



BIBLIOTECA  
IAC. ING.  
MARITIMA

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**

**Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar**

**“USO DE DESINFECTANTES EN ACUICULTURA”**

**TESIS DE GRADO**

**Previo a la Obtención del Título de:**

**ACUICULTOR**

**Presentado por:**

**Sonnya Mendoza Lombana**

**Guayaquil - Ecuador**

**1.995**



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## DEDICATORIA

A mi adorado esposo e hijo por su apoyo moral en todo momento.

A mis padres y tía por su apoyo brindado a lo largo de mis estudios.

Presentada por:  
Sandra Mendoza Lombana

Guayaquil - Ecuador



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento a todas las personas que han colaborado de una u otra forma en la ejecución de esta tesis , en especial a la Dra. Lucía Carrera por su gran aporte en la revisión crítica de este documento.

De igual manera, mi agradecimiento al Dr. Jorge Calderón V., por su asesoría en la conducción de esta tesis.

Finalmente, agradezco al Laboratorio de larvas de camarón EGIDIOSA por permitirme desarrollar el trabajo expuesto, en sus instalaciones.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## DECLARACION EXPRESA

“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, corresponden exclusivamente a su autor, y el patrimonio intelectual de la tesis de Grado, corresponderá a la Escuela Superior Politécnica del Litoral”.

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Sonnya Mendoza", is written above a horizontal line.

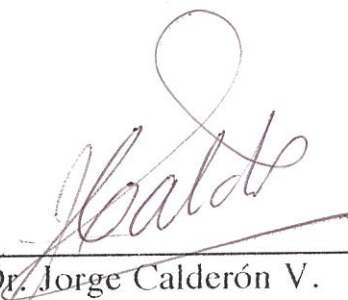
Sonnya Mendoza Lombana



## MIEMBROS DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

---

Ing. Jorge Faytong  
Presidente Tribunal

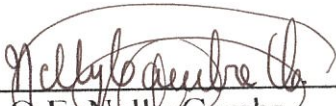


---

Dr. Jorge Calderón V.  
Director Tesis

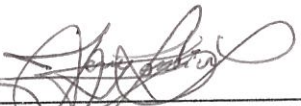


BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA



---

Q.F. Nelly Camba  
Miembro Principal



---

Ac. Jerry Landívar  
Miembro Principal



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## RESUMEN

El desarrollo de cultivos integrados en la acuicultura, trajo consigo la presencia de enfermedades infecciosas provocadas por diferentes agentes patógenos, y los métodos empleados para enfrentar estos problemas han sido desarrollados en forma empírica, de tal manera que se ha recurrido al uso indiscriminado de antibióticos y químicos, sin prever las posibles consecuencias.

El presente trabajo fue llevado a cabo en el laboratorio de larvas EGIDIOSA, en el cual se realizaron diferentes pruebas de desinfección en cada una de las áreas y sistemas de cultivo, utilizando para tal efecto, químicos de uso común en esta práctica, tales como el hipoclorito de sodio, permanganato de potasio y formol, en diferentes concentraciones

El primer capítulo incluye una revisión bibliográfica de los agentes antimicrobianos y sustancias químicas más comunes en nuestro medio, utilizados para el propósito de desinfección, los métodos de control de microorganismos más utilizados y los factores que inciden en la actividad del agente antimicrobiano.

En el siguiente capítulo se detallan los materiales y métodos utilizados, esto es, el procedimiento de desinfección empleado, forma de muestreo en todo el sistema de cultivo, y la interpretación de los resultados.

El tercer capítulo incluye los resultados obtenidos y su análisis correspondiente. Tales resultados demostraron que el uso de hipoclorito de sodio en concentración de 100 ppm, utilizado en tanques, pisos y paredes, no fue efectivo para la eliminación de la carga bacteriana; no obstante, al duplicar dicha concentración, se comprobó la eliminación total de microorganismos en tanques y paredes, no así del piso, para el que quizás era necesario aumentar la concentración del químico. En cuanto al uso de formol gaseoso para la desinfección de tuberías de aire, se estableció que no fue efectivo, por lo que se probó el uso de formol en estado líquido a una concentración del 2%, observándose una disminución de la carga bacteriana al realizar un raspado de las tuberías de aire. El uso de una mezcla de permanganato de potasio y formol (2:1) fue efectivo en la desinfección de áreas pequeñas como las de Artemia y algas, no obstante, en el área de larvicultura, se observó una disminución bacteriana al incrementar el número de recipientes conteniendo dicha mezcla.

Al finalizar este trabajo, se realizaron las respectivas conclusiones del mismo, y se sugieren ciertas recomendaciones para la desinfección efectiva de los laboratorios de larvas de camarón en nuestro país.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARIITIMA

## INDICE GENERAL

	Pag.
Resumen	V
Indice General	VII
Indice de Tablas	IX
Indice de Figuras	IX
Introducción	11
1. Revisión Bibliográfica	14
1.1 Antecedentes	
1.2 Control De Microorganismos	16
1.2.1 Definiciones	17
1.2.2 Métodos de Control de Microorganismos	18
1.2.2.1 Agentes Físicos	
a. Calor	
b. Filtración	19
c. Radiación ultravioleta	20
d. Radiación Ionizante	
1.2.2.2 Agentes Químicos	21
a. Fenoles	
b. Alcoholes	
c. Halógenos	
d. Agentes alquilantes	22
e. Agentes oxidantes	23
f. Otros	
1.2.3 Factores determinantes de la actividad del agente antimicrobiano	24
1.2.3.1 Tamaño de la Población	
1.2.3.2 Composición de la Población	
1.2.3.3 Concentración o intensidad de un agente antimicrobiano	25
1.2.3.4 Duración de la exposición	
1.2.3.5 Temperatura	



BIBLIOTECA  
F.C. ING.  
MARITIMA



1.2.3.6 Ambiente local	26
1.3 Utilización de agentes antimicrobianos en Acuicultura	
1.3.1 Cloro	28
1.3.1.1 Descripción	
1.3.1.2. propiedades	
1.3.1.3 Aplicaciones	29
1.3.2 Formaldehído	31
1.3.2.1 Descripción	
1.3.2.2 Propiedades	32
1.3.2.3 Aplicaciones	
1.3.3 Permanganato de Potasio	34
1.3.3.1 Descripción	
1.3.3.2 Propiedades	
1.3.3.3. Aplicaciones	35
2. Matetriales y Métodos	38
2.1 Materiales	
2.1.1 Equipos	
2.1.2 Materiales	
2.1.3 Reactivos y Químicos	39
2.2 Métodos	
2.2.1 Preparación de Medios de Cultivos	40
2.2.2 Sistema de Desinfección	41
2.2.2.1 Desinfección con Cloro	
a. Clorinación de Reservorios	
b. Clorinación del Sistema	
c. Clorinación de Pisos y Paredes	41
d. Clorinación de Tanques	
e. Determinación del residual de cloro	
2.2.2.2 Desinfección con Permanganato de Potasio y Formol	43
a. Desinfección del Deparatamento de Algas	

b. Desinfección de las áreas de Artemia y larvas	44
2.2.2.3 Desinfección con formol gaseoso	
2.3 Metodología de Trabajo	45
2.3.1 Toma de Muestra	
2.3.1.1 Tubería de aire	
2.3.1.2 Raspado de la tubería de aire	
2.3.1.3 Análisis microbiológico de la tubería de aire	46
2.3.1.4 Muestra de aire	
2.3.1.5 Tubería de agua	
2.3.2 Muestreros Ambientales	47
2.3.2.1 Departamento de larvas	
2.3.2.2 Ambiente exterior	
2.3.2.3 Muestreros de la Ropa	48
2.3.2.4 Muestreros de superficies	
2.3.3. Análisis de Resultados	
2.3.3.1 Interpretación	49
3. Resultados.	51
3.1 Análisis de Resultados	
3.1.1 Ambiente de la tubería de aire	
3.1.2 Raspado de la tubería de agua	53
3.1.3 Raspado de pisos	
3.1.4 Raspado de paredes	54
3.1.5 Tanques de cultivo	
3.1.6 Muestreros de Ambiente	55
Conclusiones	57
Recomendaciones	59
Bibliografía	61



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
Figura 1	64
Figura 2	65
Figura 3	66
Figura 4	67
Figura 5	68
Figura 6	69

## INDICE DE TABLAS

	<b>Pag.</b>
Tabla I	70
Tabla II	70





## INTRODUCCION

BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

La acuicultura del camarón a nivel mundial, se inició en la década de los 70 , y los primeros productores de esta especie en el Ecuador, aparecieron en 1968, con una superficie de cultivo de 283 Ha. Actualmente la actividad camaronera constituye uno de los principales rubros económicos del país, generando durante 1994 una producción de 105.000 Tm y un volumen de exportación de 70.200 Tm, equivalentes a 500 millones de dólares, proporcionando puestos de trabajo (directa o indirectamente: empacadoras, fábricas de alimento balanceado...) a unas 211.000. personas (CNA N° 7, 1995).

Inicialmente el cultivo del camarón se desarrolló en forma artesanal. La larva se obtenía directamente del medio natural mediante la utilización de aparejos de pesca y luego eran conducidas a las piscinas camaroneras. Por lo tanto la producción dependía directamente de factores climatológicos y oceanográficos, y cualquier alteración o cambio en éstos se reflejaba en variaciones de la disponibilidad de larvas silvestre. Durante el periodo 1982- 1983 la costa ecuatoriana se vió afectada por el evento oceanográfico denominado "El Niño"; este acontecimiento alteró las condiciones normales del medio marino, proporcionando una abundante presencia de larvas silvestres (Encalada, 1993) y un desarrollo de la industria camaronera, que alcanzaron 62.247 Ha. de piscinas de producción al cierre de 1983 (Barniol, 1995). En los años 1984-1985 Mc padden (Mc padden,1985) describió la presencia de corrientes frías (antiniño), que provocaron una escasez de larvas en el medio natural. Se creó ante esta incertidumbre en el sector privado camaronero la necesidad de generar otras fuentes de suministro de larvas de camarón además del ambiente natural, por lo que se hizo imprescindible la construcción de laboratorios de larvas de camarón, para suplir estas necesidades, y a la

creación por parte del Gobierno de leyes de protección instaurando los períodos de veda.( Cornejo et al. 1993).

De acuerdo con Lightner (1984), la expansión de las áreas de cultivos de camarón, trajo consigo la presencia de enfermedades infecciosas, que son provocadas por virus, bacterias, hongos y protozoarios. A la fecha los métodos utilizados para corregir estos problemas han sido desarrollados en forma empírica, y en mucho de los casos se recurre a la utilización indiscriminada de antibióticos y químicos para prevenir y curar estas amenazas. En algunas ocasiones, el uso de estos químicos o antibióticos llevados a cabo sin un diagnóstico previo del problema, provocan mutaciones bacterianas resistentes a dichos tratamientos profilácticos, lo cual genera un problema grave para la producción de larvar de camarón.

Como en cualquier otro tipo de producción animal, el desarrollo de animales en cautividad requiere un proceso de "domesticación". Poco se conocía sobre la fisiología, nutrición, genética o patología del camarón. El cultivo de animales en condiciones diferentes a su medio natural, y en grandes densidades son factores que favorecen el desarrollo de enfermedades de origen infeccioso. En los criaderos los principales problemas son causados por virus y diversas especies de bacterias del género *Vibrio*.. Los baculovirus fueron los primeros patógenos descritos como causantes de mortalidades masivas. *Vibrios parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* los que fueron asociados al llamado "síndrome de la gaviota" en Ecuador y Texas, y en 1989 se describió el "síndrome de bolitas", caracterizado por la presencia de células rojas globulares (bolitas) en el tracto digestivo de las larvas, cuyo agente etiológico fue determinado como *V. harveyi*. Cabe citar, que las infecciones causadas por virus constituyen un gran problema para los laboratorios, debido a que muchas veces los tratamientos con antibióticos o químicos no resultan efectivos, y ello obliga a la realización de vacíos sanitarios o desinfecciones en los laboratorios infectados ( Brock, 1990).



Intro.

El control de enfermedades en los laboratorios se ha basado en la mejora del manejo (sistemas de filtración de agua, tratamiento de aguas con ultravioleta, tasas de recambio de agua, oxigenación, mejoras nutricionales, ), utilizando productos antimicrobianos (antibióticos u otros germicidas) realizando vacíos sanitarios y desinfecciones de las instalaciones entre cada ciclo de producción.

La desinfección y vacío sanitario se basan por lo general en la utilización de agentes químicos de acción germicida. Sin embargo, no existe un criterio único en la forma de realizar las desinfecciones en los laboratorios. Cada laboratorio utiliza diferentes productos químicos, concentraciones distintas de los mismos productos y diferentes rutinas de desinfección. En este trabajo, hemos realizado una revisión de los distintos agentes antimicrobianos que se pueden utilizar en la desinfección de los laboratorios y un estudio sobre la eficacia del permanganato de potasio, formaldehído e hipoclorito de sodio en la desinfección rutinaria en el laboratorio Egidiosa.

JUSTIFY



BIBLIOTECA  
ING. MARITIMA

## CAPITULO I

### 1. Revisión bibliográfica

#### 1.1 Antecedentes

Una de las mayores limitaciones en la producción de los criaderos de camarones son las enfermedades infecciosas. Poco se conoce de los patógenos causantes de enfermedades en camarones, pero los más importantes son las bacterias, principalmente *Vibrio* sp. y los virus.

Hay muchos informes que señalan la importancia de "los *Vibrios* luminiscentes" como agentes implicados en procesos patológicos de larvas, aunque no existen trabajos en los que se establezca el agente causal de forma definitiva. En Tailandia, Filipinas e Indonesia *Vibrio harveyi* y *V. splendidus* han sido asociados con procesos patológicos en *Penaeus monodon* (Lightner, 1993). En Ecuador *V. harveyi* es considerado agente etiológico del proceso conocido como "síndrome de bolitas" por el aspecto que adquiere el hepatopáncreas de las larvas infectadas, con descamaciones celulares formando "bolitas" dentro de la luz del órgano. También *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus* han sido considerados como la causa del "síndrome de la gaviota" en Ecuador (Mohney et al, 1991) y Texas (Lightner, 1993). Parece posible que existan especies de *Vibrio* s oportunistas, que den

lugar a infecciones letales en condiciones adversas como enfermedades nutricionales, estrés ambiental y otras infecciones bacterianas.

Otro tipo de bacterias implicadas en procesos patológicos de larvas de camarón son las denominadas "bacterias filamentosas" de los géneros *Leucotrix*, *Flexibacter*, o *Cytophaga* . Son bacterias generalmente relacionadas con baja calidad de agua y malas condiciones de manejo. Jimenez (Jimenez, 1992) ha descrito casos de septicemias relacionados con grandes densidades de siembra, cambios de temperatura y baja tasa de renovación de agua.

Los virus se encuentran entre los patógenos más serios y han probado ser causa de mortalidades masivas en todas las fases de producción de camarones penaeidos, siendo sobre todo importantes los baculovirus en los laboratorios de larvas. *Baculovirus penaei* (BP) es causante de forma esporádica de serias infecciones en criaderos en la costa Pacífica de América Central y América del Sur, afectando a *Penaeus vannamei*, *P. aztecus* y en Brasil en *P. penicillatus* (Lightner, 1993). La importancia de las infecciones por BP radica en la posibilidad de una transmisión vertical por contaminación fecal de los huevos durante el desove y en que son virus productores de cuerpos de inclusión, por lo que es difícil establecer medidas de control y es difícil la desinfección de los locales después de una contaminación.

Las micosis sistémicas de larvas y post-larvas de penaeidos han sido causa de serios problemas de mortalidad en criaderos de los mismos. Los hongos implicados son ficomicetos, de los géneros *Lagenidium* y *Sirolopidium* .



Las infecciones por parásitos no son de importancia en larvicultura. Los principales agentes implicados pertenecen a protozoos epicomensales de los géneros *Zoothamnium*, *Epistylis* y *Vorticella* (Lightner, 1993). Todos ellos son microorganismos ubícuos cuyo control es fácil, mediante desinfección y adecuado recambio de agua y condiciones higiénicas.

Muchas de las enfermedades mencionadas son consecuencia de una falta de higiene en los sistemas de cultivo y un manejo inadecuado. Es necesario mantener unos niveles mínimos de carga microbiana en las instalaciones, lo que se consigue mediante desinfecciones rutinarias antes y después de cada ciclo de producción. Estas desinfecciones deben realizarse con agentes adecuados, de acción comprobada frente a los posibles patógenos y oportunistas presentes en el ambiente del laboratorio, así como frente a otros microorganismos, que no siendo patógenos, pueden dañar la calidad del agua (alterar los niveles de oxígeno, aumentar la cantidad de materia orgánica, variar el pH, ...).

## 1.2 Control de microorganismos

Desde la antigüedad se ha practicado la desinfección y esterilización en la prevención de enfermedades y control de microorganismos, aún sin que se conociese la existencia de microorganismos y por lo tanto la base científica de los mecanismos de acción de los medios empleados en tales actividades. Podemos señalar varios ejemplos: los griegos quemaban azufre para fumigar los edificios y la religión hebrea obligaba a quemar las ropas de individuos enfermos de lepra

para evitar contagios ( Prescott et al., 1993). Este control por tanto se basaba en el efecto de agentes físicos (el calor del fuego) o químicos (azufre) en el desarrollo de microorganismos (bacterias, virus, hongos, ...)

Hoy en día se conocen otros agentes, tanto físicos como químicos de utilidad en el control de microorganismos, así como su mecanismo de acción. Su aplicación será diferente en función de los objetivos que se persigan.

A continuación se hará una revisión de los diferentes agentes microbianos conocidos, su mecanismo de acción y su aplicación en acuicultura.

### 1.2.1 Definiciones —

La selección de los agentes antimicrobianos y su forma de utilización dependerá del tipo de control que se requiera, si se trata de una esterilización, desinfección o saneamiento. Se debe determinar con precisión las diferencias en estos conceptos.

- \* - **Esterilización** es el proceso por el cual todas las células vivas, esporas, virus y viroides son eliminados o destruidos de un objeto o hábitat. Se lleva a cabo cuando se requiere una total eliminación de microorganismos viables, así como toda clase de células vivientes. Cuando esta esterilización es realizada por un agente químico este agente se denomina “esterilizante” //



☞ - **Desinfección** consiste en el control y eliminación de microorganismos que pueden causar enfermedades. Este proceso es llevado a cabo por agentes, generalmente químicos, que actúan sobre cuerpos inanimados. Una desinfección no implica esterilización del objeto ya que pueden permanecer esporas bacterianas viables y otros microorganismos. //

✦ - **Saneamiento** relacionado frecuentemente con la desinfección. Consiste en la reducción de la población microbiana a niveles que se consideran seguros para ciertos propósitos.

## 1.2.2 Métodos de control de microorganismos //

### 1.2.2.1 Agentes físicos

Los agentes físicos son utilizados con preferencia en esterilización, aunque también en ocasiones pueden ser desinfectantes. Hay cuatro agentes principales: calor, filtración, radiaciones ultravioleta y radiaciones ionizantes.

#### a. *Calor:*

La esterilización mediante calor para matar virus, bacterias y hongos puede ser en forma de calor seco o calor húmedo, teniendo siempre en cuenta que es preciso medir la eficiencia de este calor para la eliminación de los microorganismos. La muerte microbiana

aparentemente resulta de la oxidación de las células constituyentes y la desnaturalización de las proteínas.



La temperatura de ebullición del agua (100°C) no es suficiente para matar ciertas endoesporas, se necesita temperaturas superiores a la temperatura de ebullición, lo que se consigue trabajando bajo condiciones de presión en autoclave. Se recomienda 115 a 121°C durante 30 minutos (Austin., 1991), lo que permite eliminar hasta las endosporas de bacterias.

En cuanto al calor seco, sólo se consigue esterilización manteniendo temperatura de 170 °C por períodos de 2-3 horas (Colwell et al. 1972). La selección de uno u otro sistema de esterilización por calor dependerá de los objetos o sustancias que vayan a ser esterilizados. El plástico por ejemplo no tolera el calor seco, por lo que hay que trabajar en autoclave. El material de vidrio resiste ambos sistemas, aunque son menos dañados por el calor seco.

#### ***b. Filtración:***

La filtración se presenta como una buena alternativa para reducir las poblaciones bacterianas en aquellos materiales sensibles al calor, y muchas veces puede ser usada para esterilizar soluciones.

**c. Radiación ultravioleta:**

La radiación a longitud de onda de aproximadamente 260 nm es letal, pero no penetra el cristal, agua, superficies sucias u otras sustancias de forma eficaz, por lo que sólo se utiliza para desinfectar y/o esterilizar en determinadas circunstancias (desinfección de superficies, ambiente, agua en pequeños volúmenes, ...) (Prescott, 1993). El efecto germicida de la luz ultravioleta se cree asociado a su absorción por varios componentes orgánicos moleculares esenciales para el funcionamiento celular. La disipación de la energía por excitación causa rotura de enlaces insaturados, especialmente de purinas y pirimidinas, produciendo progresivamente cambios bioquímicos letales (Huff et al., 1965). Por citar un ejemplo de su utilización en Acuicultura, la radiación ultravioleta ha sido utilizada con éxito en la desinfección de aguas en criaderos de ostras, siendo eficaz en la eliminación de *Vibrio* sp y *Pseudomonas* sp., incluso en aguas contaminadas de forma experimental (Brown y Russo, 1979).

**d. Radiación ionizante:**

La radiación gamma es un buen agente desinfectante y esterilizante y a diferencia de las radiaciones ultravioleta, penetran profundamente en los materiales. Su uso no es muy extendido por su costo y porque todavía no se conocen bien sus efectos. Se utiliza en



alimentación para aumentar la duración de productos frescos como vegetales y pollo.

### 1.2.2.2 Agentes químicos

Son utilizados principalmente como desinfectantes y antisépticos. El adecuado uso de los agentes químicos dentro de un laboratorio, es muy importante especialmente debido a la seguridad de las personas y de los organismos que no se desean eliminar del sistema (organismos del cultivo).

#### \* a. Fenoles:

Fueron ampliamente utilizados como antisépticos y desinfectantes. En 1867 Joseph Lister los empleó para reducir el riesgo de contaminación durante operaciones. Actúan por desnaturalización de proteínas y destrucción de la membrana celular. Hexaclorofeno es el compuesto más representativo de este grupo, aunque por su toxicidad y largo período de eliminación en las superficies, su uso está limitado. El fenol tiene un gran poder penetrante en materias orgánicas por lo que se emplea principalmente en la desinfección de equipos inorgánicos y materiales orgánicos que se van a destruir. Es bactericida/fungicida a concentraciones del 1 al 2 % y al 5% es capaz de destruir esporas de antrax (*Bacillus anthracis*) en 48 horas (manual Merck, 1993).

### *b. Alcoholes:*

Son bactericidas y fungicidas, pero no esporicidas. Algunos virus que contienen lípidos son también destruidos. Los alcoholes germicidas más conocidos son el isopropanol y el etanol, usualmente utilizados en concentraciones de 70-80-%. Su efecto antimicrobiano se relaciona con su solubilidad en lípidos (daña la membrana bacteriana) y su capacidad para precipitar proteínas protoplásmicas. No son eficaces frente a esporas bacterianas (manual Merck, 1993).



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARIITIMA

### *c. Halógenos:*

Los productos halógenos más utilizados son productos derivados del cloro y el yodo. El yodo actúa oxidando componentes de la célula e iodinando proteínas celulares. El cloro, en forma de gas, hipoclorito sódico o hipoclorito cálcico, actúa también por oxidación de materiales celulares. El cloro es un producto barato, efectivo y fácil de manejar, por lo que es un excelente desinfectante. Más adelante se hará una revisión más detallada de sus formas, mecanismo de acción y aplicaciones.

### *d. Agentes alquilantes:*

Los aldehídos más comunes son el formaldehído y el glutaraldehído, el óxido etilénico y el óxido propilénico, generalmente

utilizados en diluciones acuosas. Presentan actividad frente a bacterias, virus, hongos y, al contrario que muchos otros desinfectantes, también contra esporas<sup>14</sup> (manual Merck, 1993).



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MANILA

*e. Agentes oxidantes:*

Los más utilizados son sales de manganeso (permanganato sódico y permanganato potásico) y el agua oxigenada. Son oxidantes enérgicos, lo que les confiere su acción desinfectante. Ejercen un efecto germicida de acción corta sobre la mayoría de los microorganismos, mediante la liberación de oxígeno naciente, que altera irreversiblemente sus proteínas (Babor, 1965; manual Merck, 1993). Las características del permanganato potásico se revisarán más adelante en el texto.

*f. Otros:*

<sup>14</sup> Hay algunas sustancias cuyo uso no es tan frecuente pero que se deben mencionar o tener en consideración. Los **metales pesados** como el mercurio, plata, arsénico, zinc o cobre se han utilizado en el pasado como germicidas, aunque su poder desinfectante es limitado.<sup>15</sup> Un ejemplo de estos desinfectantes es el sulfato de cobre, utilizado para evitar el crecimiento de algas. Los **detergentes** son moléculas orgánicas que por su naturaleza anfipática solubilizan residuos de otra manera insolubles, actuando por tanto como potentes agentes



desinfectantes. También se han utilizado gases como desinfectantes/esterilizantes, siendo los más comunes el óxido de etileno, la betapropiolactona (Prescott, 1993) y el ozono. \* El ozono es un eficaz esterilizante del agua de mar, que mata bacterias, hongos y virus más rápidamente que otros oxidantes. Ha sido aplicado en prevención de enfermedades por su mejora de la calidad del agua, depuración de animales contaminados, inactivación de toxinas marinas (Blogoslawski, 1975 ; 1977).

### 1.2.3 Factores determinantes de la actividad del agente antimicrobiano

La actividad del agente antimicrobiano que actúa en la destrucción y crecimiento de microorganismos, va a estar afectada por diferentes factores, entre los que podemos citar:

#### 1.2.3.1 Tamaño de la población: \*

La actividad del agente antimicrobiano está relacionada con el tamaño de la población; mientras más grande sea la población requerirá de mayor tiempo para su eliminación.

#### 1.2.3.2 Composición de la población: ✓



La efectividad de los agentes antimicrobianos dependerá de la naturaleza de los organismos que van a ser tratados ya que los mismos difieren en su susceptibilidad.

#### **1.2.3.3 Concentración o intensidad de un agente antimicrobiano:**

No siempre existe una relación lineal entre concentración del agente y su efecto. Un pequeño incremento en la concentración del agente con frecuencia conduce a un aumento exponencial de su efecto sobre el microorganismo, hasta un cierto rango, en el cual el efecto no aumenta con un incremento de la concentración. Con el etanol, el efecto es contrario. Su acción es más eficaz cuando se utilizó a una dilución del 70% que a una dilución del 95%.

#### **1.2.3.4 Duración de la exposición:**

La relación es directa ya que mientras mayor tiempo la población este expuesta al agente microbicida mayor será la cantidad de microorganismos eliminados.

#### **1.2.3.5 Temperatura:**

Los incrementos de temperatura, en general, aumentan la actividad de los agentes

químicos, es decir que menores concentraciones pueden ser más eficaces a elevadas temperaturas.

### 1.2.3.6 Ambiente local:



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

Ninguna población sobre la cual se va a actuar está aislada por lo que hay que tener en cuenta factores ambientales que pueden ofrecerles protección o incentivar su destrucción. Por ejemplo, la cantidad de materia orgánica en el agua disminuye la efectividad del permanganato potásico como bactericida (Cleasby et al., 1986).

## 1.3 Utilización de agentes antimicrobianos en acuicultura

Existe un gran número de referencias sobre la utilización de agentes químicos en la desinfección de instalaciones en Acuicultura, aunque no es mucha la bibliografía sobre desinfección en cultivos de camarón. Algunos de estos productos se utilizan con dos finalidades, como terapéuticos y profilácticos, añadiéndolos de forma rutinaria al agua de los tanques, y como desinfectantes en la limpieza de los laboratorios antes y después de cada ciclo de producción. En ocasiones su utilización no es eficaz, bien porque se administran a concentraciones no adecuadas, o bien porque el agente no es enérgico contra los patógenos contra los que se quiere actuar. En la selección de estos agentes se deben tener en cuenta ciertos requisitos (Arellano, 1990):

- Se debe conocer su actividad antimicrobiana ( capacidad para destruir microorganismos), seleccionando aquellos que sean de amplio espectro y eficaces a bajas concentraciones.
- Estas sustancias deberán ser solubles en agua u otros solventes en la cantidad necesaria para su uso efectivo.
- Los cambios en las sustancias al inicio deberán ser mínimos y no tener pérdida significativa en su actividad germicida.
- No deberá ser tóxico a humanos ni animales.
- La proporción debe ser uniforme en su composición, de manera tal que los ingredientes activos estén presentes en cada aplicación.
- Deben ser efectivos frente a microorganismos sin necesidad de variar la temperatura para mejorar su efectividad.
- El compuesto debe estar disponible en grandes cantidades y a precios adsequibles.

Los agentes antimicrobianos más empleados en Acuicultura son el cloro, el formaldehído, el permanganato de potasio, verde malaquita, antibióticos de amplio espectro (oxitetraciclinas, cloramfenicol). Estos compuestos se utilizan en forma individual o en combinación con otros compuestos con los que se consigue un efecto sinérgico, presentando una mayor efectividad que si son utilizados individualmente. En este trabajo se van a revisar las aplicaciones del cloro, el permanganato potásico y el formol en Acuicultura, ya que son los agentes químicos utilizados en la desinfección en el laboratorio Egidiosa, en el cual se realizó la evaluación de su sistema de desinfección.



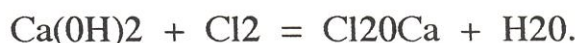
### 1.3.1. Cloro:

#### 1.3.1.1 Descripción.

El nombre de este elemento proviene de la palabra griega que significa amarillo verdoso. Fue descubierto por el farmacéutico sueco Scheele, en 1774, que lo describió como un gas amarillo verdoso, de olor muy sofocante, que en solución acuosa se altera con el tiempo y por acción de la luz formándose cloruro de hidrógeno y oxígeno. (Oulle J.,1973).

#### 1.3.1.2 Propiedades.

Es un potente desinfectante frente a bacterias, virus, protozoarios y hongos sobre todas la superficies y en el agua, que se utiliza desde hace tiempo en la desinfección de agua potable y de piscinas (Sawyer and Macarty, 1967). Se neutraliza con el tiosulfato de sodio. Las soluciones acuosas del cloro son consideradas como agentes oxidantes fuertes, siendo los principales oxidantes el ácido hipocloroso y el ácido clorhídrico, resultado de la reacción de sales como hipoclorito de calcio,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  e hipoclorito de sodio  $\text{NaClO}$ :



Hay una serie de factores que pueden afectar la eficacia del cloro en la desinfección. Así pues, la presencia de sólidos en suspensión

proporcionan un sustrato para las bacterias que ayuda a su proliferación, dificultando la acción del cloro sobre ellas. (La materia orgánica reacciona con el cloro eliminando sus propiedades desinfectantes. El cloro residual puede reaccionar con el amoníaco de tal forma que sus propiedades desinfectantes se vuelven más eficaces. [El pH es un factor importante, aguas con pH bajos son mas fáciles de desinfectar. El pH alcalino ioniza el cloro y reduce su actividad disminuyendo su penetrabilidad (manual Merck, 1993).



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MAKITIMA

Cuando se trabaja con cloro se deben tener en consideración niveles de nitritos debido a que pueden dar una reacción falsa de presencia de cloro cuando se analizan los niveles de cloro con el método de ortotolidine ( Arellano 1990).

### 1.3.1.3 Aplicaciones

En Acuicultura se ha hecho imprescindible la utilización del cloro por ser un potente agente desinfectante, soluble en agua. La clorinación es siempre usada en desinfección en los mantenimientos de cultivos de peces, camarones y moluscos (Meyer et al. 1976).

Se ha utilizado a concentraciones que varían entre los 20 y 200 ppm, aunque estas

concentraciones pueden resultar inefectivas para las desinfecciones de tanques y otros equipos. Estas variaciones en las concentraciones recomendadas por los distintos autores están en función de los factores mencionados anteriormente (materia orgánica del agua, presencia de sólidos en suspensión, pH, características de los patógenos, ...) y de los tipos de producciones.

En el cultivo de moluscos, se hace cloración no sólo para la limpieza y desinfección de las instalaciones. Es un método utilizado para la depuración de las conchas con el fin de reducir la contaminación bacteriana e inactivar organismos adheridos a la misma (Blogoslawski, 1979; Duncan, 1964). Blogoslawski (Blogoslawski, 1979) considera que el uso del cloro es menos eficaz que el ozono o las radiaciones ultravioleta, pero por el bajo costo y facilidad de manejo, recomienda su uso rutinario en la desinfección de facilidades dedicadas al cultivo de ostras y mejillones.

Según Robertson (1993), para minimizar la contaminación y los problemas de enfermedades en los laboratorios de larvas, todas las líneas de agua y las líneas de suministro de aire deben ser esterilizadas por lo menos cada 3 meses mediante la utilización de agua fresca clorinada a concentraciones de 200 ppm. Sin embargo, en el caso de hongos,



Lightner (Lightner, 1993) considera que , el hipoclorito de calcio a concentraciones por debajo de 100 ppm. resulta un tratamiento inefectivo para la eliminación de *Lagenidium* spp. siendo necesarias concentraciones por encima de 500 ppm durante más de 24 horas para que actúe como un micótico efectivo//

Sorgeloos (Sorgeloos,1986) recomienda la utilización del hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio en la desinfección y descapsulación de los quistes de *Artemia* para la eliminación de bacterias antes de su uso como alimento en los tanques de cultivos de larvas. También se ha probado la eficacia del dióxido de cloro en el control de *Vibrio parahaemolyticus* en instalaciones de cultivo de *Artemia* considerando este compuesto como un desinfectante potencial para la Acuicultura (Puente et al., 1992).

### **1.3.2 Formaldehído:**

#### **1.3.2.1 Descripción:**

El formaldehído (HCCHO) fue preparado por el químico ruso A.V. Butlerov, en 1859 (mencionado en Othmer, 1964). A temperatura ambiente es un gas de difícil manejo. Posee un olor fuerte picante y muy irritante para la mucosa de los ojos, la nariz y la garganta. A temperatura baja se condensa en un líquido transparente y móvil.





### 1.3.2.2 Propiedades

BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARÍTIMA

- “ Las soluciones del formaldehído son ligeramente ácidas, con valores de pH comprendidos entre 2.5 y 3.5. Esta acidez se debe a indicios de ácido fórmico. Se comercializa en forma de solución acuosa al 37 % , lo que se conoce con el nombre de formalina. Sus soluciones no pierden sus propiedades antimicrobianas en presencia de materias orgánicas y los agentes no son corrosivos para los metales, pinturas y telas. Una solución del 1 al 10 % se emplea normalmente como desinfectante, (manual Merck, 1993).

### 1.3.2.3 Aplicaciones:

- “ En la Acuicultura el formaldehído es utilizado comúnmente en el tratamiento de enfermedades causadas por organismos epicomensales, protozoarios, infestaciones ocasionadas por hongos, donde resulta ser un quimioterapéutico eficaz. Como desinfectante, se recomienda su utilización en locales cerrados. El uso de formaldehído está limitado pues no ha sido aprobado en especies destinadas a alimentación humana por la FDA y la EPA (Hose y Lightner, 1980).

En piscicultura se ha utilizado, para tratamiento de infestaciones por parásitos externos, aunque se deben tomar precauciones pues su acción tóxica es grande y puede aumentar con el incremento de la temperatura y ocasiona reducción de los niveles de oxígeno (Bassiola, 1968). Las concentraciones recomendadas varían según los autores. Schnick, 1973 recomienda su utilización de 1000 - 2000 ul/litro por 15 minutos en baños de flujo constante, y concentraciones de 167 - 250 ul/litro en tanques (raceways) para piscinas por períodos indefinidos; sin embargo, Bassiola lo utiliza como formalina (30%) (Schnick and Meyer, 1978). En peces de agua dulce, se ha observado que la combinación del formaldehído con verde malaquita es muy eficiente en el control de *Ichthyophthirius* y en peces de agua salada, para el control de *Cryptocaryon* y *Brooklynella*. La combinación de ambos compuestos presenta un efecto sinérgico (Blassiola, 1968).

En el cultivo de invertebrados acuáticos incluídos los camarones peneidos, la formalina ha ganado importancia como un quimioterapéutico (Jonhson, 1974; Schnick et al. 1969).

Una revisión de los usos terapéuticos de la formalina en los tratamientos de varias

enfermedades de camarones penaeidos de cultivo ha sido realizada por Lightner (1977).

La formalina resulta ser un tóxico para las algas en tratamientos de  $13.6 \mu\text{l/l}$ , por lo que no se recomienda la aplicación de ésta en piscinas que tengan un elevado "bloom" de algas, debido a que provoca una disminución en la concentración de oxígeno disuelto. (Allison, 1962).

### **1.3.3 Permanganato de Potasio**

#### **1.3.3.1 Descripción :**

El permanganato de potasio se presenta como cristales de color púrpura oscuro, casi opacos a la luz transmitida y con lustre metálico azul a la reflejada. A veces presenta apariencia bronce oscuro. Es estable al aire (Babor 1965). Es fácilmente reducido por una gran variedad de sustancias. Sus productos de reacción depende de la acidez o alcalinidad de la solución.

#### **1.3.3.2 Propiedades.**

La toxicidad del  $\text{KMnO}_4$  se debe a la formación del ión  $\text{MnO}_4^-$ , que causa destrucción celular por oxidación. Reacciona

rápidamente con la materia orgánica y es reducido finalmente a  $MnO_2$ , que no es tóxico (Engstrom - heg . 1971). En solución, al contacto con materia orgánica libera oxígeno, que oxida a las proteínas, ejerciendo de esta manera una acción antiséptica. Se utiliza como bactericida, oxidante y astringente.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

Se considera que el permanganato de potasio en ausencia de materia orgánica es marcadamente superior en poder desinfectante que el fenol, pero en presencia de fluidos orgánicos es casi inerte.

### 1.3.3.3 Aplicaciones.

Se ha utilizado como desinfectante y como oxidante para disminuir los niveles de materia orgánica en los tanques. En general se utiliza en el tratamiento de aguas, para aliviar de forma temporal la disminución de oxígeno (Tucker y Boyd, 1977). Lay(1971) recomienda la aplicación de 6 mg/l. de permanganato de potasio si en la piscina de peces se presentan problemas de oxígeno.

Como agente oxidante, actúa oxidando sustancias orgánicas e inorgánicas y eliminando bacterias, por lo que reduce el rango de consumo de oxígeno por procesos químicos biológicos (Lay, 1971). Sin



embargo, también se puede provocar un efecto contrario.

Varios autores han señalado su efecto tóxico sobre el fitoplancton. A las concentraciones de 2-3 mg/l, son tóxicos para el fitoplancton, aunque no se observan disminuciones en los niveles de oxígeno disuelto (Allison 1962 ; Phelps et al. 1977). A mayores concentraciones la destrucción del fitoplancton reduce la producción de oxígeno en la fotosíntesis y además, las algas muertas sirven de sustrato a las bacterias (Fitzgerald, 1964 ; Kemp et al. , 1966).

Es efectivo contra bacterias gram-negativas, eliminando el 99% de la población a una concentración de 2 mg/l, también presenta actividad frente a gram-positivas, aunque esta eficacia es alta solamente cuando los niveles de materia orgánica del agua son bajos (Engstrom - heg , 1971).

Se ha utilizado para oxidar otras sustancias utilizadas en la acuicultura como la rotenona (Lawrence, 1956), y antimicina (Marking and Bills 1975) cuando son usados como tóxicos en peces, convirtiéndolos en sustancias no tóxicas para los peces. También es efectivo para eliminar el ácido sulfhídrico y hierro contenido en el agua, aunque su eficacia no está bien demostrada porque puede también oxidar

otras sustancias (Welch, 1963 ; Willey et al., 1964).

En cultivos de peces, se ha utilizado como agente terapéutico en enfermedades de peces es añadido a tanques de cultivo (Duncan 1974). Ensayos con permanganato de potasio usados sobre peces nos dice que es relativamente tóxico para la mayoría de las especies de peces, los valores de LC50 a las 24 - 96 horas para varias especies de peces varían entre 2-4 mg/l, en aguas con bajas concentraciones de materia orgánica (Duncan 1974), sin embargo si el agua presenta elevada concentración de materia orgánica, se puede utilizar 4 - 8 mg/l sin perjuicios para la poblaciones de peces.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MANLILIMA

## **CAPITULO II**

### **2. Materiales y Métodos**

#### **2.1 Materiales**

##### **2.1.1 Equipos**

- a. Estufa incubadora con regulador de temperatura.
- b. Horno de secado y esterilización de materiales de vidrio, con rango de temperatura entre 40 y 250 °C.
- c. Autoclave, para esterilización de medios de cultivos vía vapor de agua, con control de temperatura y presión.
- d. Refrigeradora para el almacenamiento de los medios de cultivos
- e. Cocineta eléctrica, para la preparación de los medios.
- f. Balanza para pesar los medio de cultivos y sustancias.
- g. Mechero de bunsen, como fuente de calor y esterilización.

##### **2.1.2 Materiales**

- a. Cajas petri de vidrio de 150 x 10
- b. Pipetas graduadas de 10 y 5 ml.

- c. Fiolas graduadas de 1000 ml.
- d. Tubos de ensayo de 150 x 16 mm
- e. Picetas plásticas de 500 ml.
- f. Vasos graduados de 500 ml.

### **2.1.3 Reactivos y Químicos:**

- a. Medio de cultivo, agar marino
- b. Agua destilada y esterilizada
- c. Cloruro de sodio
- d. Alcohol absoluto
- e. Permanganato de potasio
- f. Formaldehído
- g. Hipoclorito de calcio.

## **2.2 Métodos**

Este trabajo se realizó en el laboratorio Egidiosa, con la finalidad de evaluar la desinfección que utilizaban en ese momento. La metodología de trabajo fué adaptada de forma que no se interrumpiesen o perturbasen las actividades cotidianas del laboratorio. El trabajo se realizó en el ciclo #7 de producción, correspondiente a los meses de noviembre-diciembre de 1990. Una vez realizada la desinfección, se realizaron muestreos de control cada 4 días después de comenzada la siembra. Las áreas muestreadas fueron las tuberías de agua y aire y las superficies del laboratorio de larvas (pisos y paredes). Dos muestreos más, solamente al inicio de la corrida, se realizaron en los meses de abril y mayo siguientes.



### 2.2.1 Preparación de medios de cultivo.

Para el control del crecimiento bacteriano en las áreas desinfectadas se realizaron siembras en placas petri que contenía el agar , mediante una siembra en superficie. . El medio de cultivo utilizado fue agar marino, que contienen todos los nutrientes necesarios para el crecimiento de las bacterias marinas, incluyendo minerales de composición similar al agua del mar, además peptonas y extracto de levadura, las que han sido reportadas como la mejor fuente de nutrientes de las bacterias marinas. Es considerado como un medio universal, en el que se obtienen crecimientos de colonias totales ( Manual DIFCO.1984)

Se pesaron 55.1 g del medio en polvo y se disolvieron en 1 litro de agua destilada filtrada y esterilizada . Al medio se le añadieron 20 gramos de cloruro sódico, para conseguir una concentración final del 30%, concentración similar a la que tiene el agua del mar, lo que facilitará un mejor desarrollo de las bacterias.

El medio fue disuelto por ebullición y esterilizado por calor húmedo en autoclave a 15 psi, 15 minutos. Una vez esterilizado el medio fue distribuído en cajas petri, en alicuotas de 10 ml, solidificado a temperatura ambiente y conservado en el refrigerador hasta el momento de su utilización.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## 2.2.2 Sistema de desinfección

### 2.2.2.1 Desinfección con cloro

La desinfección se realizó en todos los casos con hipoclorito sódico a una concentración final de 100 ppm. En los muestreos de abril y mayo, se utilizaron concentraciones de 200 ppm.

#### *a. Cloración de reservorios*

Se llenaron los reservorios al máximo de capacidad (200 toneladas) y se agregó hipoclorito de sodio hasta alcanzar la concentración deseada. Una vez clorinados los reservorios se procedió a la desinfección del sistema.

#### *b. Cloración del sistema.*

Se hizo circular el agua del reservorio clorinado por todo el sistema (áreas de fitoplancton, larvicultura, zooplancton y tomas de agua) mediante bombeo del agua que se encuentra en los reservorios previamente clorinadas. Una vez llenas todas las líneas de suministro de agua se dejó actuar al cloro por un período de 24 horas, después de las cuales se bombeó agua de mar fresca para enjuagar

todo el sistema, hasta eliminar todos los residuos de cloro.

*c. Cloración de pisos y paredes.*

20 litros de una solución de hipoclorito sódico a la concentración de 100 ppm fue distribuída por toda la superficie, una vez terminadas todas las labores del día. Después de cada corrida se llenó un reservorio con 100 toneladas de agua y se añadió hipoclorito sódico a la concentración fijada y se regaron las paredes y pisos con la solución, esta solución es dejada sin enjuagar, con la finalidad de que el cloro permanezca impregnado en las superficies.

*d. Cloración de tanques*

Una vez terminada la cosecha se procedió a la limpieza de los tanques, secado y posterior tratamiento con hipoclorito sódico. Dos días antes de comenzar un nuevo ciclo de producción se realizó un nuevo tratamiento de 24 horas.

*e. Determinación de residuos de cloro*

Esta prueba se la realiza después de la desinfección, con la finalidad de detectar los residuos de cloro existentes en el sistema de cultivo. Se procede a la utilización del

químico denominado ortotolidine, el mismo que al ser agregado al agua produce una reacción de color amarilla clara, que indica la presencia de cloro.

Esta prueba es de importancia, debido a que residuos de cloro existentes en las líneas de suministro de agua puede ser mortal para las larvas de camarón.

#### **2.2.2.2 Desinfección con permanganato de potasio y formol**

La desinfección se realizó utilizando una mezcla de ambos compuestos en la proporción 1:2 (1 g de permanganato por cada 2 ml de formol). La cantidad de producto utilizado fue variable dependiendo del tamaño de las instalaciones, este criterio depende del personal encargado de la desinfección. La mezcla de estos dos productos es considerado tóxico, motivo por el cual deben tomarse precauciones en el momento de la desinfección.

Se dejó actuar por un período de 24 horas, después de las cuales, se procedió a la ventilación de las instalaciones y colección de muestras.

##### ***a. Desinfección del departamento de algas***

Se utilizaron 10 recipientes con 100 ml de formol y 50 g de permanganato cada uno,





distribuidos de forma homogénea por todo el departamento.

*b. Desinfección de las áreas de Artemia y larvas*

Ambas áreas están comunicadas, por lo que la desinfección se realizó el mismo día. En el área de larvas, de acuerdo con sus dimensiones, se colocaron 12 recipientes con 200 ml de formol y 100 gramos de permanganato de potasio (Figura 1). Para Artemia, se colocaron 4 recipientes con 100 ml de formol y 50 g de permanganato de potasio (Figura 2). Las instalaciones se cerraron después del tratamiento y permanecieron cerradas hasta el día antes de la siembra.

**2.2.2.3 Desinfección con formol gaseoso**

Las tuberías de aire del laboratorio fueron desinfectadas con la utilización de folmaldehído (formol) en estado gaseoso. Esto se lo realizó conectando directamente la botella que contiene el formol al compresor de aire, ya que con la ayuda de la succión que produce el aparato se distribuye el gas por toda la tubería.

## **2.3 Metodología de trabajo**

### **2.3.1 Toma de muestra**

Se realizaron muestreos en diferentes sitios, con la finalidad de estimar la eficacia de la desinfección realizada con los diferentes químicos empleados. Los sitios que fueron tomados en consideración fueron las tuberías de agua, tuberías de aire, muestreos ambientales de los diferentes departamentos y del ambiente externo del laboratorio, incluyendo también las superficies desinfectadas como tanques, paredes y pisos.

Los muestreos fueron realizados con intervalos de cada 4 días utilizando placas petri que contienen agar marino, incubadas durante 24 horas a una temperatura de 32 °C, para después observar la incidencia y crecimiento de los microorganismos.

#### **2.3.1.1 Tuberías de aire:**

Las tuberías de aire fueron analizadas con intervalos de 4 días desde el inicio de la corrida hasta el final de la misma, realizando muestreos tanto del aire expulsado por estas tuberías como de raspados de las mismas.

#### **2.3.1.2 Raspados de las tuberías de aire**

Se efectuaron en el tanque 8; este punto de toma de muestra fue considerado debido a que reflejara la trayectoria más larga que

recorre el aire por la tubería desde el aireador.

### **2.3.1.3 Análisis microbiológicos de las tuberías de aire**

Se realizan haciendo un raspado en su interior mediante el uso de isopos de algodón esterilizado, inoculado inmediatamente sobre cajas petri que contiene el agar marino, para este fin se utiliza la técnica de siembra en placa por estrias (Austin, 1991).

### **2.3.1.4 Muestra de aire:**

Para muestrear el ambiente interno de las tuberías de aire, se colocó directamente una placa petri que contenía el agar marino, en la salida de aire de la tubería, alrededor de 15 minutos. Después se tapa la caja y se la incubaba a 32 C. (Carvaca,1989).

### **2.3.1.5 Tubería de agua:**

Con las tuberías de agua no se realizaron los muestreos ambientales , debido a la dificultad en la toma de muestra, solo se realizaron análisis de raspados internos de las tuberías.



BIBLIOTECA  
I.C. ING.  
MARI LIMA

## **2.3.2 Muestreos ambientales**

### **2.3.2.1 Departamento de larvas:**

Los análisis bacteriológicos realizados en los ambientes son representativas para evaluar la cantidad y tipos de microorganismos presentes en este sistema.

Para el muestreo correspondiente se escogió un punto dentro del departamento considerado como punto muerto, donde se colocaban las placas de petri con el agar marín, previamente preparadas, y se exponían estas placas abiertas por un período de 15 minutos, después eran incubadas a 32 C. para evaluar la concentración de microorganismos totales existentes.

### **2.3.2.2 Ambiente exterior:**

En cuanto al análisis del ambiente externo se lo realizó justo en frente de la puerta de ingreso al departamento de larvas, tomando en cuenta que es el aire que en algún momento ingresará al mismo.

Este análisis fue realizado para tener una idea de la concentración bacteriana en el exterior del departamento, considerando al aire como un transporte de bacterias de un ambiente a otro.



El tiempo de exposición de las placas de cultivo fue de 15 minutos, después fueron incubadas a 32 °C.

#### **2.3.2.3. Muestreo de la ropa:**

Con la finalidad de encontrar otra posible fuente de contaminación ambiental, se realizaron análisis microbiológicos de la ropa del personal durante la rutina diaria de trabajo. Esta toma de muestra se realizó con la utilización de placas petri con agar marino, exponiéndolas abiertas, sobre las ropa de los trabajadores por intervalos de 5 minutos. Luego fueron incubadas a 32 °C. por 24 horas.

#### **2.3.2.4 Muestreos de superficies:**

Cuando se desea verificar que las superficies previamente desinfectadas están libres de bacterias, se recomienda utilizar una torunda de algodón estéril embebido con un medio líquido ( agua de mar esterilizada) que se frota sobre la superficie a ser analizada. Después este isopo es estriado sobre el agar de cultivo contenido en la placa petri. Esto se realizó sin dilusiones de la muestra antes de realizar la siembra. se lo incubó a 32 C.por 24 horas..

#### **2.3.3 Análisis de Resultados:**



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

### 2.3.3.1 Interpretación:

Para la interpretación de los resultados se utilizó como referencia el porcentaje del crecimiento bacteriano sobre la superficie de la placa petri que contenía previamente el agar marino, esto fue realizado con respecto al área total de la misma.

Esta clasificación se la realizó con observación de la placa de cultivo, utilizando para la interpretación de los resultados nomenclaturas de X, para expresar la concentración bacteriana presente. Este análisis de resultado resulta objetivo, debido a que se realiza una interpretación en forma cualitativa y no cuantitativa. La interpretación se hizo bajo las siguientes características:

X= Fue denominado como poco crecimiento bacteriano, siendo éste un porcentaje menor o igual al 10% del crecimiento bacteriano, en comparación con el área total de la caja petri.

XX= Se consideró como un crecimiento intermedio con un porcentaje de menor o igual al 30%, en relación al crecimiento total de la placa de cultivo, siendo este valor y el anterior considerados dentro del rango de valores que determinan una buena desinfección.

XXX= Se clasificó a esta interpretación como un abundante crecimiento bacteriano, siendo este clasificado como un porcentaje menor o igual al 50% del crecimiento de la placa petri.

XXXX= Un máximo crecimiento bacteriano, considerado como un crecimiento bacteriano mayor al 50 %total en toda la placa de cultivo.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MAYAGÜESA

## CAPITULO III

### **3. Resultados**

En este trabajo se realizó una evaluación de la eficacia del sistema de desinfección utilizado en el laboratorio Egidiosa, y por tanto una evaluación de los productos desinfectantes que dicho laboratorio utiliza.

Por la rutina de muestreo del laboratorio y la forma de recoger las muestras, no se pudieron expresar los resultados de forma cuantitativa, en términos de Unidades Formadoras de Colonias (CFU). Se hizo una valoración subjetiva en base al crecimiento bacteriano. Se asignó una cruz (X) a aquellas placas que después de la siembra mostraron un crecimiento menor o igual al 10% de la superficie de la placa. Dos cruces (XX) equivalen a crecimientos menores o iguales al 30%, tres cruces (XXX) menor o igual al 50% de la superficie y cuatro cruces (XXXX), mayor al 50%.

#### **3.1 Análisis de resultados**

##### **3.1.1 Ambiente de la tubería de aire:**



En las tuberías de aire la desinfección se realizó con formol gaseoso. Como se observa en la **figura 3**, los niveles de contaminación del aire de tubería se mantuvieron estables a lo largo del ciclo de producción. La carga microbiana fue elevada, dando valores iniciales de crecimiento intermedio (XX) en el caso de muestras de ambiente y crecimiento abundante (XXX) cuando se realizaron raspados de las paredes de las tuberías. Las colonias de bacterias consideradas como predominantes en estos muestreos presentaron las siguientes características:

**Color:** Colonias Blancas Cremosas

**Aspecto:** Son consideradas como pastosas

**Forma:** Mantienen su forma redondeada a simple vista.

La carga bacteriana fue mayor cuando se hacían raspados de las tuberías, lo que indica que las bacterias pueden permanecer adheridas a las tuberías y que su eliminación es difícil constituyendo un foco de contaminación. En ambos casos se observó un pico de contaminación en la cuarta toma (29 de noviembre), que pudo ser causado por repentinos cortes de luz que apagaron el aireador, provocando una absorción del agua del tanque a la tubería, causando una contaminación.

Los resultados mostraron que el formol no fue un desinfectante energético para las tuberías de agua y que probablemente sería necesario utilizar desinfectantes más caústicos o corrosivos que desincrusten la materia orgánica y microorganismos fijados a las paredes de los tubos. También de estos resultados se podría recomendar la

utilización de filtros en la salida del aireador, de forma que el aire entre libre de partículas que puedan ser portadoras de microorganismos.

### 3.1.2 Raspado de la tubería de agua

La desinfección de la tubería de agua con hipoclorito sódico a la concentración de 100 ppm fue adecuada, como se observa en la figura 4. La carga microbiana fue escasa en el primer muestreo, aumentando paulatinamente hasta la cuarta toma (29 de noviembre). Esto se debió a que sólo se hizo un recambio de agua al día, lo que posibilitaba el crecimiento de las bacterias en el agua acumulada en las tuberías entre cada recambio. A partir de la cuarta toma comenzó el doble recambio diario y se observó una ligera disminución en la contaminación de las tuberías. No obstante, al final del ciclo de producción la carga microbiana en las tuberías fue elevada. Por sus características morfológicas se detectaron tres tipos de colonias predominantes, aunque no se hizo identificación bioquímica, por no disponer de facilidades. Estas colonias presentaban las siguientes morfología:

**Color:** Colonias blancas azuladas, anaranjadas y cremosas

**Aspecto:** Por lo general las 3 eran pastosas.

**Forma:** Las azuladas se presentaban curvas, y las otras dos de forma redondeada.

### 3.1.3 Raspado de pisos:

El hipoclorito de sodio fue un desinfectante eficaz para pisos. Como se observa en la **figura 5**, los niveles de



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

microorganismos en el piso después de la desinfección fueron bajos. La carga bacteriana aumentó considerablemente con el transcurso de la corrida presentando grandes variaciones entre las distintas muestras que pueden ser debidas al movimiento del personal en las instalaciones, sin adecuada desinfección del calzado. Sólo se detectó un tipo de colonia, con las siguientes características:

**Color:** Colonias blancas cremosas.

**Aspecto:** Pastosas.

**Forma:** Mantenían su forma redondeada, a simple vista y al ser observadas al microscopio.

#### **3.1.4 Raspado de paredes:**

Los resultados observados en los raspados de las paredes fueron incongruentes. Inmediatamente después de la desinfección los niveles de carga bacteriana fueron elevados, disminuyendo a lo largo del ciclo. No se ha encontrado explicación al respecto, aunque se pueden interpretar los resultados bien como errores de muestreo o bien como un fallo en el sistema de desinfección.

#### **3.1.5 Tanques de Cultivo:**

La presencia bacteriana en los tanques de cultivo, está muy influenciada por el suministro de alimentos necesarios para el desarrollo de las larvas de camarón, ya sean estos alimentos balanceados, algas y Artemia. La Artemia está considerada como uno de los mayores vectores de ingreso de bacterias en los sistemas de cultivo. Como sólo nos



interesaba conocer la eficacia de la desinfección de los tanques, se muestreó la superficie de cuatro tanques después de la desinfección y al final del ciclo, sin considerar tomas de muestras de agua durante la corrida. El hipoclorito sódico fue eficaz en la desinfección de los tanques, siendo la carga bacteriana escaza después de la desinfección. Al final del ciclo, la carga bacteriana fue muy elevada, probablemente por la acumulación de bacterias llegadas al tanque por el alimento y por la acumulación de algas bénticas, que forman una película adherida al tanque, que sirve de soporte a microorganismos. Las colonias predominantes fueron:

**Color:** Colonias azuladas y amarillas con bordes azulados

**Aspecto:** Pastosas.

**Forma:** A simple vista son redondeadas.

### 3.1.6 Muestreo de ambientes:

Las secciones muestreadas fueron Artemia, algas y larvas. La mezcla permanganato - formol fue eficaz como desinfectante de ambientes. En el ambiente de las áreas de larvicultura y Artemia, los niveles de contaminación siempre fueron mayores que los observados en el área de algas (**figura 6**). Esto se podría explicar porque las dos primeras son áreas en las que hay mucho movimiento de personal, sobre todo cuando empieza la alimentación con Artemia y porque se produce ventilación cuando se quiere regular la temperatura interna. En el área de algas, con poco movimiento de personal, los niveles de contaminación ambiental fueron siempre bajos. Únicamente aumentaron los niveles en las tomas cuarta y quinta (29 de noviembre y



3 de diciembre) debido a que el laboratorio tuvo problemas de caída de algas y compró algas de otro laboratorio, lo que implica movimiento de personal, ventilación, nuevas fuentes microbianas, etc.

La desinfección con formol gaseoso de las tuberías no fue muy eficaz. La desinfección combinada de ambientes y de superficies con la mezcla permanganato-formol y con hipoclorito de sodio respectivamente dió buenos resultados, aunque en algunos casos no se consiguió reducir la carga bacteriana, como en las paredes (XXXX), tanque 8 (XX) y ambiente de larvas. Por este motivo se realizó un segundo experimento antes de la siguiente corrida, aumentando la concentración de hipoclorito sódico a 200 ppm e incrementando el número de recipientes con la mezcla permanganato-formol. La desinfección de las tuberías de aire en este segundo experimento se realizó con formol líquido a una concentración del 2%. En este caso sólo se tomaron muestras al inicio y al final del ciclo. **La tabla I** muestra los resultados obtenidos en cada una de las áreas/superficies/ambientes muestreados. En general se observó una disminución de la carga bacteriana, mientras que en los tanques 8, 11 y 12, en el ambiente de Artemia y en el ambiente de algas, se evidenció la ausencia total de crecimiento bacteriano. Este protocolo de desinfección se volvió a repetir en el siguiente ciclo de producción, obteniéndose resultados similares (**Tabla 2**).



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## CONCLUSIONES

La desinfección en el laboratorio Egidiosa se la hizo utilizando varios químicos comunmente empleados. Estos químicos son: Hipoclorito de sodio, permanganato de potasio y formol. los mismos que fueron utilizados para desinfectar diferentes superficies y áreas del laboratorio.

En el caso del hipoclorito de sodio se utilizó para la desinfección de superficies ( paredes, pisos, tanques y reservorios), a una concentración de 100 ppm. Esta concentración no resultó eficaz, debido a que no proporcionaba una disminución de la carga bacteriana en las diferentes superficies desinfectadas, lo que provocó que se aumentara la concentración de hipoclorito de sodio al doble (200 ppm.) para las 2 siguientes corridas, donde se pudo observar en alguno de los casos una eliminación total de la carga bacteriana, en tanques y paredes. Esta concentración fue tomada como la aconsejable para las desinfecciones siguientes.

La desinfección realizada a las tuberías de aire., con la utilización de formol en estado gaseoso, demostró que no fue un desinfectante energético , por lo que se utilizó un desinfectante más corrosivo que permita eliminar la materia orgánica incrustada dentro de las paredes de las mismas, por lo que se recomendó utilizar formol en estado líquido, observandose que para la tercera corrida realizada en mayo, hay una disminución en la carga bacteriana, por lo que se puede decir que la desinfección con formol en

este estado resultó más efectivo.

La desinfección realizada con la mezcla de Permanganato de Potasio y Formol resultó efectiva, aunque en el departamento de larvas, a diferencia de los otros (algas y artemia), siempre se presentó con mayor carga bacteriana. Después de esta desinfección se realizaron dos desinfecciones más, y se pudo observar que al aumentar el número de recipientes que contenían esta mezcla la desinfección para los tres departamento fue buena, disminuyendo la carga bacteriana a su totalidad.



## RECOMENDACIONES

BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

1. Se debe establecer una rutina de control microbiológico, con la finalidad de conocer la incidencia bacteriana causante de enfermedades o problemas patológicos dentro de un sistema de cultivo de camarón; esto nos permitirá realizar una cuantificación e identificación bioquímica de las bacterias y poder establecer un diagnóstico .
2. Realizar bioensayos que nos permitan determinar las concentraciones de los químicos y antibióticos utilizados en una corrida de larvas de camarón, y así evitar el uso indiscriminado y posibles problemas de resistencia de los patógenos.
3. Se deben realizar sesiones de trabajo con el personal de planta del laboratorio e instruirlos en la importancia de realizar una desinfección, explicándoles las distintas medidas de precaución que deben ser tomadas en consideración dentro de la rutina de trabajo.
4. Después de este trabajo se decidió realizar las desinfecciones de las tuberías de agua y superficies (reservorios, tanques, pisos, paredes) del laboratorio con hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm. Una



concentración mayor puede ser tomada en consideración, pero económicamente no es factible.

5. En cuanto a las desinfecciones ambientales, la desinfección de los diferentes áreas resultaron con bajas concentraciones bacterianas, pero la utilización de la mezcla de Permanganato de Potasio y formol, resulta muy tóxico e irritante para las personas que realizan la desinfección, así que es necesario buscar otra alternativa de desinfección de ambientes.

6. Se recomienda realizar las desinfecciones de las tuberías de aire con formaldehído al 2 %, debido a que desprende todo el material adherido a la tubería, asegurándonos una disminución bacteriana en la superficie de las mismas. Es aconsejable además colocar un filtro de 0.1 micras en la tubería principal que sale del aireador, para asegurar que el aire que ingresa es puro

7. Establecer dentro de la rutina diaria del laboratorio la desinfección con hipoclorito de sodio (200 ppm.) de las diferentes áreas antes y después de iniciar las labores, colocando además en el ingreso de las áreas una gabeta con cloro, para desinfectar las botas del personal y evitar la transmisión bacteriana de un departamento a otro.

8. Se debería realizar un estudio con base estadística que permita analizar mejor el problema de la contaminación existente y efectuar así una buena desinfección.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

## BIBLIOGRAFIA

1. Allison, R. 1962. The effects of Formalin and other parasiticidas upon oxygen concentrations in ponds. Proc. annual Conf. S.E. Association Game And Fish comm, 16: 446-449.
2. Arellano E.M. 1993. Once años Dedicados a la Investigacion y Desarrollo de la Acuicultura en el Ecuador. Editores Jorge Calderon, Stanislaus Sonnenholzner.
3. Austin, 1991 >Methods in Aquatic Bacteriology (Modern Microbiological Methods., Series II.
4. Babor J.A. and Ibarz, 1965. Quimica General Moderna. Editorial Marin. S.A. tercera reimpression.
5. Barniol, 1995. Pasado, Presente y Futuro de los Laboratorios de Larvas en Ecuador. Revista Especializada de la Cámara Nacional de Acuicultura. Marzo-Abril N. 7.
6. Blogoslawski W.1977 . Ozono as a Disinfectant in Mariculture. N.M.F.S, N.E.F.C, Milford Laboraotry, Milford, Connectycu. N: 371-381. Microbiology, Secon
7. Blogoslawski, 1975. Uso de ozono para enfermedades de crustáceos.

8. Boyd C. 1979. Water Quality in warmwater fish ponds. Department of fisheries and allied aquaculture, by Auburn University Agricultural experiment station.
9. Brock J.A.. 1990. Manual de Enfermedades. ( Optimizacion del cultivo de Larvas de Camaron "Ocular". Auspiciadores FONAPRE-CAF-Banco Central.
10. Brown, C. and D. Russo. 1979. Ultraviolet Light Desinfection of ShellFish Hatchery Sea Water. Elimination of F i v e Pathogenic Bacteria. Aquaculture, Elsevier Scientific Publishing Company., Amsterdam. printed in The Netherlands. 17: 17-23
11. Cámara Nacional de Acuicultura. 1995. Acuicultura Ecuatoriana: Un Sector para invertir.
12. Carvaca, F. 1989. Manual Práctico de Bacteriología Marina.
13. Cornejo, M. , Bonilla M. 1994, Descripción de la situación ambiental en el Golfo de Guayaquil. CENAIM.
14. Chua, T. y P. Kunguankij. 1991. Una evaluación del Cultivo del Camarón en Ecuador. Estrategias para su desarrollo y su diversificación. en Maricultura. P.M.R.C. Serie Estudios 3 23-51.
15. Clarence et al. 1993. El Manual Merck de Veterinaria, MERCK & Co., Inc. Cuarta Edición (2092 p.)
16. Colwell, 1972. Methods in Aquatic Microbiology .University park press , Printed in USA by Wickersham co., INC. Lancaster Penra.



17. DIFCO. 1984 . Dehydrated Cultured Media and Reagents for Microbiology. Tenth edition. (1555p.).

18. Duncan, T.O. 1974 A. Review of literature on the use os potassium Permanganate (KMnO<sub>4</sub>)in Fisheries V.S. Fish wild Ser. Rep. FWS- LR-74-14.61 pp.

19. Encalada. M.H. 1983. Medio Ambiente y desarrollo en el Ecuador. (Reflexiones sobre el Diagnostico) Salvat Editores. Ecuatoriana S.A. Quito Fundacion Natura.

20. Engstrom-Heg R. 1971. Direct Measurement os Potassium Permanganate demand and residual Potassium permanganate. N y fish Game J; 18: 177-122.

21. Fitzgerald, G.P. 1964. Laboratory Evaluation os Potassium Permanganate as an algicide for water Reservoirs. Southwest Water Work J. 45: 16-17

22. Huff, C.B. 1965. Study of ultraviolet Disinfection of Water and Factor in Treatment Efficiency. Vol. 80. N. 8 Thre Ellner v.C. Corporation.

23. Jimenez, R. 1992. Aspectos Inmunologicos del camaron. Diagnóstico de Bactenemia y Septicemia . Acuacultura en el Ecuador. CPC., Vol. 2: 50-51.

24. Lansing M. Prescott, John P. Harley, Donal A. Klein. 1993..

25. Lay, B.A. 1971. Applications for Potassium Permanganate in fish Culture, trans, amer. Fish Soc, 100: 813-815



26. Lightner D.V. 1984, A review of Diseases of cultured Penaeid Shrimp and Prawns with emphasis on recent discoveries and development. First International Conference on the Culture of penaeids, Prawns. Iloilo, City. Philippinnas.

27. Lightner, 1993. Crustacean Aquaculture. CRC. Handbook of Mariculture. Second edition. Vol. I. Edited by James P.Macvey.

28. Puente. 1992. Susceptibility of Brine Shrimp Artemia and its Pathogen *Vibrio parahaemolyticus* to Chlorine dioxide in contaminated Sea-water.. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 465-471.

29. Robertson L., B Bray, T. Sanocha and A. Lawrence. Reproduction os Penaeid Shrimp: An operations Guide. CRC Handbook of Mariculture @ Edition. Volumen I,. Edited by James P. Mcvey.

30. Sorgeloos P.,Lavens P., Léger P., Tachaert W. and Versichele D. 1986. Manual for the Culture and Use of Brine Artemia in Aquaculture.State University of Ghent, Belgium, Faculty of Agriculture (319 p.).

31. Turker C, and C. Boyd, 1977. Relaciones entre el tratamiento con Permanganato de Potasio y la Calidad del Agua.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

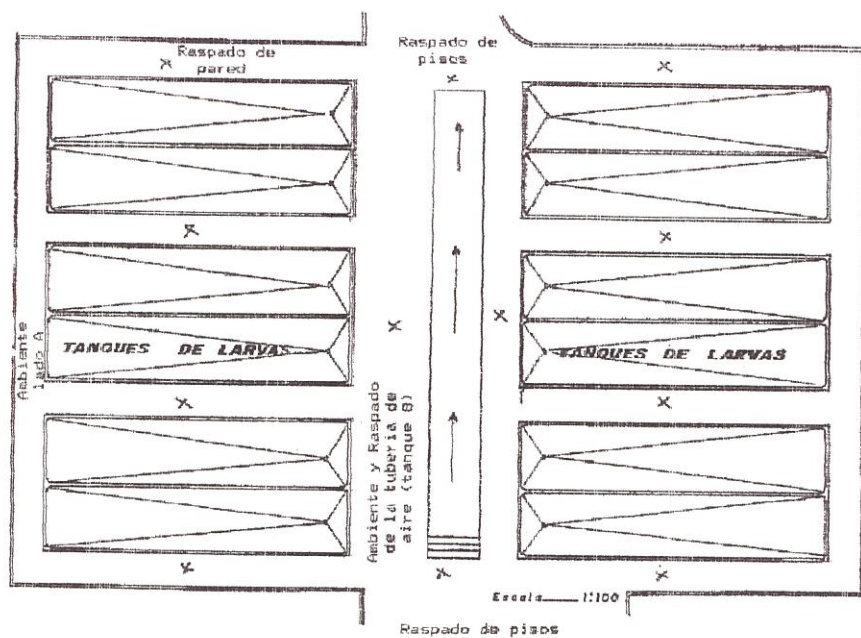


FIG.1 PUNTOS DE MUESTREO EN EL DEPARTAMENTO DE LARVAS

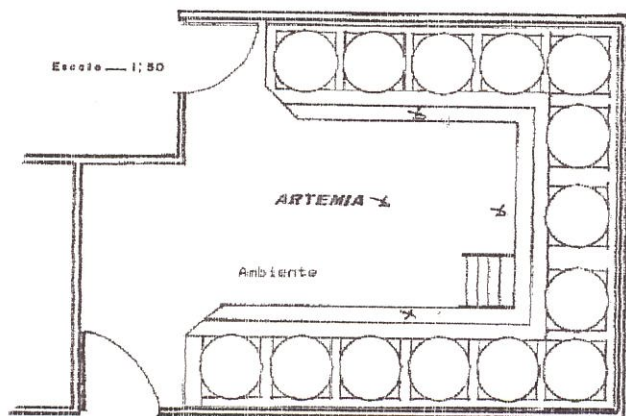


FIG. 2.- PUNTOS DE MUESTREO EN EL DEPARTAMENTO DE ARTEMIA

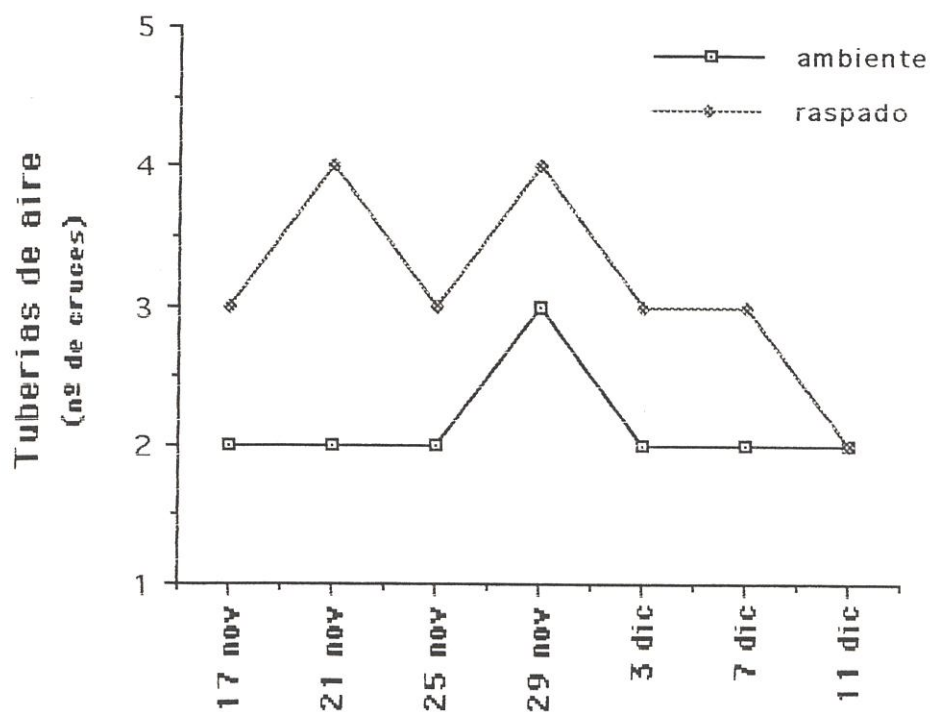


Figura 3. Carga bacteriana en las tuberías de aire durante el ciclo de producción. Las muestras fueron tomadas de aire y de raspado.

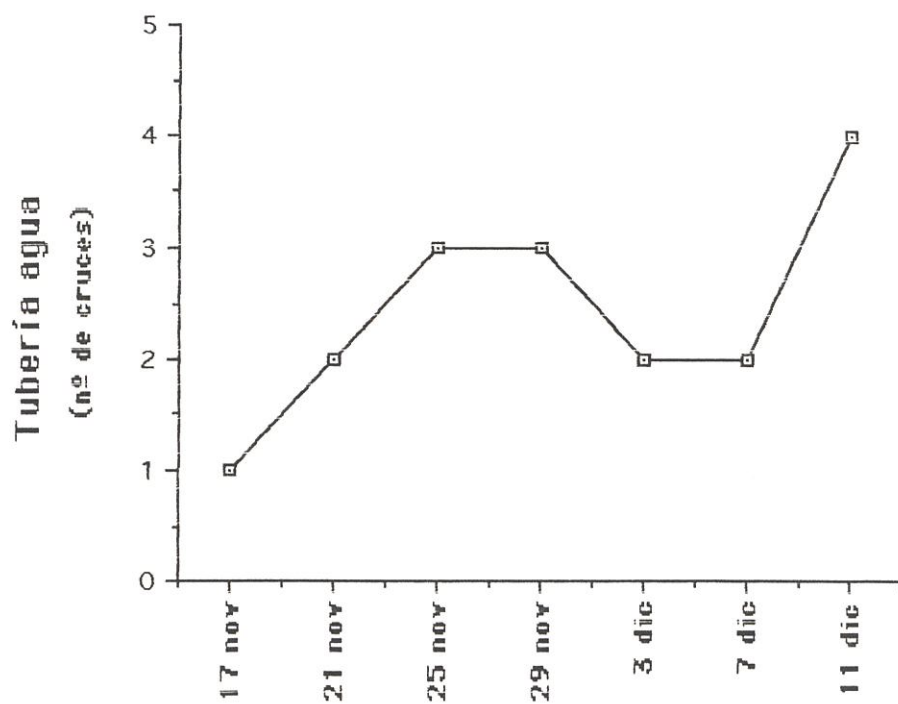


Figura 4. Carga bacteriana en las tuberías de agua durante el ciclo de producción. Las muestras fueron tomadas por raspado de las tuberías.



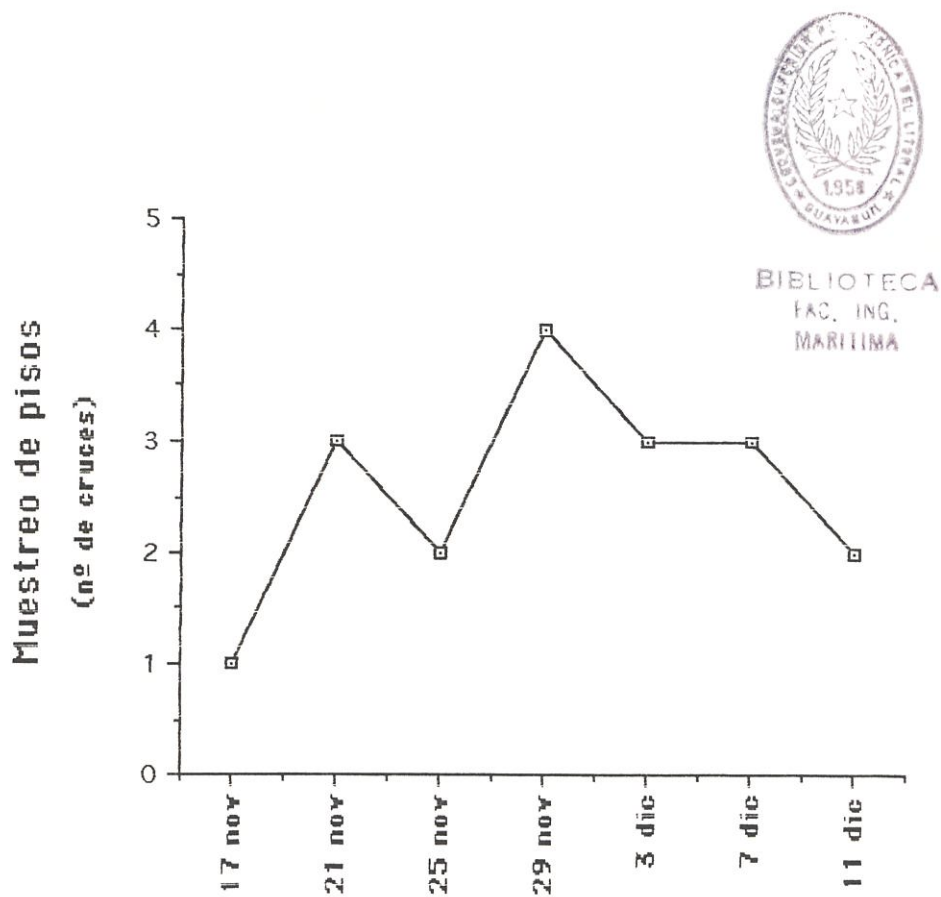


Figura 5. Carga bacteriana en los pisos durante el ciclo de producción. Las muestras fueron tomadas por raspado.

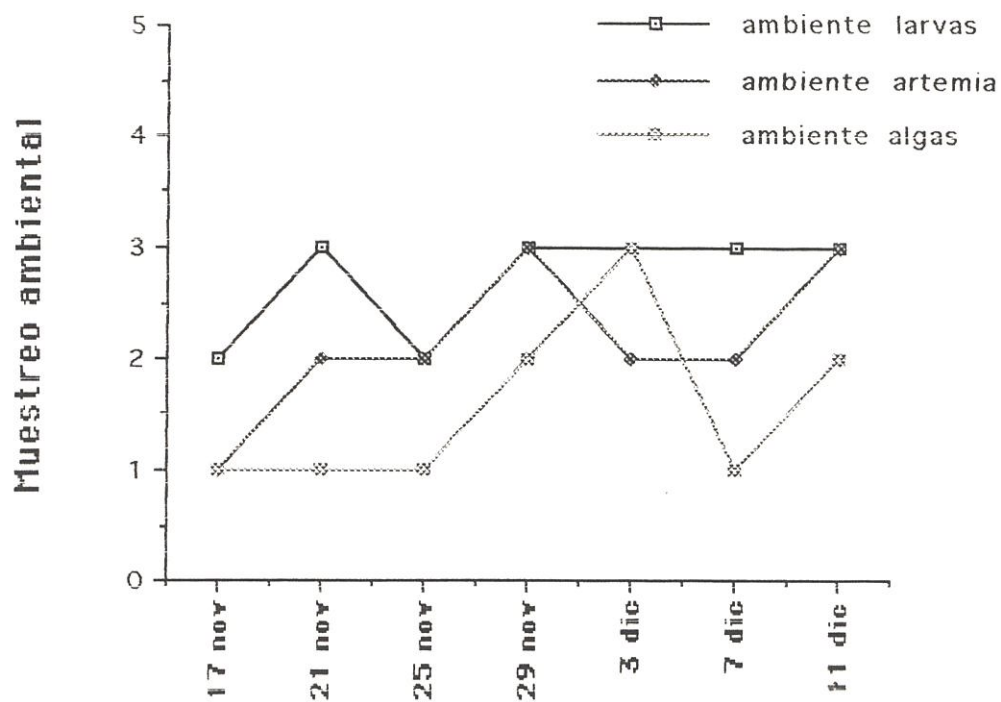


Figura 6. Carga bacteriana en el ambiente de las diferentes áreas durante el ciclo de producción.

TABLA 1. DESINFECCION GENERAL CON HIPOCLORITO DE SODIO (200ppm)  
2da. DESINFECCION

FECHA	TUB.AMB. AIRE	TUB. AIRE	TUBIDE AGUA	TANQUE 1	TANQUE 8	TANQUE 11	TANQUE 12	PISOS	PAREDES	AMB. LARVAS	AMB. ARTEMIA	AMB. ALGAS	AMB. EXTER.
17-04	X	XX	X	X	-	-	-	X	XX	X	-	-	X
COSECHA	TUB.AMB. AIRE	TUB. AIRE	TUBIDE AGUA	TANQUE 1	TANQUE 8	TANQUE 11	TANQUE 12	PISOS	PAREDES	AMB. LARVAS	AMB. ARTEMIA	AMB. ALGAS	AMB. EXTER.
12-05	XX	XXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XX	XX

TABLA 2. DESINFECCION CON HIPOCLORITO DE SODIO (200ppm)  
3ra. DESINFECCION

FECHA	TUB.AMB. AIRE	TUB. AIRE	TUBIDE AGUA	TANQUE 1	TANQUE 8	TANQUE 11	TANQUE 12	PISOS	PAREDES	AMB. LARVAS	AMB. ARTEMIA	AMB. ALGAS	AMB. EXTER.
16-05	X	X	X	-	-	-	-	X	-	X	-	-	X

X= POCO CRECIMIENTO BACTERIANO

XX= CRECIMIENTO INTERMEDIO

XXX= ABUNDANTE CRECIMIENTO

XXXX= MAXIMO CRECIMIENTO

