uso de colorantes que pasan por un proceso de reducción.
4. Recuento microscópico directo, tanto para células viables como para las no viables y se prepara con porta objetos, se tiñe con un colorante adecuado y se cuentan las células.
5. El método más utilizado para el conteo de microorganismos es el de recuento en placa. Una ventaja muy importante de esta técnica es que mide el número de células viables, se requiere por lo general 24 horas para la formación de colonias visibles, aunque esta técnica no detecta a todos los microorganismos, pero si a los más significativos, por ejemplo, a Mesófilos Aerobios ya que son indicadores generales de la población que puede estar presente en la muestra (42).

- **Medidas generales de Bioseguridad**

Principios, técnicas y prácticas de seguridad, biocontención y biocustodia: Se llevan a cabo para evitar la exposición involuntaria a material de riesgo o su liberación accidental (43; 44).

Las clínicas veterinarias debiesen establecer la simbología a utilizar de acuerdo con sus necesidades y los procedimientos de seguridad y bioseguridad establecidos. En general los accesos a las diferentes dependencias del laboratorio debieran contar con señalética adecuada como:

- Uso de mascarilla
- Uso de calzado de seguridad
- Protección ocular
- Protección facial
- Temperatura extrema calor/quemaduras
- Temperatura extrema/congelación
- Uso de guantes
- Protección acústica (45; 44).

2.1.12. La Bioseguridad efectiva

Las empresas pueden hacer inversiones significativas en bioseguridad, pero el factor humano es el que falla y la bioseguridad depende en gran medida del lado humano del negocio.

Los empleados deben entender que el éxito de una empresa e incluso sus puestos de trabajo dependen de la correcta ejecución de los procedimientos de bioseguridad.

Todo el mundo en todos los niveles de la empresa necesita ver la bioseguridad como un deber y todos tienen que creer en ella. Es decir, todos han de entender la importancia de la bioseguridad para la empresa, para sí mismos y en el papel que desempeñan en ella.

Este tipo de cultura se desarrolla a través de la formación, la educación, las auditorías y, en general, una buena comunicación.

El incumplimiento de los procedimientos de bioseguridad debe haber consecuencias, aunque también al revés, mediante el reconocimiento por un trabajo bien hecho, lo que es un poderoso motivador.

Es importante ver la bioseguridad como el primer y más importante mecanismo de defensa que tienes para prevenir la introducción de enfermedades y también la propagación de esas enfermedades (46).

2.1.12.1. Bioseguridad psicológica: garantía de integridad, estabilidad y equilibrio psíquico.

En el campo de los trabajadores sanitarios, la intervención desplegada tiene un enfoque epidemiológico y clínico bien declarado, las acciones son dirigidas a disminuir los riesgos de contagio, aplicar los mejores tratamientos a los infectados y disminuir el riesgo de muerte, al tiempo que garantizar la seguridad de los encargados de realizar estas acciones (47; 48; 49). Sin embargo, los aspectos psicológicos que afectan a este personal son poco tratados.

Parte de la seguridad biológica es la estabilidad psicológica del personal que da el servicio sanitario, base primaria para que todo el procedimiento sea realizado con la calidad que se requiere.

Algunos autores y asociaciones se refieren a la necesidad de desarrollar acciones para mantener la salud mental, divulgada como producto del trabajo de psicólogos, asociaciones internacionales y sociedades de psicología, que han podido identificar este vacío en el despliegue de acciones desarrolladas en los diferentes países (50; 51; 47; 49).

La seguridad psicológica es un componente de la bioseguridad que garantiza la integridad, estabilidad y equilibrio psíquico (resiliencia) del personal encargado del manejo de pacientes en situaciones de emergencia sanitaria, y constituye la premisa fundamental para el cumplimiento con calidad de las estrategias que se desarrollen en esas circunstancias.

En el personal de salud, por lo general, hay una tendencia a posponer la gestión de sus propias inquietudes, preocupaciones y miedos hasta algún momento propicio o un punto de quiebre. Este es un estado temporal, que indica la ineficiente capacidad del sujeto para gestionar tanto las situaciones estresantes como sus propios estados emocionales.

Por tanto, el estado de expectación, inseguridad o incertidumbre sobre el futuro, el temor de convertirse en agente de contagio o ser contagiado, la ansiedad, el agotamiento físico y emocional, el estrés y otros signos, pueden esperarse en este personal y ello no quiere decir que esté incapacitado para hacer su trabajo con calidad o que sea una persona débil (50; 51; 52; 53; 49).

2.1.13. Calidad del Aire en Clínicas

En el caso de clínicas veterinarias, la calidad del aire supone un problema múltiple, al implicar no sólo a las mascotas, sino también a sus amos, que reclaman un aire limpio y sin olores y, en mayor medida, al personal laboral, expuesto a posibles contaminantes tóxicos durante toda la jornada (54; 10).

Tanto en las salas de espera, donde la contaminación del aire suele ser alta por la carga que portan los propios clientes y sus animales, como en las salas de trabajo, donde se generan cargas estáticas, compuestos químicos nocivos y se emiten partículas sólidas al aire (54; 10). Los quirófanos veterinarios cuentan con una tecnología de vanguardia equiparable en muchos casos a los quirófanos de medicina humana, sin embargo, raramente se controla la calidad del aire, especialmente las concentraciones de partículas cuya presencia es una fuente principal de infecciones. En términos de asepsia no es suficiente con limpiar paredes, superficies y materiales. El aire del quirófano está en contacto intrínseco con la superficie del paciente y es portador de patógenos (55; 10).

Los quirófanos veterinarios en la mayoría de ocasiones contienen unos niveles de partículas muy por encima (hasta 90 veces más) de los deseables para asegurar una adecuada calidad de aire en el que se realizan las intervenciones. Además, estos niveles se ven muy influenciados por las circunstancias del día, como el número de pacientes en la clínica, el número de animales hospitalizados, la naturaleza de la cirugía o la existencia o no de servicios de peluquería (55; 10).

2.1.14. Desinfección de ambientes con Ozono (O₃)

Según García J. (2020) afirma que, desde el punto de vista químico, el ozono es una forma alotrópica del oxígeno, cuya molécula está compuesta por tres átomos de oxígeno (O₃). Es un gas de color azul pardo que cuando se líquida se convierte en un líquido azul oscuro y depende de variables como la temperatura, el pH, concentración y algunos solutos. Su potencial de oxidación es alto (-2.07 V) comparado con el ácido hipocloroso (-1.49 V) o cloro (-1.36 V) convirtiéndole en un potente agente oxidante, lo que le confiere propiedades biocidas para ser utilizado como desinfectante en ambientes interiores. De hecho, el ozono es el desinfectante más eficiente para todo tipo de microorganismos, según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se puede decir, que el ozono no tiene límites en el número y especies de microorganismos que puede

eliminar y al ser un gas, tiene la capacidad de penetrar y ocupar todo el espacio de difícil acceso por difusión representando una gran ventaja respecto a otros desinfectantes. Además, el ozono tiene la posibilidad de poder usarse disuelto en agua (agua ozonizada) (56).

Se ha demostrado ampliamente que el ozono es eficaz en la eliminación de bacterias, virus, protozoos, nemátodos, hongos, agregados celulares y esporas debido a que ejerce su acción biológica por oxidación directa de la pared celular, vías radicales libres, formados en el proceso de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y en el de oxidación de proteínas, aminas y tioles (Pryor et al., 1995). Asimismo, la producción de radicales hidroxilos como consecuencia de la desintegración del ozono en el agua provoca un efecto similar al expuesto (56).

2.1.15. Efecto del ozono sobre bacterias y virus

Según García et al, afirmaron que, la relación a su efectividad contra bacterias, se ha observado que cepas bacterianas de *Salmonella* entérica y *Escherichia coli* se redujeron un logaritmo en los primeros 60 segundos de contacto con ozono (0,24 mg/L) y casi cuatro unidades logarítmicas a los 10 min (57). En referencia a los virus, su efectividad se basa en la alteración de varios de sus constituyentes como son proteínas, ácidos nucleicos y componentes de la cubierta vírica. Según Hudson et al. observaron la inactividad de 12 virus que testaron con un generador de ozono portátil, obteniendo el mayor poder antiviral del ozono en habitaciones con una humedad relativa mayor del 90% y una concentración de ozono gaseoso de 20 a 25 ppm. Recientemente, se ha observado la inactivación total de dos tipos de norovirus (TV y MNV-1) tanto mediante la aplicación de ozono disuelto como gaseoso, viéndose reducciones de 4,1 log desde los 10 minutos y la total inactivación a los 40 minutos, siendo la cantidad de reducción viral dependiente de las propiedades específicas de cada virus (58; 56).

En la desinfección de aire y superficies, el ozono tiene la principal ventaja de su alta capacidad de penetración, pues, al tratarse de un gas, puede expandirse en un espacio cerrado y alcanzar zonas que no se alcanzarían con otras técnicas de desinfección (por ejemplo, las lámparas de radiación UV, que solo son eficaces sobre microorganismos presentes en el aire o zonas cercanas a la zona de emisión/aplicación). Además, de

desintegra en oxígeno con una vida media de 20-60 min, por lo que no deja ningún residuo tóxico para los humanos ni contaminante para el medio ambiente (59; 56).

Brié et al. corroboraron esa eficacia, viendo la destrucción del norovirus MNV-1 en la superficie de frambuesas en menor tiempo a concentraciones mayores de ozono gaseoso (4ppm en 2 minutos). Además, demostraron que el ozono no afectaba la apariencia de dicha fruta, ni siquiera con exposiciones duraderas (40 minutos) a concentraciones mayores de ozono gaseoso (5 ppm), convirtiéndose en una buena alternativa para desinfectar comida sin alterarla (60). En este sentido, Chen et. al. estudiaron los efectos de diferentes dosis de ozono en la calidad postcosecha de melones durante el almacenamiento, puesto que los melones son propensos a la descomposición y presentan posibles vehículos para la transmisión de enfermedades. Sus resultados revelaron que dosis a de ozono de 15.008 mg/m³ redujeron la tasa de respiración, la tasa de producción de etileno y la cantidad de microorganismos, así como, aportaron niveles más altos de firmeza, contenido de pectina, reducción de azúcar y acidez titulable (61; 56).

En relación, a la destrucción del etileno, Bataller et al. consiguieron, bombeando el ozono hacia el interior del local de almacenamiento, un retraso de la maduración en un 20 a 30%, prolongando, así, el tiempo de almacenaje. Sin embargo, también se pueden hacer tratamientos puntuales realizados en tiempos muy cortos y bajo elevadas concentraciones, respecto a las empleadas durante el almacenamiento, asegurándose que no haya presencia de personal (62; 56).

Según la OMS, con concentraciones de ozono de 0,1-0,2 mg/L·min, se consigue una inactivación del 99% de rotavirus y polio-virus, pertenecientes al grupo 4 de los Coronavirus. Referente a este tipo de virus, los bacteriófagos (como el pX174) han sido ampliamente utilizados como indicadores de poliovirus, enterovirus, virus envueltos y Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), debido a que son seguros y fáciles de manejar y se ha observado una supervivencia del mismo de 0,1% con concentraciones de 0,04 ppm de ozono gaseoso durante 480 segundo y de 0,00001% para el virus de la Hepatitis A con 1,66 ppm de ozono acuoso durante 5 segundos (63; 56).

2.2. Antecedentes de investigación

2.2.1. Análisis de tesis

- **Mejía Heidinger, Gianella Berenice; Antonio Acosta, Guillermo Alex; Zanabria Cuyutupac, Keyla Saraí.** “Objetivo: Identificar microorganismos en el aire de los laboratorios de Microbiología de la Universidad Continental-2018. Metodología: Estudio descriptivo transversal, se tomaron muestras de aire de los laboratorios de Microbiología por el método de sedimentación por gravedad, se analizó 56 muestras tanto de bacterias como de hongos, se utilizó diversos medios para el crecimiento de los microorganismos; para las bacterias se utilizó Agar Sangre, Agar Chocolate, Manitol Salado y Eosina Agar EMB y Agar Saboraud para hongos, se dejó las placas en puntos estratégicos de los laboratorios, para el caso de bacterias se esperó aproximadamente 3 horas y en el caso de hongos por 4 horas, después de ello se incubó las placas a 37°C por dos días para el caso de bacterias y en los hongos por una semana; se realizó un control por cada medio para verificar que no exista contaminación; luego del crecimiento de las colonias de las bacterias realizó la coloración Gram para poder caracterizarlas; después se realizó las pruebas bioquímicas a las bacterias finalmente se identificó el género y especie de cada una de ellas, en caso de hongos después de obtener las colonias se aplicó la técnica de cinta adhesiva para poder observar e identificar según sus estructuras el género y especie de cada uno. Se recolectó los datos a través de una serie de guías de observación. Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS versión 24. Resultados: Se observó 8 géneros de bacterias, aisladas en los medios de cultivos, los cuales el que tuvo mayor porcentaje dentro del grupo de las Gram negativas fueron *Serratia* y *E.coli* (20 %) y para las Gram positivas el de mayor porcentaje fue el género *Streptococo spp* (34.3%); de las bacterias identificadas el más patógeno fue *Staphylococo aureus*, se observó 9 géneros de hongos, aislados en el medio Agar Saboraud, de los cuales el que tuvo mayor porcentaje fue el género *Aspergillus spp.* (44,5 %). Conclusión: Los microorganismos identificados en mayor cantidad en el aire de los laboratorios de Microbiología de la Universidad Continental, en cuanto a bacterias fueron: *Serratia spp*, *Eschericha coli* y en cuanto a hongos *Aspergillus spp*” (64).

- **Duarte Cifuentes, Nicolas; Roa Cáceres, Sebastián.** “Con el fin de determinar la calidad microbiológica del aire presente en los baños, corredores, recepción y almacén de la Clínica de Optometría de la Universidad de La Salle se llevó a cabo un muestreo de aire, además de mediciones de porcentaje de humedad relativa y velocidad del viento durante dos semanas. Lo cual permitió determinar 27 morfotipos, de los cuales se identificaron 14 géneros bacterianos. El estudio encontró que hay una prevalencia de la presencia de bacterias además de una distribución más amplia teniendo en cuenta estudios previos. El viento y la humedad tienen una relación directa con el mantenimiento de géneros tales como: *Staphylococcus* (26.3%), *Pantoea* (10,5%) y *Sphingomonas* (5,3%) que son causantes de enfermedades oculares y zoonóticas, lo cual tiene un peligro potencial para la salud de aquellos que asisten regularmente a las instalaciones de la Clínica. De igual manera se identificó que el 64% de las secciones de muestreo están sobre el límite establecido por la ISO 14644 de UFC para zonas limpias” (65).
- **Cornejo Roque, Romely Fernanda.** “Este trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar cuantitativamente los principales microorganismos, como son mesófilos aerobios totales, coliformes totales, *Escherichia coli* y hongos antes y después del uso del ozono como desinfectante, en la planta de incubación de la empresa PRODMIL S.A ubicada en Molledo Islay provincia de Arequipa. El presente estudio se llevó a cabo para determinar si el ozono interfiere e interrumpe el metabolismo de las células bacterianas, a través de la inhibición y el bloqueo de la operación metabólica del sistema de control enzimático. Finalmente, para demostrar la disminución de carga bacteriana en cada ambiente de la incubadora. Se trabajó en dos oportunidades dentro de los principales ambientes de la planta de incubación, se procedió a realizar el muestreo de cada uno de los ambientes para esto se utilizó el equipo SAS (surface air system). Para el análisis de laboratorio se usó agar nutritivo, para la determinación de mesófilos aerobios totales, y para el caso de *Escherichia coli* y Coliformes totales se optó por un método cromogénico como es el cromocult, haciendo su diferenciación más fácil, ya que las colonias de coliformes se tiñen de rojo y las de *E. coli* de un tono azul. Y por último agar sabouraud para la siembra de hongos. Se analizó el aire sin OZONO, como normalmente se encuentra la planta de incubación. Después se colocó un dispensador de ozono en cada ambiente o área por 30 minutos, y se procedió a tomar

nuevamente muestras de ambiente con el dispositivo SAS (surface air system). Antes del tratamiento con ozono en los diferentes ambientes los resultados de unidades formadoras de colonias (UFC) fueron: Su estimación fue numerada a las 24 y 48 horas de incubación con un promedio de: Para mesófilos aerobios totales la cantidad fue 339 UFC y 500 UFC a las 48 horas. En cuanto a coliformes totales y *Escherichia coli* 3 UFC a las 24 y 48 horas. Por último, en hongos y levaduras el resultado fue 306 a las 24 horas y 353 a las 48 horas. Después del uso de ozono como desinfectante los resultados de unidades formadoras de colonias disminuyeron notablemente: en mesófilos aerobios los resultados a las 24 horas de incubación fueron 117 UFC y a las 48 horas 272 UFC. Para Coliformes totales y *Escherichia coli* a las 24 horas y 48 horas 0 UFC. Y finalmente para hongos y levaduras a las 24 horas 11 UFC y a las 48 horas 31 UFC. Al análisis estadístico aplicando T de student los resultados demostraron que hay diferencia significativa, en Mesófilos aerobios totales a las 24 horas de incubación el valor hallado entre el promedio general de las muestras antes y después del uso de ozono fue $T=7,235$ y a las 48 horas el valor $T=7,235$ a un grado de libertad y a un parámetro límite de 6.3137. Para Coliformes totales y *E. coli*. a las 24 horas de incubación el valor hallado entre el promedio general de las muestras antes y después del uso de ozono es $T=7,235$ y a las 48 horas el valor $T=7,235$ a un grado de libertad y a un parámetro límite de 6.3137. Para Hongos y levaduras a las 24 horas de incubación el valor hallado es 10.365 y a las 48 horas el valor 121.537 a un grado de libertad y a un parámetro límite de 6.3137. Se concluye en este trabajo que, bajo la acción desinfectante del ozono en la planta de incubación, la carga bacteriana disminuye” (66).

- **Fernández Suarez, Sarah Gabriela.** “El presente trabajo de investigación fue desarrollado con el Objetivo de Determinar la efectividad del Ozono como método de desinfección en ambientes del Servicio de Neonatología en el Hospital Regional Honorio Delgado, así mismo se buscó determinar la carga microbiológica del aire en los diferentes ambientes del servicio de Neonatología (Recién Nacidos A, Atención Inmediata del Recién Nacido, Unidad de cuidados intensivos de Neonatología (UCIN), Tópico y Recién Nacidos B) medida en UFC/m³ antes y después de la aplicación de Ozono. Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de aire de cada ambiente del Servicio de Neonatología, antes y después de la aplicación de Ozono el cual se administró durante 30 minutos. Las muestras se tomaron

mediante el equipo SAS (Surface Air System) y las placas Petri se llevaron a incubación durante 24 horas. Posteriormente se realizó el conteo bajo placa contabilizándose Mesófilos Aerobios Totales, Coliformes Totales, *Escherichia coli* y otras bacterias Gram negativas. Una vez obtenidos los resultados en una matriz de sistematización de datos se procedió al análisis e interpretación de los mismos mediante pruebas estadísticas. Resultados: Se encontró un promedio de Mesófilos Aerobios Totales de 1082 UFC/m³ de aire, 0 UFC/m³ de Coliformes Totales y *E. coli*; 46 UFC/m³ como promedio de otras bacterias Gram negativas. El área de Atención Inmediata del Recién Nacido es el área con mayor cantidad de Mesófilos Aerobios Totales. El promedio de UFC/m³ de aire luego de la aplicación de Ozono es de 122 para Mesófilos Aerobios Totales y de 4 para otras bacterias Gram negativas. Conclusiones: Se demostró la efectividad del Ozono como método de desinfección logrando la disminución de la carga bacteriana del aire después de su aplicación; el promedio del porcentaje de disminución de Mesófilos Aerobios Totales fue de 88.7% ($p < 0.05$) y 91.3% para otras bacterias Gram negativas ($p < 0.05$)” (67).

2.2.2. Análisis de trabajos de investigación

- **Caballero, Magally; Cartín, Victor MI.** “La calidad del aire en espacios cerrados o intradomiciliarios, es uno de los factores más importantes en la calidad de vida de los individuos puesto que pasamos del 80 a 90% de nuestro tiempo en espacios cerrados (1). En Latinoamérica poco se ha estudiado de este tema y Costa Rica no es la excepción. No hay estudios exhaustivos sobre la calidad del aire en diferentes centros humanos (hospitales, escuelas, supermercados, oficinas, fábricas, etc.) y tampoco en centros veterinarios (hospitales, clínicas, consultorios) que permitan identificar cuál es la situación sobre el tema. En este artículo evaluamos la calidad del aire en ocho clínicas y consultorios veterinarios y en dos hospitales públicos en Costa Rica. Los estudios fueron llevados a cabo en el año 2003 y 2004. Planteamos como la calidad del aire interno puede incidir en la salud de los ocupantes, tanto pacientes como de los trabajadores del lugar. Este estudio ha permitido un primer tratamiento del tema e identificación de los niveles de contaminación interna para contaminantes del aire tales como monóxido de carbono, dióxido de carbono, sistemas de ventilación, concentración de bacterias y hongos de una manera sencilla,

permitiendo con el conocimiento de la situación ofrecer medidas correctivas a los problemas detectados. Se encontró que en general la contaminación microbiana del ambiente es aceptable, no así para material particulado, estos datos se dan tanto en los centros hospitalarios humanos como en los centros veterinarios. En ambos sitios, centros hospitalarios como clínicas veterinarias, las prácticas ocupacionales por lo general provocan un aumento en la concentración de vectores contaminantes” (7).

- **Leiva Pérez, Agustín; Sacón Vera, Ely F.; Najarro Quintero, Rodolfo; Bernal, Azucena Elizabeth; Moreira Vega, David W.; Andrade Candell, Joffre A.** Se estudió la purificación del aire ambiente interior de la fábrica de “Quesos Latacunga” mediante la aplicación de ozono, como agente oxidante energético capaz de matar los microorganismos presentes en el medio en que se encuentre, en dosis apropiadas con el objetivo de purificar el aire ambiente del taller. Las concentraciones de hongos y bacterias encontradas antes de la aplicación del ozono fueron superiores a lo permitido por la normativa española “UNE 100012 Higienización de sistemas”. Entre los hongos identificados se encontraron *Aspergillus sp.*, *Penicilium, sp.*, *Scopulariopsis sp.*, *Fusarium sp.* y *Cladosporium sp.* Las principales bacterias identificadas fueron *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Bacillus sp.*, y *Streptomyces sp.* y *Enterobacter agglomerans*. Los materiales principales empleados para el tratamiento del aire interior con ozono fueron un purificador SEFILTRA, que genera un caudal de aire ozonizado de $2 \text{ dm}^3 / \text{min}$, con una concentración de ozono en el aire de $9,5 \text{ g/m}^3$; es decir, una carga de ozono de alrededor de $1,14 \text{ g/h}$; mientras que para la medición del contenido microbiano en el aire antes y después del tratamiento, se utilizó un filtro HEPA (High Efficiency Particle Arresting, 99,995%). Al transcurrir una hora de aplicación de ozono la reducción de hongos, fue suficiente como para que su presencia cumpliera con el límite máximo establecido en la normativa considerada, sin embargo, eso no ocurre con las bacterias, necesiéndose unos 25 minutos más para poder concluir lo mismo que para los hongos (3).



3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Localización del trabajo

a) Espacial

El presente trabajo de investigación se realizó en una Clínica Veterinaria, ubicada en el distrito de Cayma – Arequipa.

b) Temporal

El presente trabajo de investigación se realizó durante los meses de octubre del 2021 – diciembre del 2021.

3.1.2. Materiales biológicos

Ambientes de la Clínica Veterinaria:

- Recepción.
- Tópico.
- Sala de Cirugía.
- Peluquería.
- Petshop.
- Baño.

3.1.3. Materiales de laboratorio

- Guantes estériles.
- Placas Petri.
- Espátula.
- Balanza.
- Probeta.
- Incubadora 37°C.
- Caja térmica.
- Alcohol.
- Algodón.
- Agua destilada estéril.
- Frasco para medio de cultivo.

- Medio Sabouraud Dextrosa.
- Agar nutritivo.
- Agar Chromocult.

3.1.4. Materiales de campo

- Mandil.
- Libreta de apuntes.
- Barbijo.
- Gorro quirúrgico.

3.1.5. Equipos y maquinarias

- Autoclave.
- Equipo colector BIOLOGICAL AIR SAMPLER.
- Equipo productor de ozono ACR SANITIZER PLUS DIGIT.
- Autoclave.

3.2. Métodos

3.2.1. Muestreo

a. Universo

El universo de la muestra fueron los 6 ambientes de la Clínica Veterinaria:

- Recepción.
- Tópico.
- Sala de cirugía.
- Peluquería.
- Petshop.
- Baño.

b. Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra fue de 6 unidades de estudio, ya que se tomó 6 muestras por cada ambiente antes y después de la desinfección de la Clínica Veterinaria de pequeños animales de compañía.

c. Procedimiento de muestreo

c.1. Desinfección con Ozono (O₃)

- Se trata de una de las sustancias con un mayor poder desinfectante de las conocidas; se estima una potencia al menos 10 veces mayor que la popular desinfección con cloro y derivados, también con un efecto notablemente más rápido. Por tratarse de un gas inestable, no puede ser almacenado ni transportado como otros gases industriales, y debe ser generado in situ solo cuando es necesario (59).
- Se sugiere una concentración de 10 ppm durante 11,36 minutos para lograr una inactivación de virus, bacterias y hongos del 99%, en condiciones de humedad relativa del 55% y a temperatura de 25 °C (68).
- Utilizamos el ACR Sanitizer Plus digit, que es un generador de aire que descompone el olor causado por contaminantes en el aire (humo, polvo, caspa de mascotas, polen), para el funcionamiento de este equipo se requirieron de los siguientes pasos:
 - 1) Activamos el aire acondicionado, para que el ozono desinfecte los conductos de aire.
 - 2) Programamos el temporizador a 10 minutos.
 - 3) El equipo comenzó a funcionar cuando la luz nos indicó.
 - 4) El equipo se apagó automáticamente y la luz indicadora también se apagó.
 - 5) Por último, abrimos las puertas y/o ventanas para la ventilación del aire antes de que alguna persona ingrese al ambiente desinfectado.
- Nos aseguramos que no haya ninguna persona o animal en la Clínica Veterinaria mientras el equipo de Ozono estuvo en funcionamiento (69).

c.2. Obtención de las muestras de aire de la Clínica Veterinaria:

- Se recolectaron 5 muestras de aire (1 m³ por ambiente) en los diferentes ambientes de la clínica Veterinaria los cuales son:
 - Recepción.
 - Tópico.

- Sala de Cirugía.
 - Peluquería.
 - Petshop.
 - Baño.
- Para la recolección de muestras de aire se utilizó un equipo colector de muestras Biological Air Sampler que absorbió una cantidad de aire determinada a través de un dispositivo de aspiración. Es un equipo portátil con un único nivel de captación basada en la inercia de las partículas. La captación de las partículas tiene lugar en una placa RODAC con medio de cultivo (10). La cantidad de muestreo programable se pudo configurar de 0,01 a 6,0 m³.

El Caudal se escogió según el lugar a muestreado, para la industria Farmacéutica es 1000 L / min requiere grandes volúmenes ya que se supone que hay pocos UFC, para ambiente se usó 500 litros por minuto un volumen menor puesto que hay más posibilidades de aparición de UFC. El equipo tiene los siguientes Volúmenes de acumulación 50, 100, 250, 500, 1000. En cada ciclo pueden acumularse hasta 2000 litros de aire. Este rendimiento cumple con las exigencias impuestas en el control de aire en áreas asépticas (10).

Figura N° 1: Biological Air Sampler



Fuente: Biobase, 2021 (70)

c.3. Procedimiento de las muestras a analizar

- Se realizó el auto clavado de los materiales a utilizar.
- Se procedió a preparar el agar y colocarlo en las placas.
- Se realizó el rotulado de placas para una mayor organización.
- Se esperó el proceso de solidificación.
- Se colocó el agar en una incubadora por 24 horas a 37°C para poder hacer la verificación completa de esterilidad. Luego lo utilizamos.
- Para siembra de Mesófilos aerobios totales, se hizo con Agar Nutritivo.
- Para siembra de hongos y levaduras totales, se hizo con el Medio Sabouraud Dextrosa.
- Para siembra de E. coli, Coliformes y enterobacterias, se hizo en Agar Chromocult.
- Luego procedimos al recuento de unidades formadoras de colonia de los microorganismos encontrados.

3.2.2. Métodos de evaluación

a. Metodología de la experimentación

- **Obtención de las muestras de aire de la Clínica Veterinaria:**

- Se recolectó 12 muestras de aire en los diferentes ambientes de la clínica Veterinaria los cuales fueron:
 - Recepción.
 - Tópico.
 - Sala de Cirugía.
 - Peluquería.
 - Petshop.
 - Baño.

Para la recolección de muestras de aire utilizamos un equipo colector de muestras Biological Air Sampler que absorbió una cantidad de aire determinada a través de un dispositivo de aspiración.

- **Parámetros:**

- Volumen de muestreo: 100 l / min.

- Velocidad del viento de los orificios de muestreo: 0,4 m / s, básicamente la misma que la de la sala limpia (muestreo isocinético).
- Fuente de alimentación: AC y DC.
- Batería recargable: DC6V.
- Tiempo de funcionamiento con batería: 8 h.
- Dimensión: 120 × 300 mm.
- Peso: 2,5 kilogramos.

b. Procedimiento de las muestras a analizar

- Se esterilizó los materiales de laboratorio a utilizar para que no alteren los resultados de las muestras tomadas, utilizamos el equipo autoclave ya que tiene una cámara de esterilización que utiliza vapor a presión con una temperatura muy elevada eliminando cualquier tipo de microorganismo.
- Se procedió a preparar el agar y colocarlo en las placas, luego se realizó el rotulado de placas para una mayor organización. Se esperó el proceso de solidificación.
- Se colocó el agar en una incubadora por 24 horas a 37°C para poder hacer la verificación completa de esterilidad.
- Para siembra de Mesófilos aerobios totales, se hizo con Agar Nutritivo.
- Para siembra de Hongos y levaduras totales, se hizo con el Medio Sabouraud Dextrose.
- Para siembra de E. Coli, Coliformes y Enterobacterias, se hizo en Agar Chromocult.
- Luego procedimos al recuento de unidades formadoras de colonia de los microorganismos encontrados.
- Finalmente se realizó el proceso estadístico para la obtención de resultados.

c. Recopilación de la información

- **En el campo**
Recolección de datos para el procesamiento y solución.
- **En el laboratorio**
Se analizó las muestras de aire con distintos medios de cultivo tomados después de la desinfección con el equipo de Ozono (O₃).

- **En la biblioteca**

Revisión bibliográfica de libros, tratados y revistas del tema en mención.

- **En otros ambientes generadores de la información científica**

Consultamos con expertos en el tema, revisión de páginas web, revistas indexadas y otros.



3.3. Variables de respuesta

3.3.1. Variables independientes

Los diferentes cinco ambientes de la clínica Veterinaria los cuales fueron:

- Recepción.
- Tópico.
- Sala de Cirugía.
- Peluquería.
- Petshop.
- Baño.

3.3.2. Variables dependientes

- Cuantificación de Mesófilos aerobios totales.
- Cuantificación de Enterobacterias totales.
- Cuantificación de *Escherichia coli*. Y Coliformes
- Cuantificación de Hongos y Levaduras

3.3.3. Cuadro de Operacionalización de variables

	Variables	Indicador
Independiente	• Seis ambientes de la Clínica Veterinaria	• Recepción
		• Tópico
		• Sala de Cirugía
		• Peluquería
		• Petshop
		• Baño
Dependiente	• Cuantificación de Mesófilos aerobios totales	• UFC mesófilos aerobios totales
	• Cuantificación de Hongos y levaduras totales	• UFC Hongos y levaduras totales
	• Cuantificación de Enterobacterias totales	• UFC Enterobacterias

	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantificación de Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • UFC de Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>.
--	--	--

3.4. Evaluación estadística

3.4.1. Diseño Experimental

3.4.1.1. Unidades experimentales

Las unidades experimentales se consideraron a las 6 muestras de aire de los cinco distintos ambientes de la Clínica Veterinaria ubicada en el distrito de Cayma.

3.4.1.2. Análisis estadístico

Los análisis fueron evaluados mediante la prueba no paramétrica de Frank Willcoxon.

Will coxon:

El test no paramétrico *prueba de los rangos con signo de Wilcoxon*, también conocido como *Wilcoxon signed-rank test*, permite comparar poblaciones cuando sus distribuciones (normalmente interpretadas a partir de las muestras) no satisfacen las condiciones necesarias para otros test paramétricos. Es una alternativa al t-test de muestras dependientes cuando las muestras no siguen una distribución normal (muestran asimetría o colas) o cuando tienen un tamaño demasiado reducido para poder determinar si realmente proceden de poblaciones normales.

3.4.1.3. Análisis de significancia

- a) Nivel de Confiabilidad: 95%.
- b) Error: 5%.
- c) Probabilidad: $P < 0,05$.



4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Resultados

Cuadro N° 1: Recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por metro cúbico de ambiente antes y después de la desinfección

ANTES DE LA DESINFECCIÓN										
Ambiente	<i>Escherichia coli</i>		Coliformes totales		Enterobacterias		Mesófilos aerobios totales		Hongos y levaduras	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Pet shop	0	0	0	0	0	2	206	306	46	96
Recepción	0	0	0	2	0	2	374	566	82	100
Consultorio	0	0	0	2	4	4	308	892	56	102
sala de cirugía	0	0	0	2	0	2	454	666	106	222
Peluquería	0	0	0	6	0	4	1086	1338	196	436
Baño	0	0	0	2	2	6	494	826	248	460
PROMEDIO	0	0	0	2	1	3	487	766	122	236

Prueba no Paramétrica de Friedman
F=1.841, P=0.066, P>0.05 No significativo

DESPUES DE LA DESINFECCIÓN										
Ambiente	<i>Escherichia coli</i>		Coliformes totales		Enterobacterias		Mesófilos aerobios totales		Hongos y levaduras	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Pet shop	0	0	0	0	0	1	42	150	30	70
Recepción	0	0	0	2	0	1	112	246	58	66
Consultorio	0	0	0	2	0	4	56	134	44	74
sala de cirugía	0	0	0	0	0	0	92	178	94	152
Peluquería	0	0	0	0	0	2	140	262	48	84
Baño	0	0	0	0	0	6	116	242	30	50
PROMEDIO	0	0	0	1	0	2	93	202	51	83

Prueba no Paramétrica de Friedman
F=1.826, P=0.068, P>0.05 No significativo

En el cuadro 1 y gráficos 1 y 2, se puede observar la cantidad de UFC en los ambientes de la Clínica Veterinaria antes y después de la desinfección, muestras tomadas e incubadas por 24 y 48 horas a temperatura de 37° C, realizando las pruebas estadísticas de Friedman para determinar la diferencia entre las frecuencia encontradas, se puede notar que NO existe diferencia estadística entre ellas, en ambos casos antes y después de la desinfección, motivo por el cual se consideró para los siguientes cuadros y gráficas, los valores de las frecuencias de UFC encontradas a las 48 horas de incubación.

Gráfico N° 1: Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Antes de la desinfección, con incubación 24 y 48 horas

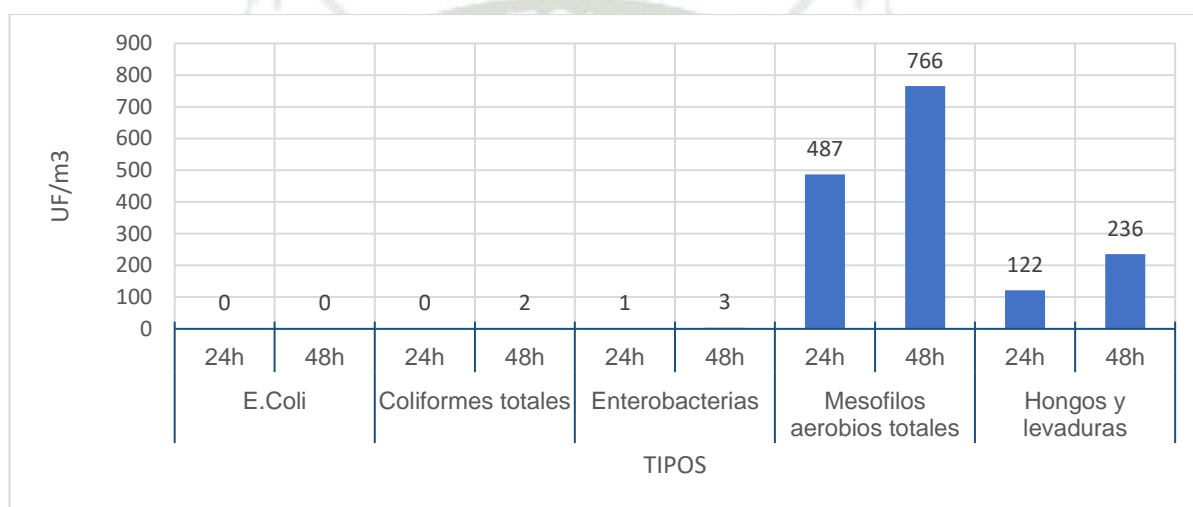
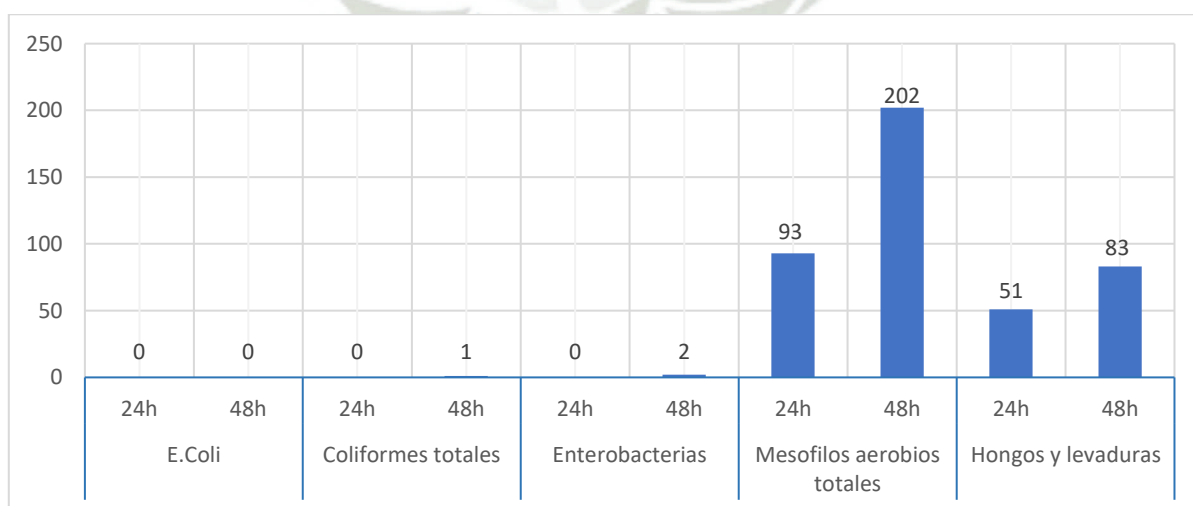


Gráfico N° 2: Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Después de la desinfección, con incubación 24 y 48 horas



Cuadro N° 2: Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por m³ de ambiente a las 48 horas de incubación antes y después de la desinfección con Ozono

Ambiente	E.Coli		Coliformes totales		Enterobacterias		Mesófilos aerobios totales		Hongos y levaduras	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
Pet shop	0	0	0	0	2	1	306	150	96	70
Recepción	0	0	2	2	2	1	566	246	100	66
Consultorio	0	0	2	2	4	4	892	134	102	74
Sala de cirugía	0	0	2	0	2	0	666	178	222	152
Peluquería	0	0	6	0	4	2	1338	262	436	84
Baño	0	0	2	0	6	6	826	242	460	50
PROMEDIO	0	0	2	1	3	2	766	202	236	83

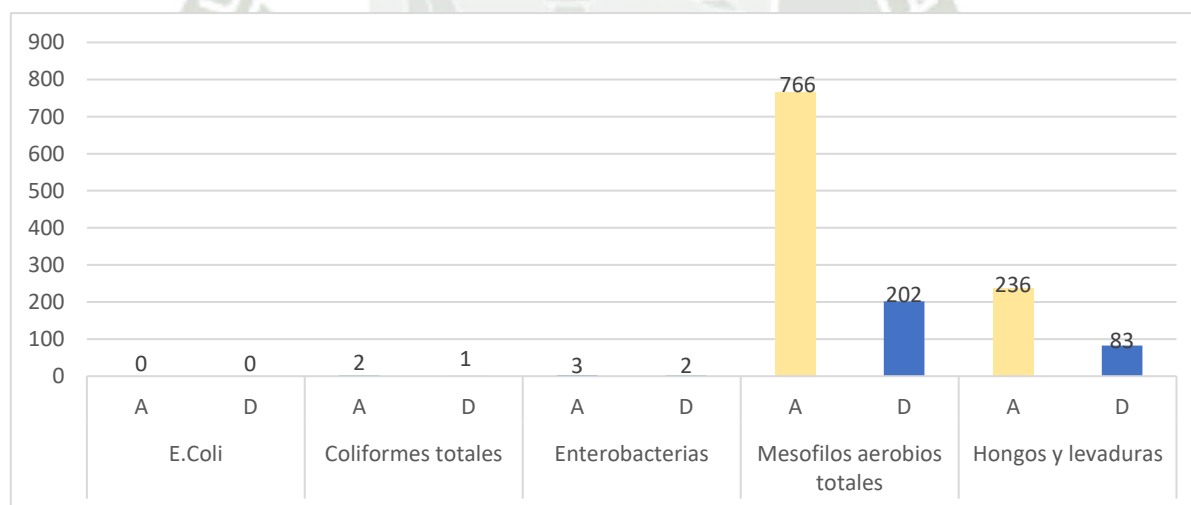
F=8.465, P=0.045, P>0.05, Significativo

Leyenda:

A: Antes de la desinfección

D: Después de la desinfección

Gráfico N° 3: Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por m³ de ambientes Después de la desinfección con Ozono, con incubación de 48 horas



En el cuadro Nro. 2 y gráfico Nro. 3, se puede observar la cantidad de Unidades Formadoras de Colonia, antes y después de la desinfección, en donde NO se observaron UFC para *Escherichia coli* en ninguno de los ambientes antes ni después de la desinfección; se observó un promedio de 2 UFC de Coliformes Totales para los ambientes antes de la desinfección con Ozono y un promedio de 1 para los ambientes después de la desinfección; un promedio de Enterobacterias de 3 UFC para los ambientes antes de la desinfección y un promedio de 2 UFC después de la desinfección con Ozono; un promedio de Mesófilos Aerobios Totales de 706 UFC antes de la desinfección y un promedio de 202 UFC después de la desinfección con Ozono; y

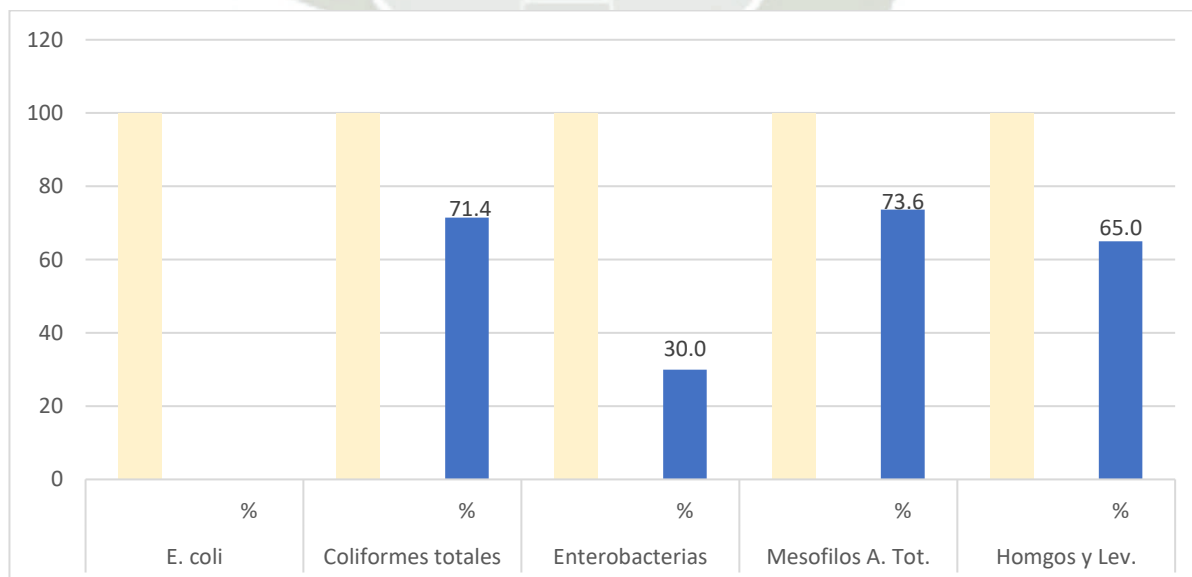
finalmente un promedio de Hongos y Levaduras promedio de 236 UFC para ambientes antes de la desinfección y un promedio de 83 UFC después de la desinfección con Ozono.

Según la prueba estadística de Friedman, se pudo encontrar un valor de P menor de 0.05, demostrándose que existe una diferencia estadística entre las frecuencias encontradas antes y después de la desinfección con Ozono.

Cuadro N° 3: Porcentaje de disminución Total de Unidades Formadoras de Colonias por ambiente, antes y después de la desinfección

Ambiente	E.Coli			Coliformes totales			Enterobacterias			Mesófilos aerobios totales			Hongos y levaduras		
	A	D	%	A	D	%	A	D	%	A	D	%	A	D	%
Pet shop	0	0		0	0		2	1	50.0	306	150	51.0	96	70	27.1
Recepción	0	0		2	2	0.0	2	1	50.0	566	246	56.5	100	66	34.0
Consultorio	0	0		2	2	0.0	4	4	0.0	892	134	85.0	102	74	27.5
sala de cirugía	0	0		2	0	100.0	2	0	100.0	666	178	73.3	222	152	31.5
Peluquería	0	0		6	0	100.0	4	2	50.0	1338	262	80.4	436	84	80.7
Baño	0	0		2	0	100.0	6	6	0.0	826	242	70.7	460	50	89.1
PROMEDIO	0	0		2	1	71.4	3	2	30.0	766	202	73.6	236	83	65.0

Gráfico N° 4: Porcentaje de disminución Total de Unidades Formadoras de Colonias por ambiente, antes y después de la desinfección



En el cuadro Nro. 3 y gráfico Nro. 4 se muestran los porcentajes de disminución de Unidades Formadoras de Colonias después de la desinfección con Ozono en los ambientes, en forma individual por ambiente y en forma promedio por el total de ambientes de la Clínica Veterinaria,

en donde se observa que para UFC de *Escherichia coli* en promedio antes y después fue de cero (0). El promedio del porcentaje de disminución de UFC de Coliformes totales fue de 71.4%. El promedio de disminución en porcentaje para Enterobacterias en los ambientes muestreados después de la desinfección con Ozono fue de 30.0%. El promedio de disminución en porcentaje para Mesófilos Aerobios Totales después de la desinfección con Ozono fue de 73.6%. Finalmente, el Porcentaje promedio de disminución de UFC para Hongos y Levaduras después de la desinfección con Ozono fue de 65.0%.

Con estos resultados se puede afirmar que el Ozono ejerce una acción bactericida en Coliformes Totales, Enterobacterias, Mesófilos aerobios totales y Hongos y Levaduras, mostrando un porcentaje total de disminución de 60.0%.

Cuadro N° 4: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* en ambientes antes y después de la desinfección

Ambiente	<i>Escherichia coli</i>	
	Antes	Después
Pet shop	0	0
Recepción	0	0
Consultorio	0	0
Sala de cirugía	0	0
Peluquería	0	0
Baño	0	0
PROMEDIO	0	0

Cuadro N° 5: Estadístico de Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* en ambientes antes y después de la desinfección

Estadísticos	<i>E. Coli</i>	
	antes	después
Media	0,00	0,00
Mediana	0,00	0,00
Desviación estándar	0,00	0,00
Máximo	0	0
Mínimo	0	0
T de student	t=0.00 P=1.00	t=0.00 P=1.00

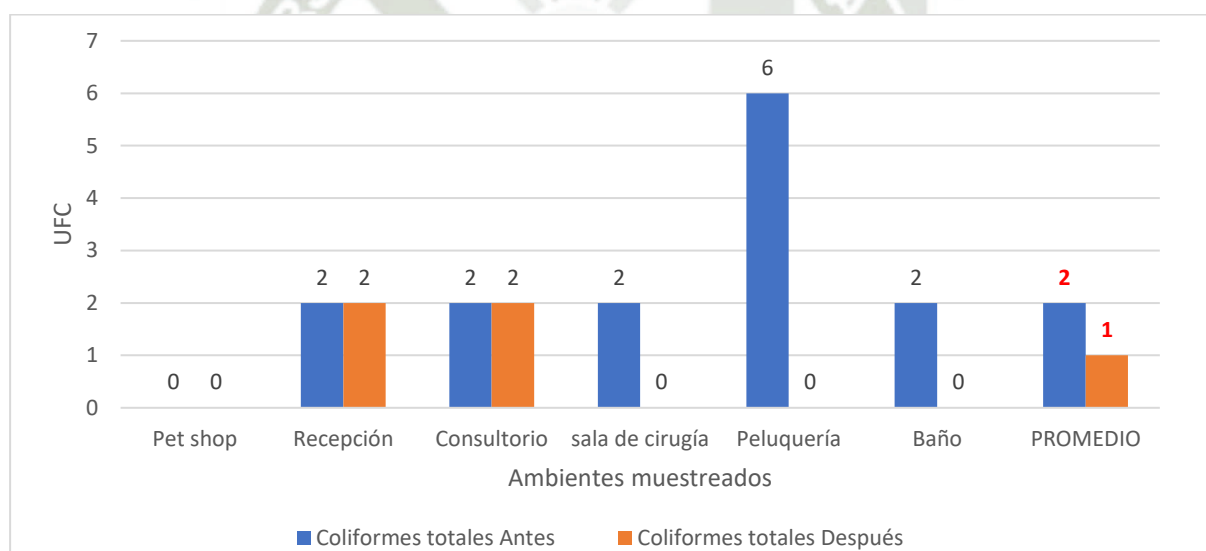
Cuadro N° 6: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Coliformes totales* en ambientes antes y después de la desinfección

Ambiente	Coliformes totales	
	Antes	Después
Pet shop	0	0
Recepción	2	2
Consultorio	2	2
sala de cirugía	2	0
Peluquería	6	0
Baño	2	0
PROMEDIO	2	1

Will Coxon: Prueba no Paramétrica de comparación de muestras relacionadas o pareadas

$W = -3.633$, $P = 0.02$, $P > 0.05$, Significativo.

Gráfico N° 5: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Coliformes totales* en ambientes antes y después de la desinfección



En el cuadro Nro. 5 y el gráfico Nro. 5, se muestran las Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Coliformes totales* en ambientes antes y después de la desinfección con ozono, en donde se observa que el promedio de UFC antes de la desinfección para los ambientes muestreados fue de 2 UFC, y de 1 UFC de promedio para los ambientes muestreados después de la desinfección con Ozono.

Según la prueba estadísticas no paramétrica de comparación para muestras pareadas o relacionadas de Will Coxon, muestra un valor de P menor de 0.05, demostrando que las frecuencias obtenidas antes y después de la desinfección de Coliformes Totales son diferentes estadísticamente.

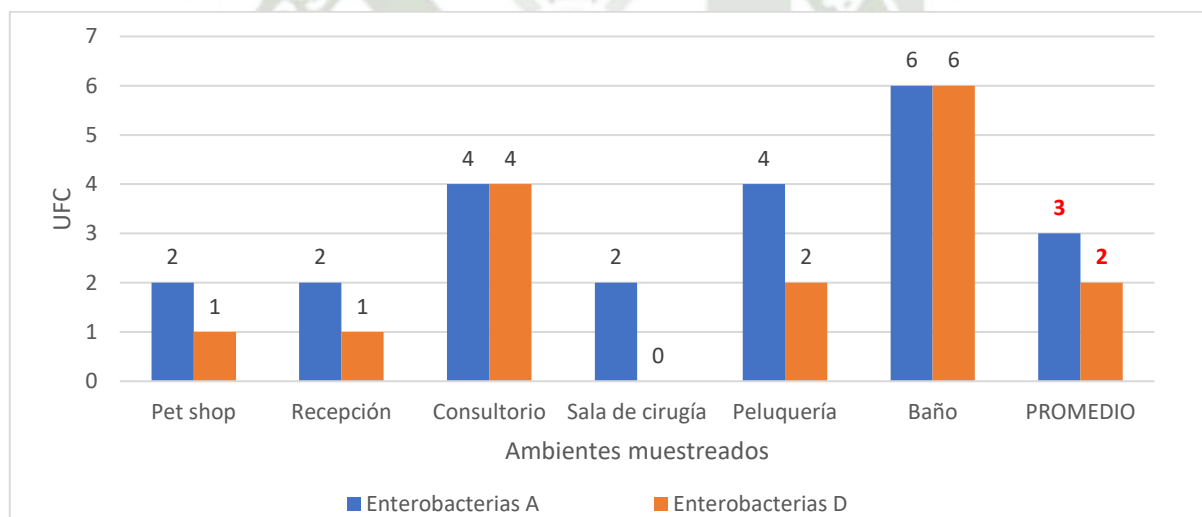
Cuadro N° 7: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Enterobacterias* en ambientes antes y después de la desinfección

Ambiente	Enterobacterias	
	A	D
Pet shop	2	1
Recepción	2	1
Consultorio	4	4
Sala de cirugía	2	0
Peluquería	4	2
Baño	6	6
PROMEDIO	3	2

Will Coxon: Prueba no Paramétrica de comparación de muestras relacionadas o pareadas

$W = -2.857$, $P = 0.043$, $P > 0.05$, Significativo

Gráfico N° 6: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Enterobacterias* en ambientes antes y después de la desinfección



En el cuadro Nro. 6 y el gráfico Nro. 6, se muestran las Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Enterobacterias* en ambientes antes y después de la desinfección con ozono, en donde se observa que el promedio de UFC antes de la desinfección para los ambientes muestreados fue de 3 UFC, y de 2 UFC de promedio para los ambientes muestreados después de la desinfección con Ozono.

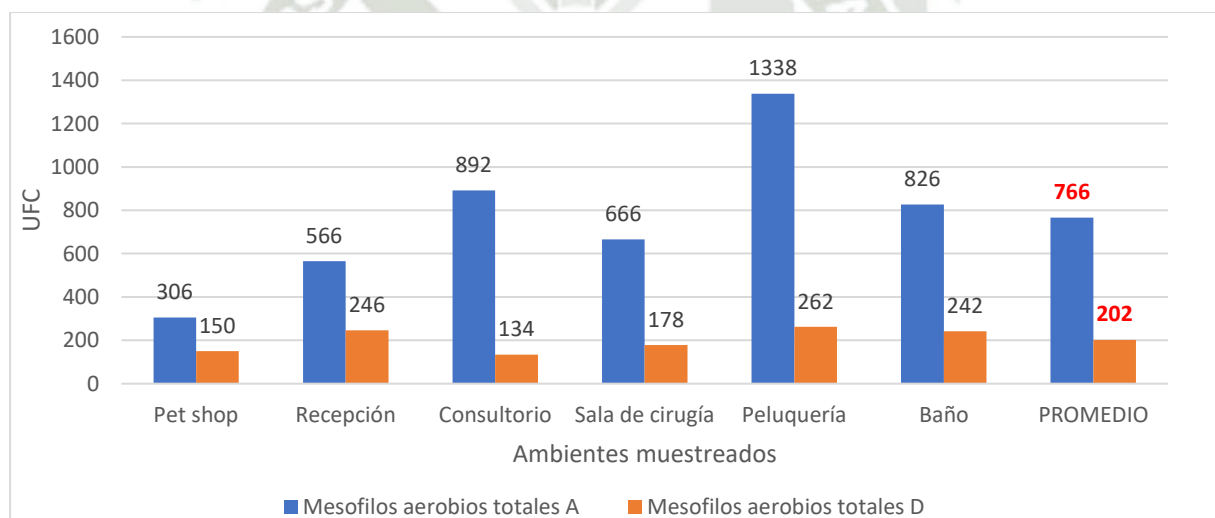
Según la prueba estadísticas no paramétrica de comparación para muestras pareadas o relacionadas de Will Coxon, muestra un valor de P mayor de 0.05, demostrando que las frecuencias obtenidas antes y después de la desinfección de *Enterobacterias* son diferentes estadísticamente.

Cuadro N° 8: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Mesófilos Aerobios Totales* en ambientes antes y después de la desinfección

Ambiente	Mesofilos aerobios totales	
	A	D
Pet shop	306	150
Recepción	566	246
Consultorio	892	134
Sala de cirugía	666	178
Peluquería	1338	262
Baño	826	242
PROMEDIO	766	202

Will Coxon: Prueba no Paramétrica de comparación de muestras relacionadas o pareadas
 $W = -2.201$, $P = 0.028$, $P > 0.05$, Significativo

Gráfico N° 7: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Mesófilos Aerobios Totales* en ambientes antes y después de la desinfección



En el cuadro Nro. 7 y el gráfico Nro. 7, se muestran las Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Mesófilos Aerobios Totales* en ambientes antes y después de la desinfección con ozono, en donde se observa que el promedio de UFC antes de la desinfección para los ambientes muestreados fue de 766 UFC, y de 202 UFC de promedio para los ambientes muestreados después de la desinfección con Ozono.

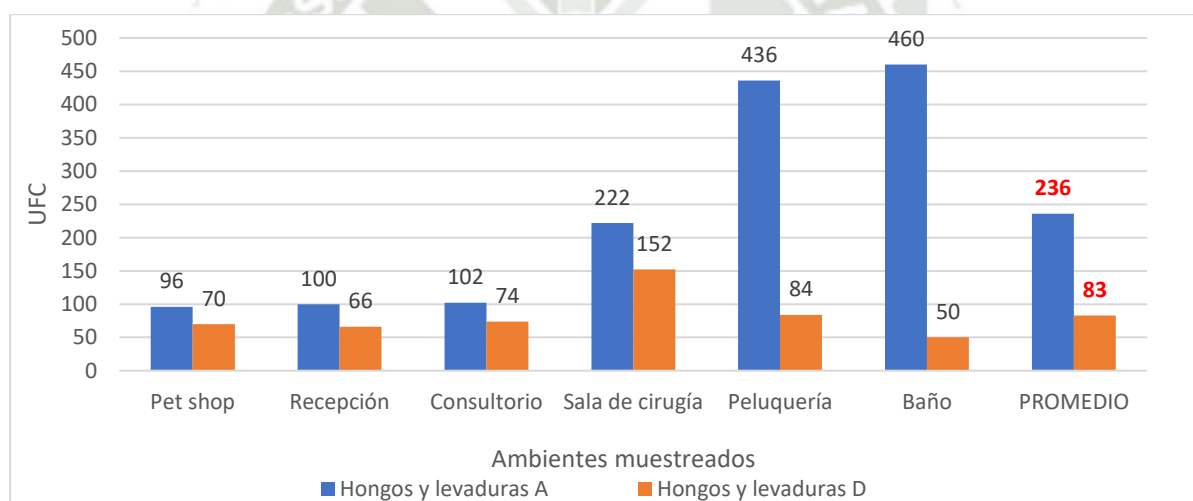
Según la prueba estadísticas no paramétrica de comparación para muestras pareadas o relacionadas de Will Coxon, muestra un valor de P mayor de 0.05, demostrando que las frecuencias obtenidas antes y después de la desinfección de Mesófilos Aerobios Totales son diferentes estadísticamente.

Cuadro N° 9: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Hongos y Levaduras* en ambientes antes y después de la desinfección

Ambiente	Hongos y levaduras	
	A	D
Pet shop	96	70
Recepción	100	66
Consultorio	102	74
Sala de cirugía	222	152
Peluquería	436	84
Baño	460	50
PROMEDIO	236	83

Will Coxon: Prueba no Paramétrica de comparación de muestras relacionadas o pareadas
 $W = -2.101$, $P = 0.023$, $P > 0.05$, Significativo

Gráfico N° 8: Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Hongos y Levaduras* en ambientes antes y después de la desinfección



En el cuadro Nro. 9 y el gráfico Nro. 8, se muestran las Unidades Formadoras de colonias (UFC) de *Hongos y Levaduras* en ambientes antes y después de la desinfección con ozono, en donde se observa que el promedio de UFC antes de la desinfección para los ambientes muestreados fue de 236 UFC, y de 83 UFC de promedio para los ambientes muestreados después de la desinfección con Ozono.

Según la prueba estadísticas no paramétrica de comparación para muestras pareadas o relacionadas de Will Coxon, muestra un valor de P mayor de 0.05, demostrando que las frecuencias obtenidas antes y después de la desinfección de *Hongos y Levaduras* son diferentes estadísticamente.

4.2. Discusión

Mejía Heidinger et all, determinaron el crecimiento de colonias de Hongos y Levaduras en un laboratorio de Microbiología, encontrando un 45 % de hongos y levaduras con respecto al total de colonias totales encontradas, al igual que en el presente trabajo se obtuvo también una gran cantidad sin embargo fueron contadas en UFC a diferencia de Mejía que determinó en porcentaje.

Con respecto a los resultados encontrados por Romely Cornejo en la determinación de UFC por metro cúbico de ambiente en una incubadora de pollos, se obtuvieron resultados similares en donde también se usó Ozono para la desinfección, encontrando una cantidad similar de UFC a las 48 horas en Mesófilos aerobios totales, Coliformes totales y Hongos y Levaduras; a diferencia de *Escherichia coli* que fue de 3 UFC a diferencia del presente trabajo en la clínica veterinaria que fue de 0, con referencia al porcentaje de disminución de UFC se observaron un porcentaje similar de disminución de UFC en ambientes de la Incubadora con los ambientes de clínica veterinaria que van de 45.6% hasta 100%, comparado con el presente trabajo que vas desde un 30% hasta un 73.6 %.

Comparando con los resultados de Sarah Fernández en donde se usó Ozono para la desinfección de ambientes de Neonatología del Hospital Regional Honorio Delgado, observando unos resultados diferentes en relación al porcentaje de disminución de bacterias, con los del presente trabajo, debido a que en el trabajo de Fernández S. se encontró un porcentaje de disminución de colonias desde un 93% a un 100%, mayor al presente trabajo que llego a una disminución en porcentaje entre el 30% y 73.4 %, probablemente debido a que estos ambientes de mayor porcentaje de disminución fueron tomados en ambientes cerrados y hospitalarios en donde se posiblemente se tiene mayor cuidado en la desinfección diaria.



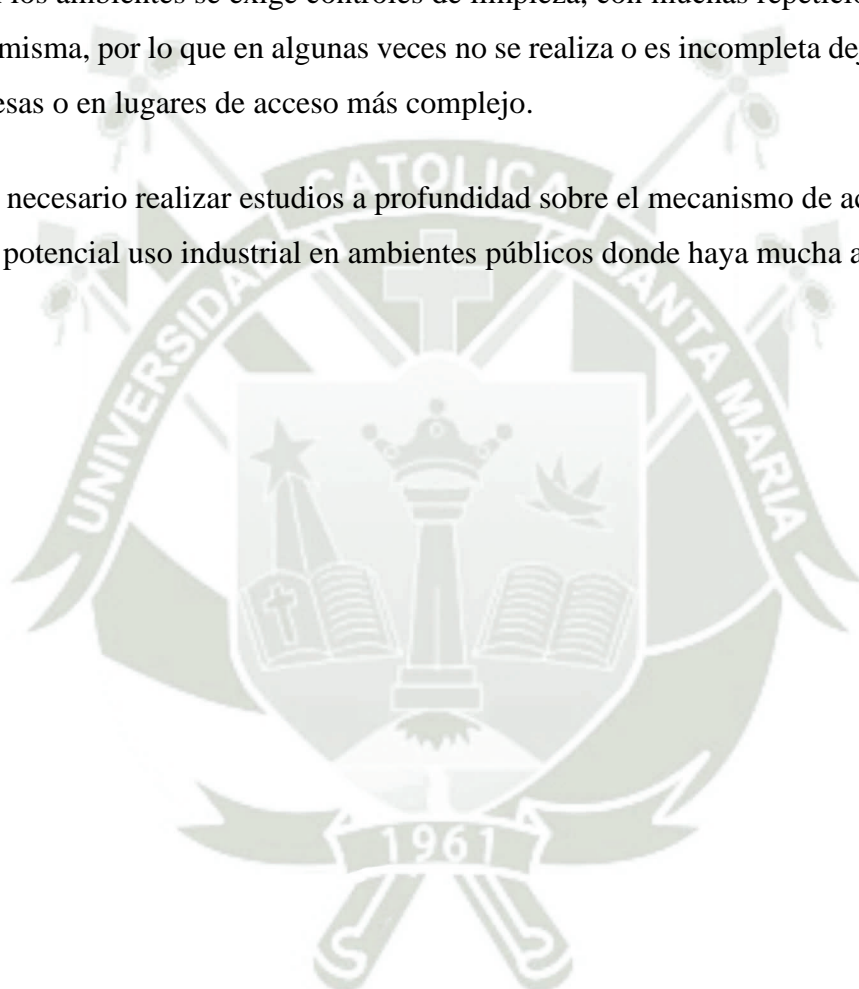
5. CONCLUSIONES

- Primera.-** La desinfección con Ozono (O_3) en la clínica de pequeños animales de compañía ha sido muy eficiente, dado que existe diferencia entre el número de Unidades Formadoras de colonias antes y después de la desinfección.
- Segunda.-** No existe presencia de unidades de colonias formadoras de *Escherichia coli* en la clínica de pequeños animales de compañía.
- Tercera.-** Si no existe un control de desinfección constante, podríamos encontrar la UFC Coliformes, así como en el trabajo de investigación, se encontraron recién a partir de las 48 horas.
- Cuarta.-** La desinfección con Ozono (O_3) no es muy eficiente para eliminar UFC Enterobacterias.
- Quinta.-** La desinfección con Ozono (O_3) disminuye la cantidad UFC Hongos y levaduras, no obstante, no los elimina en su totalidad.



6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la desinfección de ambientes con Ozono (O_3) en Clínicas Veterinarias, ya que el aire es un importante vector de transporte de muchos microorganismos.
- En los ambientes se exige controles de limpieza, con muchas repeticiones y eficacia de la misma, por lo que en algunas veces no se realiza o es incompleta dejando residuos en mesas o en lugares de acceso más complejo.
- Es necesario realizar estudios a profundidad sobre el mecanismo de acción del ozono y su potencial uso industrial en ambientes públicos donde haya mucha afluencia.





7. REFERENCIAS

1. **Raffino, María Estela.** *Concepto de Contaminación atmosférica.* Argentina : s.n., 2020.
2. **Balderas Mora, Cynthia , y otros.** *Estudio de la calidad microbiológica del aire en el Área Metropolitana de Monterrey NL México.* Monterrey : Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria, 2020.
3. **Leiva Pérez, Agustín , y otros.** Purificación del Aire ambiente Interior en la Fábrica de Productos Lácteos “Quesos Latacunga” Cotopaxi, Ecuador. [En línea] 2017. https://www.researchgate.net/publication/317366219_Purificacion_Del_Aire_Ambiente_Interior_En_La_Fabrica_De_Productos_Lacteos_Quesos_Latacunga_Cotopaxi_Ecuador.
4. **Soto L., V., y otros.** *Caracterización de hábitos de higiene y ambientes en lugares de atención integral a población infantil.* 2017.
5. **Rodríguez, F. J.** *Influencia del tratamiento con ozono en la purificación del agua.* Burgos : I Jornadas Técnicas de Ciencias Ambientales, Universidad de Burgos, Burgos, España, 2003. Vol. 1.
6. **Engelberg.** *Problems on air pollution. Third Congress on Air Pollution Control.* San José, California. : s.n., 2014.
7. **Caballero, Magally y Cartín, Victor MI. .** Calidad del aire en dos centros hospitalarios y ocho clínicas veterinarias en Costa Rica. [En línea] 2007. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2438/T01-J3-T.pdf?sequence=2>.
8. **Corral Lugo, Andrés , y otros.** *Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo”.* XIV : Colombia Biotecnología, 2012. Vol. XIV.
9. **Lara Fernández, Gloria Esther, y otros.** *Ozono como método de desinfección del ambiente hospitalario.* s.l. : SciELO - Scientific Library, 2020.
10. **Jara Hernández, Erika Liliana y Piraquive Mórtola, Juan Sebastián .** Determinación de la calidad de aire intramural en la clínica. *Universidad de La Salle Ciencia Unisalle.* [En línea] 2016. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/532/.
11. **Solysbeht, F.** *Comparación de metodologías para la determinación de aldehídos en el aire ambiental.* s.l. : Caracas: Universidad Central de Venezuela, 2001.

12. **Solis, E.** *Estudio microbiológico del aire en áreas ocupacionales y exteriores del laboratorio de investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala.* Guatemala : s.n., 2007.
13. **Vasco.** *Manual de normas para el control de la infección nosocomial: Anexo I.* 1997.
14. **Calleja, A. H.** *Contaminantes biológicos: criterios de valoración.* España : s.n., 1996.
15. **OMS.** *Prevención de las infecciones nosocomiales.* s.l. : Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2002.
16. **Álvarez, A.** *Correlación de microorganismos patógenos existentes en los ambientes intra y extramural presentes en jardines infantiles más y menos influenciados por factores contaminantes ubicados en las localidades de Fontibón y Kennedy.* Bogotá : Bogotá: Universidad de La Salle, 2009.
17. **Lighthart.** Physics of microbial bioaerosols. [En línea] 1994. <https://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/641/1140866374.pdf?isAllowed=y&sequence=1>.
18. **M.A. Mosso, C. Ullán, M.C. de la Rosa.** El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. [En línea] 2002. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2147812>.
19. **Passalacqua, Nancy y Cabrera, Josefina .** Microorganismos Aerobios Mesófilos Viables. [En línea] 2014. <https://es.scribd.com/document/436293323/Microorganismos-Aerobios-Mesofilos-Viables>.
20. **Ramos, M. Angeles, y otros.** Biología y Geología. [En línea] MCGRAW HILL Education. <https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/844860766X.pdf>.
21. **Silva, J.** *Determinación de la calidad microbiológica en los ambientes de los laboratorios de la Universidad de Santander campus Cúcuta en el año 2018.* 2018.
22. **Calizaya, Carla, Salazar, Gian y Silva, José.** Evaluación de hongos ambientales en mercados de abastos de la ciudad de Tacna – Perú. [En línea] 2010. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802010000100009.
23. **Sáez, Gloria, y otros.** Hongos en ambientes interiores y exteriores de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal. [En línea] Laboratorio de Microbiología, Parasitología y Ambientales. FCNM-UNFV. The Biologist (Perú). Año 2, Vol. 2, N° 2, Jul-Dic de 2004. <https://revistas.unfv.edu.pe/index.php/rtb/article/download/592/528>.
24. **Herrera, K.** Impacto de la calidad microbiológica de aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas

- Villa Nueva. [En línea] 2012. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/f0493670-0c1a-42c0-9a9f-ef1872f2e453/content>.
25. **SIGEAM, Proveedores de soluciones para la salud pública.** Responsable Técnico -Buscando la Gota Biocida Perfecta 2 (Transmisión Aérea- Droplets- Dropet Nuclei). [En línea] 22 de Noviembre de 2020. <https://sigeam.info/2020/11/22/responsable-tecnico-buscando-la-gota-biocida-perfecta-2-transmision-aerea-droplets-dropet-nuclei/>.
 26. **3M.** Pruebas de seguridad alimentaria - Enterobacterias. [En línea] 2021. https://www.3m.com.pe/3M/es_PE/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/enterobacterias/.
 27. **Van den, B.** *Differentiation between Shigella, enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) and noninvasive Escherichia coli.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012.
 28. **WHO.** *Regional Office for South East Asia. Blood safety and clinical technology. Guidelines on standard operating procedures for microbiology.* 2017.
 29. **Pichel, Mariana y Caffer, María Inés.** Enterobacterias. Parte II.c.1. [En línea] <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>.
 30. **DuPont HL, Levine M, Hornick RB, Formal SB.** *Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission.* *J Infect Dis.* 1989.
 31. **Islam MA, Huq M, Nabi A, Talukdar PK, Ahmed D, Talukder KA Cravioto A, Endtz HP.** *Occurrence and characterization of multidrug-resistant New Delhi metallo-β-lactamase 1-producing bacteria isolated between 2003 and 2010 in Bangladesh.* 2013.
 32. **Lan R, Lumb B, Ryan D, Reeves PR.** *Molecular evolution of large virulence plasmid in Shigella clones and enteroinvasive Escherichia coli.* s.l. : Infect Immun, 2001.
 33. **MJC, van den Beld.** *Reubsaet FAG. Differentiation between Shigella, enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) and noninvasive Escherichia coli.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012.
 34. **Rodríguez E., Gamboa M. , Hernandez F., Garcia J.** *Bacteriología General y Principios de Laboratorio.* Cambridge : Cambridge University, 2008. Vol. 1.
 35. **AHRQ Agency for Healthcare Research and Quality.** Infecciones por Escherichia coli. [En línea] <https://effectivehealthcare.ahrq.gov/health-topics/infecciones-por-escherichia-coli>.
 36. **Castro, Celia María.** Calidad del Agua. Coliformes Totales. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Instituto de Ciencias Matemáticas. Ingeniería en Auditoría y Control de Gestión. [En línea] Junio de 2007. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6154/9/c1.pdf>.

37. **Marín B, Garay J, Ramírez G, Betancourt J, Troncoso W, Gómez MI.** *Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia.* Colombia : Diagnóstico Nacional y Regional 2005, 2005.
38. **STUDOCU.** Metodos para conteo de microorganismos en empresas. Universidad Loyola de América. [En línea] 2023. <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-loyola-de-america/taller-de-elaboracion-de-tesis/metodos-para-conteo-de-microorganismos-en-empresas/14020967>.
39. **Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez.** *Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP).* s.l. : Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos., 2009. Vol. 2.
40. **Chromocult(R) Agar para coliformes.** El medio original recomendado por la nueva ISO 9308-1 (2014) agar para coliformes Chromocult. Detección simultánea de bacterias coliformes y E. coli en el agua. [En línea] Merck Millipore. [https://www.bing.com/ck/a?!&&p=f16ac1fdeb7128d6JmltdHM9MTY4NjE4MjQwMCZpZ3VpZD0zN2Y2ZDRiYi0yNmY4LTY4MjAtMTlhNS1jNjBhMjcxNTY5ZDUmaW5zaWQ9NTE2OA&ptn=3&hsh=3&fclid=37f6d4eb-26f8-6820-19a5-c60a271569d5&psq=En+la+nueva+ISO+9308+Parte+1+\(2014\)+se+describe+la+t%c](https://www.bing.com/ck/a?!&&p=f16ac1fdeb7128d6JmltdHM9MTY4NjE4MjQwMCZpZ3VpZD0zN2Y2ZDRiYi0yNmY4LTY4MjAtMTlhNS1jNjBhMjcxNTY5ZDUmaW5zaWQ9NTE2OA&ptn=3&hsh=3&fclid=37f6d4eb-26f8-6820-19a5-c60a271569d5&psq=En+la+nueva+ISO+9308+Parte+1+(2014)+se+describe+la+t%c).
41. **Merck , Millipore.** *Chromocult® Agar para coliformes Detección simultánea de bacterias coliformes.* 2014.
42. **Ramírez Cruz , Katia Anahí.** *Determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en el cultivo de espinaca (spinacia oleracea l.), producido en tres municipios del estado de México.* s.l. : Campus Universitario El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca México, 2017.
43. **Comité Europeo de Normalisation (CEN).** *Laboratory biorisk management - Guidelines for the implementation of CWA 15793:2008.* 2012.
44. **Ministerio de Salud del Perú.** Manual de Bioseguridad y Biocustodia del Instituto Nacional de Salud. [En línea] 2022. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4164974/MANUAL%20BIOSEGURIDAD%20INS%202022.pdf?v=1677103862>.
45. **Chiong Lay, Mario , y otros.** *Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados Fondecyt – CONICYT.* 2019.

46. **Rosales.** La bioseguridad efectiva requiere abordar la cultura de la empresa. [En línea] 2019. <https://protocolosdebioseguridadenlapandemia.blogspot.com/2021/01/consecuencias-por-el-incumplimiento-de.html>.
47. **Organización Mundial de la Salud.** *Consideraciones psicosociales y de salud mental durante el brote de COVID-19.* Ginebra Suiza. : s.n., 2020.
48. **Elsevier clinical skills.** . *Anxiety Management (Ambulatory) - CE. Kit de herramientas de coronavirus (COVID-19).* 2020.
49. **Gutiérrez, Ana Karina, Cruz, Aymara y Zaldivar, Elizabeth.** Gestión de seguridad psicológica del personal sanitario en situaciones de emergencia por COVID-19 en el contexto hospitalario o de aislamiento. *Revista Cubana de Enfermería, Vol. 36, N° 2.* [En línea] 2020. <https://revenfermeria.sld.cu/index.php/enf/rt/printerFriendly/3704/598>.
50. **Xiang , YT, y otros.** *Timely Mental Health care for the 2019 Novel Coronavirus Ourbreak is urgently Needad.* s.l. : Lancet Psychiatry, 2020.
51. **Brooks , SK, y otros.** *The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence.* s.l. : The Lance, 2020.
52. **Torales, J, y otros.** *The outbreak of COVID-19 coronavirus and its impact on global mental health.* s.l. : Int J Soc Psychiatry, 2020.
53. **Gestión de seguridad psicológica del personal.** [En línea] 2020. <https://www.bing.com/search?q=Por+tanto%2C+el+estado+de+expectaci%C3%B3n%2C+inseguridad+o+incertidumbre+sobre+el+futuro%2C+el+temor+de+convertirse+en+agente+de+contagio+o+ser+contagiado%2C+la+ansiedad%2C+el+agotamiento+f%C3%ADsico+y+emocional%2C+el+estr%C>.
54. **Calvo, M. Cosemar Ozono.** **¿Cómo desinfectar clínicas veterinarias?** [En línea] 2023. <https://www.cosemarozono.com/soluciones/desinfeccion-ambiental/como-desinfectar-clinicas-veterinarias/>.
55. **Villalobos, M. Pro PET.** [En línea] 2015. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/532/.
56. **García Chamizo, Juan Manuel , y otros.** **Revisión de las Aplicaciones del Ozono y su Generación para el Uso en Mascarillas contra Patógenos.** [En línea] 2020. <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/104988/1/Ozono%20contra%20patogenos-version%20preliminar.pdf>.

57. Fernández Torres, I, y otros. *Actividad antimicrobiana de los subproductos generados por la reacción del ozono con los microorganismos*. s.l. : Revista CENIC Ciencias Biológicas, 2010. Vol. 41.
58. Hudson, J.B. y Sharma, M. and Petric, M. *Inactivation of Norovirus by Ozone Gas in Conditions Relevant to Healthcare*. 2009.
59. Farmacéuticos-Consejo general de Colegios Farmacéuticos. **Ozono y COVID - 19**. [En línea] 2020. <https://www.farmaceuticos.com/wp-content/uploads/2021/04/ozono-covid-19.pdf>.
60. Brié, A., y otros. *Inactivation of murine norovirus and hepatitis A virus on fresh raspberries by gaseous ozone treatment*. s.l. : Food Microbiology., 2018.
61. Chen, C., y otros. *The effect of different doses of ozone treatments on the postharvest quality and biodiversity of cantaloupes*. s.l. : Postharvest Biol Technol, 2020. Vol. 163.
62. Bataller Venta, M. y Santa Cruz Broche, S. and García Pérez, M.A. *El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas*. s.l. : Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 2010. Vol. 41.
63. Hall, R.M. and Sobsey, M.D. *Inactivation of hepatitis A virus and MS2 by ozone and ozone-hydrogen peroxide in buffered water*. s.l. : Water Sci. Technol, 1993.
64. Mejía Heidinger, Gianella Berenice , Antonio Acosta, Guillermo Alex y Zanabria Cuyutupac, Keyla Saraí. **Determinación de microorganismos en el aire de los laboratorios de microbiología de la Universidad Continental-2018**. [En línea] 2018. <https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/7198?locale=es>.
65. Duarte Cifuentes, Nicolas y Roa Cáceres, Sebastián . **Evaluación de la calidad microbiológica del aire en la Clínica de Optometría de La Universidad de La Salle**. [En línea] 2018. <http://bibliotecavirtualoducal.uc.cl/vufind/Record/oai:localhost:10185-28856>.
66. Cornejo Roque, Romely Fernanda. **Evaluacion del proceso de desinfeccion de una planta de incubacion de pollos Broiler mediante el uso de ozono, Islay, Mollendo, Arequipa, 2015**. [En línea] 2015. <https://core.ac.uk/reader/198124800>.
67. Fernandez , S. **Determinación de la efectividad del ozono como método de desinfección en ambientes del Servicio de Neonatología en el Hospital Regional Honorio Delgado - Arequipa 2017**. [En línea] 2017. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/6147>.
68. **Ozone Gas. Scientific Justification and Practical Guidelines for Improvised Disinfection using Consumer-Grade Ozone Generators and Plastic Storage Boxes**. [En línea] 2020. <https://www.josam.org/josam/article/view/35>.

69. **ARC Sanitizer Plus. Manual de Generador de Ozono de alta capacidad tecnológicamente avanzado.** [En línea] Citado en 2021.
https://de.trotec.com/fileadmin/downloads/Geruchsbeseitigung/Airozon_60000/TRT-BA-Airozon-60000-TC-001-ES.pdf.

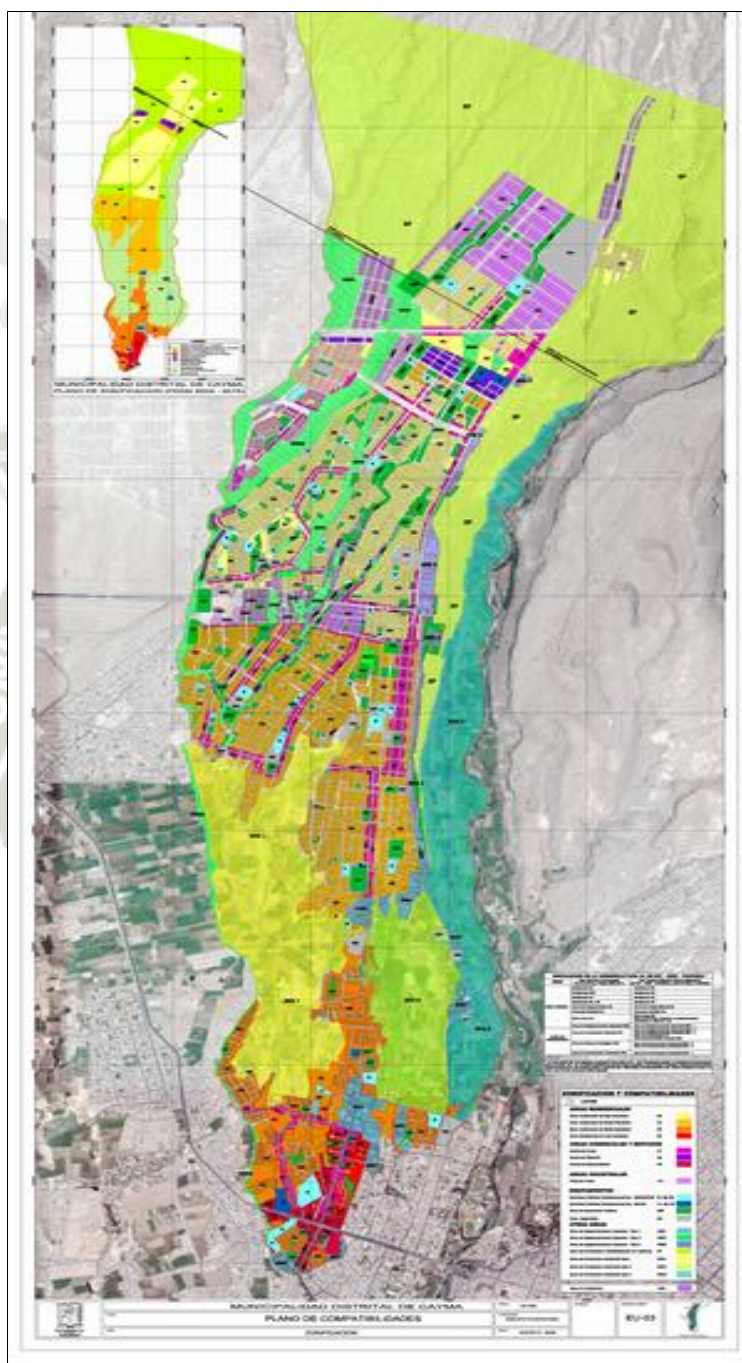
70. **Biobase. Biological Air Sampler.** [En línea] Citado 2021.
<https://www.bing.com/images/search?view=detailV2&ccid=gjObG6H&id=130DBDEFB35889E07DDB24FBDA4B2EF9EF8CEC0A&thid=OIP.gjObG6HOdMrh9g8nHbE6AAAA&mediaurl=https%3a%2f%2f5.imimg.com%2fdata5%2fQT%2fWM%2fMY-63923815%2fbiological-air-sampler-250x250.jpg&cdnurl=h>.





8. ANEXOS

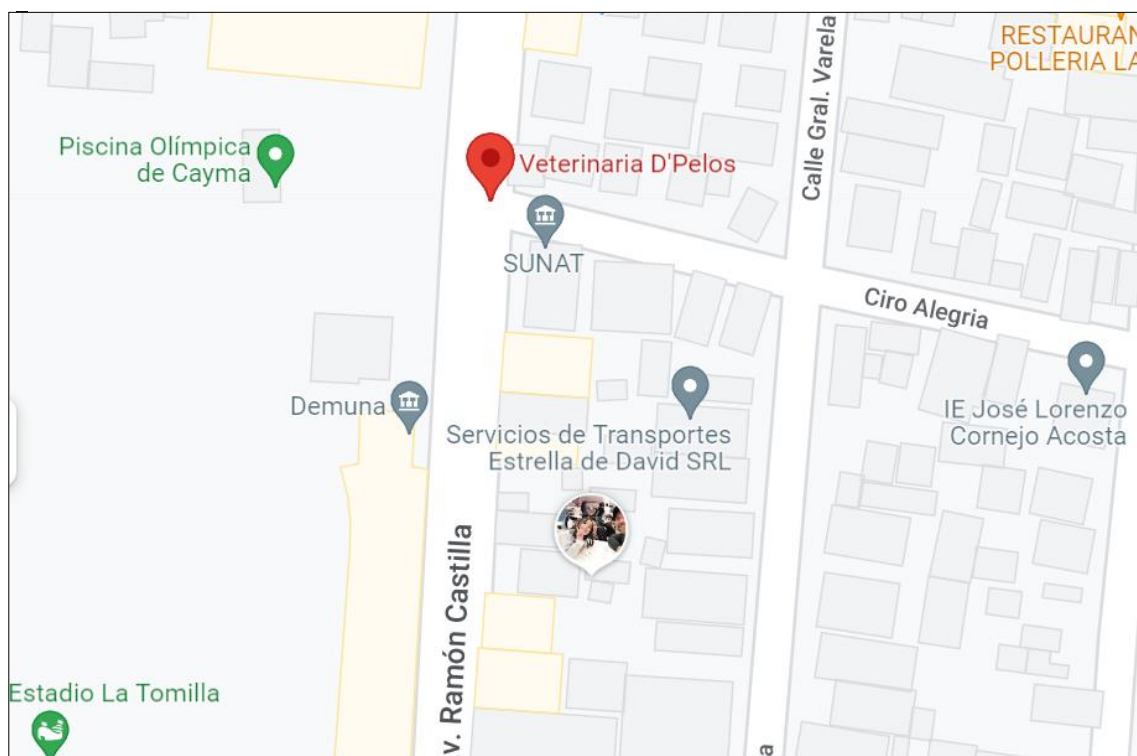
ANEXO N° 1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA



Mapa geográfico del distrito de Cayma, Arequipa

ANEXO N° 2 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

Croquis de ubicación de la Veterinaria en estudio, av. Ramon Castilla #500 La Tomilla-
Cayma, Arequipa



Frontis de la clínica Veterinaria D'PELOS



ANEXO N° 3

**CONSTANCIA DE INCUBACIÓN DE MUESTRAS, LABORATORIO
VETERINARIO ANILAB**

CONSTANCIA

Por medio de la presente hago constancia que se realizó la incubación de 24 placas microbiológicas por el lapso de 48 horas a temperatura de 38 grados centígrados, los días 28 y 29 de octubre del presente año; el procedimiento se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio ANILAB.

Constancia que se expide a petición de parte interesada en Arequipa a los 30 días del mes de octubre del año 2021.

Atentamente



Andrea Rivera Pastor
MVZ. Esp. en Laboratorio Veterinario
CMVA: 8654

ANEXO N° 4
MATRIZ DE DATOS

Cuadro indicativo del conteo de placas incubadas a las 24 y 48 horas, antes y después de la desinfección

CONTEO DE PLACAS INCUBADAS 24 Y 48 HORAS ANTES Y DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN										
	Escherichia Coli		Coliformes totales		Enterobacterias		Aerobios mesófilos totales		Hongos y levaduras	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Pet shop	0	0	0	0	0	2	206	306	46	96
Recepción	0	0	0	2	0	2	374	566	82	100
Consultorio	0	0	0	2	4	4	308	892	56	102
Sala de cirugía	0	0	0	2	0	2	454	666	106	222
Peluquería	0	0	0	6	0	4	1086	1338	196	436
Baño	0	0	0	2	2	6	494	826	248	460
Pet shop	0	0	0	0	0	1	42	150	30	70
Recepción	0	0	0	2	0	1	112	246	58	66
Consultorio	0	0	0	2	0	4	56	134	44	74
Sala de cirugía	0	0	0	0	0	0	92	178	94	152
Peluquería	0	0	0	0	0	2	140	262	48	84
Baño	0	0	0	0	0	6	116	242	30	50

ANEXO N° 5
FOTOGRAFIAS



Foto 1. Rotulado de las placas Petri conteniendo los diferentes agares de cultivo

Foto 2. Equipo Biological Air Sampler



Foto 3. Toma de muestra en el ambiente de Pet-shop

Foto 4. Toma de muestra en ambiente de recepción



Foto 5. Toma de muestra en el ambiente de tóxico

Foto 6. Toma de muestra en salsa de cirugía



Foto 7. Toma de muestra en el ambiente de
peluquería

Foto 8. Equipo de desinfección que se utilizó, el
ACR Sanitizer Plus digit



Foto 9. Desinfección de los diferentes ambientes





Incubación de las muestras tomadas

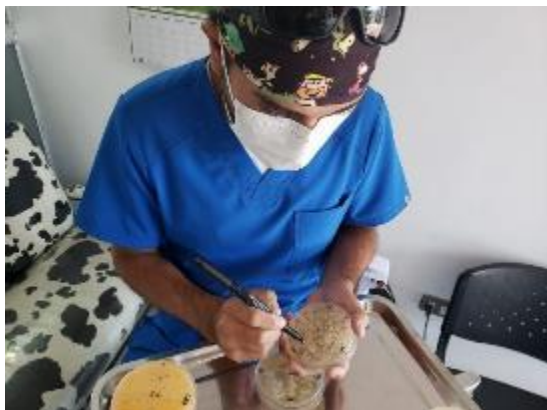
Resultados de incubación



Resultados de incubación



Conteo de colonias encontradas



EFICIENCIA DEL PROCESO DE DESINFECCIÓN DE AMBIENTES DE LA CLÍNICA DE PEQUEÑOS ANIMALES CON EL EMPLEO DEL OZONO (O₃), COMO AGENTE DESINFECTANTE PARA DISMINUIR LA CONTAMINACIÓN

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	ciencia.lasalle.edu.co Fuente de Internet	9 %
2	repositorio.udes.edu.co Fuente de Internet	3 %
3	vsip.info Fuente de Internet	2 %
4	www.aam.org.ar Fuente de Internet	2 %
5	www.dspace.espol.edu.ec Fuente de Internet	2 %
6	www.oalib.com Fuente de Internet	1 %
7	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	1 %
8	ri.uaemex.mx Fuente de Internet	1 %

9	avicultura.com Fuente de Internet	1 %
10	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	Submitted to Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente Trabajo del estudiante	1 %
12	Submitted to Universidad Anahuac México Sur Trabajo del estudiante	1 %
13	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1 %
14	repository.unad.edu.co Fuente de Internet	1 %
15	bvs.sld.cu Fuente de Internet	1 %
16	www.cosemarozono.com Fuente de Internet	1 %
17	Submitted to Universidad Autónoma de Bucaramanga, UNAB Trabajo del estudiante	1 %
18	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1 %
19	www.revistaccuba.sld.cu	

Fuente de Internet

1 %

20

www.conicyt.cl

Fuente de Internet

1 %

21

Gloria Esther Lara Fernández, Concepción
María Ariosa Acuña, Vivian Borroto Rodríguez,
Ángela Puerta Armas et al. "Ozono como
método de desinfección del ambiente
hospitalario", Acta Médica Costarricense, 2020

Publicación

1 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado