



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA**

**“PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD PARA EL CONTROL BIOLÓGICO  
DENTRO DEL TRANSPORTE DE POSTLARVA *LITOPENAEUS*  
*VANNAMEI*”**

**PROYECTO INTEGRADOR**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO**

PRESENTADO POR

**LUIS DAVID SANTORUM RAMÓN**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**AÑO: 2017-2018**

## **AGRADECIMIENTOS**

Antes que nada resaltó un agradecimiento especial a Dios por haberme guiado en todo este proceso estudiantil y haber permitido poder graduarme.

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica del Litoral, a la Facultad de Ciencias de la Vida, decanos y profesores por todas sus enseñanzas, por sus principios y valores como institución que apoya al emprendimiento de los jóvenes.

Agradezco inmensamente a mi tutor Diego Arturo Gallardo Polit por haberme apoyado y guiado en este proceso de titulación, por el tiempo brindado, por sus correcciones y asesoría las cuales sirvieron de gran valor para terminar este proyecto.

Agradezco de gran manera a la empresa Genética Marina del Ecuador quienes me dieron la oportunidad de realizar mi tesis dentro de sus instalaciones apoyándome con todos los recursos necesarios para lograr excelentes resultados dentro del proyecto desarrollado.

Agradezco al ingeniero Richard Ordoñez quien como parte directiva de la empresa Genética Marina me abrió las puertas de la empresa para poder realizar mi tesis y poder trabajar en la empresa por un buen tiempo desarrollando muchas de las habilidades y conocimientos adquiridas en mi carrera universitaria.

Agradezco en general a todos mis compañeros del trabajo y compañeros de la universidad quien de manera directa e indirecta fueron parte de este proyecto , me ayudaron con ideas, estrategias, para llegar a la meta.

Y por último pero no menos importante un enorme agradecimiento muy especial a mis padres Jose Santorum y Rosa Ramón por haberme apoyado incondicionalmente en todo momento y brindarme sus buenas costumbres, por darme los buenos y sabios consejos , por siempre alentarme a luchar por alcanzar mis metas y no rendirme.

## **DEDICATORIA**

El presente proyecto dedico con mucho orgullo a mis queridos padres quienes han sido un gran ejemplo de personas luchadoras y perseverantes, los cuales han sido mi motor para poder terminar esta etapa universitaria a través de este proyecto de tesis Materia Integradora.

Para mí es muy importante reconocer todo el esfuerzo y sacrificio que mis padres hicieron para poder darme una buena educación , y por eso, a través de este proyecto que da la pauta para culminar mi carrera y titularme como Biólogo de la ESPOL quiero sobresaltar que estoy inmensamente agradecido por todo con mis padres y decirles con orgullo este título es de ustedes y para ustedes.

# EVALUADOR DEL PROYECTO

---

**Diego Arturo Gallardo Polit**  
Tutor Proyecto Integrador

---

**Diego Arturo Gallardo Polit**  
Profesor Materia Integradora

## DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, me(nos) corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Luis David Santorum Ramon doy (damos) mi(nuestro) consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "David S", written over a horizontal line.

Autor: Luis Santorum Ramón

## RESUMEN

Hoy en día, existen muchos factores que intervienen dentro de los criaderos de larvas de camarón y dentro del proceso de transporte del mismo, resultando difícil poder establecer o identificar las causas por las que estas mueren afectando a la rentabilidad de las empresas que se dedican a este cultivo. Además, no se han documentado estas causas, por lo que la toma de correcciones no ha sido posible todavía. Por lo cual, se establece que este estudio tiene como objetivo diseñar un protocolo de bioseguridad para el transporte de postlarva del camarón blanco *L. Vannamei*, desde el laboratorio de larvicultura a fincas camaroneras. La investigación se llevó a cabo en un laboratorio de larvas ubicado en el sector conocido como “La Diablica” ubicado en la vía principal de Punta Carnero, en el cantón Salinas, provincia de Santa Elena, Ecuador. Para cumplir dicho objetivo de investigación se realizó el desarrollo de un proceso/protocolo de control en el transporte de larva de camarón, con el objetivo de mencionar sus puntos críticos de riesgo biológico. En donde se evaluaron las medidas de control, a través de metodologías vivenciales, encuestas a trabajadores, metodología DMAIC y así lograr la implementación de un protocolo de bioseguridad. Se llegó a la conclusión, de que la asepsia dentro de los procesos de transportes es de alta importancia realizarla debido que la ausencia de esta puede incentivar al aumento de carga bacteriana patógena y provocar la mortalidad de la postlarva. Se suma a esto que las medidas de control propuestas fueron elaboradas con éxito, logrando reestructurar el protocolo que tenía la empresa, o proponiendo un nuevo protocolo para el proceso de transporte, aumentando la supervivencia de la postlarva al llegar a la finca camaronera lo cual genera más rentabilidad. Por último, la aplicación del protocolo de bioseguridad en el proceso de transporte corrobora la importancia de manejar estos procesos bajo estricto régimen para obtener resultados significativamente buenos.

**Palabras clave:** *protocolo de bioseguridad, control de transporte, Litopenaeus vannamei, DMAIC*

## ABSTRAC

*Today, there are many factors that intervene in shrimp larvae hatcheries and in the process of transporting them, so it is difficult to identify the causes for which they die affecting the profitability of the companies that are dedicated to this crop. In addition, these causes have not been documented, so making corrections has not yet been possible. Due to, the present study aims to design a biosafety protocol for the transport of white shrimp *L. vannamei* postlarvae, from the larviculture laboratory to shrimp farms. The research was carried out in a larval laboratory located in the sector known as "La Diablica" located on the main road of Punta Carnero, in the canton of Salinas, province of Santa Elena, Ecuador. In order to fulfill the objective of the research, a control process/protocol was developed for the transport of shrimp larvae, with the aim of mentioning its critical points of biological risk. Where the control measures were evaluated, through experimental methodologies, worker surveys, DMAIC methodology and thus achieve the implementation of a biosafety protocol. It was concluded that asepsis within transport processes is highly important because its absence can encourage an increase in the pathogenic bacterial load and cause postlarvae mortality. In addition to this, the proposed control measures were successfully developed, managing to restructure the protocol that the company had, or proposing a new protocol for the transport process, increasing the survival of the postlarvae upon arrival at the shrimp farm, which generates more profitability. Finally, the application of the biosafety protocol in the transport process corroborated the importance of managing these processes under a strict regimen to obtain significantly good results.*

**Keywords:** *Biosafety protocol, transport control, *Litopenaeus vannamei*. DMAIC*

# ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
EVALUADOR DEL PROYECTO.....	iv
DECLARACIÓN EXPRESA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRAC.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ABREVIATURA.....	x
ÍNDICE DE FIGURA.....	xi
ÍNDICE DE TABLA.....	xi
ÍNDICE DE DIAGRAMA.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
SITUACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
JUSTIFICACIÓN DEL ABORDAJE DEL TEMA.....	2
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	3
CAPÍTULO 1.....	4
1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 LARVICULTURA EN EL ECUADOR.....	4
1.2 ENFERMEDADES Y SUS POSIBLES VECTORES.....	4
1.2.1. VIRUS NECROSIS HEMATOPOYETICA INFECCIONSA (IHHNV).....	5
1.2.2. SÍNDROME DE ZOE II.....	5
1.2.3. VIRUS DEL SÍNDROME DE TAURA.....	5
1.2.4. SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA.....	6
1.2.5. VIRUS DE LA MANCHA BLANCA.....	6
1.3 ASPECTOS DE CONTROL.....	6
1.3.1 BIOSEGURIDAD.....	6
1.3.2 PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTANDAR.....	7
CAPÍTULO 2.....	8
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
2.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	8
2.2 ASPECTOS GENERALES.....	8

2.3 ANÁLISIS DEL ESTADO ACTUAL DEL PROCESO DE TRANSPORTE.....	9
2.3.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DMAIC.....	9
2.4 PROCESO METODOLÓGICO.....	11
CAPÍTULO 3.....	13
3. RESULTADOS.....	13
3.1 SITUACIÓN ACTUAL DEL PROCESO DE TRANSPORTE.....	13
3.2 PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL DE BIOSEGURIDAD BIOLÓGICA.....	14
3.2.1 ETAPA 1 PREPARACIÓN DE LOS EQUIPOS.....	14
3.2.2. ETAPA 2 TRATAMIENTO DE AGUA Y ACLIMATACIÓN.....	14
3.2.3. ETAPA 3 TRANSPORTE.....	14
3.2.4. ETAPA 4 SIEMBRA EN CAMARONERA.....	15
3.3 PROPUESTA DEL PROTOCOLO CONTROL.....	15
3.4 VALIDACIÓN DE LA PROPUESTA DEL PROTOCOLO CONTROL.....	16
3.4.1 EQUIPOS PARA USAR LIBRES DE PATÓGENOS.....	17
3.4.2. AGUA LIBRE DE PATÓGENOS.....	17
3.4.3. ALIMENTO (DOSIFICACIÓN ADECUADA DE ARTEMIA) LIBRE DE PATÓGENOS.....	17
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	18
BIBLIOGRAFÍA.....	19
ANEXO 1.....	20
ANEXO 2.....	21
ANEXO 3.....	22

## **ABREVIATURA**

FOB : Free on Board.

PL: Post Larva (larva de camarón).

FAO : Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación.

IHNNV: Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa.

EMS: Síndrome de Mortalidad Temprana (Early Mortality Syndrome).

AHPNS: síndrome de necrosis hepatopancreática aguda.

TSV: Síndrome de Taura (Taura Virus Syndrome).

WSSV: Virus de Mancha Blanca (White Spot Syndrome Virus).

RDS: Síndrome Deformidad Enanismo (Runt Deformity Syndrome).

CCP: Puntos Críticos de Control.

HACCP: Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control.

DMAIC: Definir , Medir, Analizar, Implementa, Controlar.

CSA: Centro de Servicio Acuícola.

UV: Ultra Violeta.

## ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Ubicación del lugar de estudio (GENEMAR S.A.).....	8
Figura 2. Llenado de las tinas en el transporte.....	22
Figura 3. Aclimatación de la Larva en el despacho.....	22
Figura 4. Larva fondeada por estrés en las tinas de transporte.....	22
Figura 5. Larva muerta por exceso de carga bacteriana.....	22

## ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Formulación de metodología de los 5 porqués de Sakichi.....	21
--	----

## ÍNDICE DE DIAGRAMA

Diagrama 1. Proceso Metodológico DMAIC. Elaborado por el autor....	10
Diagrama 2. Elaboración de la metodología con herramientas didácticas. Elaborado por el autor del documento.....	12
Diagrama 3. Estado Actual del Proceso de Transporte. Elaborado por el autor del documento.....	13
Diagrama 4. Protocolo de Control Biológico. Elaborado por autor del documento..	16

# INTRODUCCIÓN

A nivel mundial en el 2014 se estableció que los productos más comercializados en la acuicultura fueron los moluscos, el camarón blanco y el salmón; la suma de dichos organismos que se obtienen de la acuicultura en ese año son 73,8MM de toneladas, estimando un valor de \$160.200MM de dólares, y esta cantidad de toneladas el 6,9 millones de toneladas provienen directamente del cultivo del camarón blanco generando un monto económico de \$36.200 millones de dólares (FAO, The State of World Fisheries and Aquaculture, 2016)

## SITUACIÓN DEL PROBLEMA

La FAO (2017) afirma en su documento técnico “El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura”, que las exportaciones del Ecuador en el 2015 tuvieron una baja significativa del 11% del valor de FOB (Free on Board) en comparación al 2014, en donde se encontró que de \$2,599 millones disminuyó a \$2,308 millones adicional a esto se identificó que el precio del mercado era mucho menor que el precio del año anterior (...). En relación a las importaciones y compras de productos en el sector camaronero se ha identificado una disminución, teniendo un total de 156 toneles equivalente a \$157 mil dólares con tasa negativa de 32% correspondiente al crecimiento anual del FOB (pág. 100). En Ecuador el INP indicó que la mayor cantidad de camarón blanco producido en fase de comercialización se registra en Guayas en el 2015 obteniendo 138 mil hectáreas cultivadas equivalentes a 65% del total en Ecuador, en segundo lugar El Oro con el 19%, tercer lugar Manabí con 9% y por último Esmeraldas con 7%. (Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones, 2016).

Los señores Wyban & Sweeney, (1991), describe que en los laboratorios donde se cultiva larva de camarón blanco la supervivencia de estas postlarvas son el resultado fundamental para obtener éxito, y esta supervivencia se calcula partiendo del número de nauplios sembrados en relación al número de postlarvas cosechadas en donde se considera como supervivencia normal/estándar cuando su valor promedio es alrededor del 50% (pág. 23). Durante el proceso de producción de la postlarva se ha identificado que la mayor tolerancia a la variabilidad de fluctuaciones en salinidad y tal vez posibles enfermedades en la mayoría de las postlarvas radica entre PL10 y PL40 (Tsuzuki, 2000).

## **JUSTIFICACIÓN DEL ABORDAJE DEL TEMA**

La FAO, (2004) en su documento técnico #450 menciona lo crítico que es el manejo del estrés de la postlarva de camarón por qué es imposible controlar las condiciones climáticas, por lo cual recomiendan que se puedan controlar múltiples variables importantes como la cantidad de animales sembrados, carga bacteriana en entrada alimentos como artemia y algas (pág. 69). En la actualidad los alimentos en dieta seca como: Espirulina, Epibal, Balanceados en general etc.; y dieta líquida: Epialgae, Epilite Z y M, Ligualife, artemia etc., parecen ser óptimos, existe muchas posibilidades de mejorar su calidad. Uno de los más grandes problemas del sector camaronero es la incertidumbre de la calidad de la larva que salen de los laboratorios debido que no controlan ese medio de cultivo y no pueden identificar si realizan o no alguna bioseguridad ambiental biológica en los estanques frente a la entrada de posibles patógenos. (FAO, Manejo Sanitario y Mantenimiento de la Bioseguridad de los Laboratorios de Postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina, 2004)

Es indispensable indicar que en el proceso de transporte actúan como factores estresantes para la postlarva la densidad o cantidad de larvas de camarón dentro de la tina o estanque, el movimiento brusco por golpes fuertes del animal contra la tina, el tiempo/periodo, y los cambios relevantes físico-químicos-biológicos del agua como oxígeno, temperatura, pH (Franco, 1990). La producción de las postlarvas normalmente se realiza en localidades distantes a las fincas camaroneras y por lo cual conllevan a ser sometidas a varias horas de viaje hasta ser sembradas en las precrias en camaroneras, dicho transporte puede desencadenar en una serie de sucesos los cuales no se han considerados por los productores y proveedores de postlarvas, provocando en muchos casos inconvenientes durante el proceso de recepción, transporte y siembra, por lo cual se debe considerar que esta operación/proceso requiere realizarse con mucha rapidez y que los parámetros estén bajo controlados técnicamente. (Franco, 1990).

En la actualidad, los factores de mortalidad en larvicultura son muy complejos de identificar debido a los múltiples factores que intervienen dentro de los criaderos de larvas, y dentro del proceso de transporte existen muchos más problemas que afectan a

nivel biológico a las postlarvas y que aún no han sido documentados, para de esta manera poder realizar las medidas correctivas. Este documento enfatiza en buscar posibles soluciones dentro del proceso de transporte a través de la implementación de un protocolo de bioseguridad disminuyendo la tasa de mortalidad que este proceso conlleva en sus fases de traslado de la larva desde los laboratorios hasta las fincas camaroneras.

#### **OBJETIVO GENERAL**

- ❖ Diseñar un protocolo de bioseguridad dentro del transporte de postlarva del camarón desde el laboratorio de larvicultura a fincas camaroneras.

#### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

- ❖ Establecer el proceso de transporte de larva de camarón con el fin de determinar sus puntos críticos.
- ❖ Proponer medidas de control en el proceso de transporte para el aumento de supervivencia de la postlarva.
- ❖ Evaluar medidas de control mediante la implementación del protocolo.

# CAPÍTULO 1

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 LARVICULTURA EN EL ECUADOR

En Ecuador, el Instituto Nacional de Pesca (INP) hace referencia dentro del listado de registro y aprobación de los laboratorios habilitados para la crianza de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), dando a conocer que existen un total de 131 empresas a nivel nacional, “en la Provincia de Santa Elena se hallan 91 laboratorios conformando el 69,5% del total registrado, ubicando en su mayoría en los sectores de Mar Bravo y Punta Carnero, no obstante dentro de los datos concedidos por la Subsecretaría de Acuicultura, a nivel provincial existe una nómina de 128 laboratorios destinados a la larvicultura”. (Instituto Nacional de Pesca, 2017).

Por otro lado la FAO (2017), describe en su documento “El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura” que los productos más comercializados de la acuicultura a nivel mundial fueron el camarón, el salmón y los moluscos, indicando que en Ecuador el incremento de exportación de camarón es significativo provocando una expansión de camaroneras y a su vez un crecimiento en el número laboratorios de larvas. Este incremento conlleva a desarrollar métodos más intensivos de larvicultura por lo cual estos ha dado pie al incremento de muchas enfermedades. La mayoría de las publicaciones referentes a cultivos de larvas de camarón concuerdan en que lo principal para evitar enfermedades es mantener un buen manejo de la larvicultura junto a un control sanitario estricto, así como a un monitoreo constante para mantener una ecología equilibrada del reservorio. (FAO, 2004).

### 1.2 ENFERMEDADES Y SUS POSIBLES VECTORES

“La presencia de enfermedades bacterianas y virales combinadas con una pobre calidad de agua son la causa principal de eventos de mortalidad de la postlarva” (Chamberlain, 1997).

De acuerdo a Calderon (2005) indica que a Artemia es un alimento esencial para las postlarvas en cada laboratorio y que en las dimensiones en que este se lo use, es importante conocer que dentro del quiste o huevo de Artemia se puede encontrar bacterias y hongos convirtiendo esto en un posible vector patógeno.

La presencia de este quiste hace a la Artemia en un vector importante de patógenos, provocando que se vuelva complejo su desinfección o descapsulación (Calderon, 2005). “Algunas de las enfermedades más importantes que le perjudican a la larvicultura son: Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHHNV), Síndrome de Zoea II (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*), Enfermedad de luminiscencia, (NHP-B), síndrome de mortalidad temprana del camarón (EMS, por sus siglas en inglés) o síndrome de necrosis hepatopancreática aguda (AHPNS, siglas en inglés), Virus del Síndrome de Taura (TSV) y Virus de la Mancha Blanca (WSSV)” (Cuellar et, 2014)

### **1.2.1. VIRUS NECROSIS HEMATOPOYETICA INFECCIONSA (IHHNV)**

Las especies de camarones peneidos (*Penaeus monodon*, *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*), desde sus estadios larvarios son muy afectadas por el IHHNV. Pero es muy importante mencionar que el IHHNV no genera la mortalidad del camarón, sino que le genera una enfermedad denominada Runt deformity Syndrome (RDS) "enanismo", que consiste en la deformidad cuticular y no permite que el camarón crezca con normalidad. (Organismo Animal de Sanidad Mundial O. , 2016a)

### **1.2.2. SÍNDROME DE ZOE II**

El síndrome de la zoea-2 se caracteriza por la reducción en la tasa de alimentación, incapacidad para la metamorfosis seguido de altas mortalidades, este síndrome afecta a las larvas de camarón más producidas en América: *P. vannamei* y *P. stylirostris*, siendo esta última menos sensible. Los síntomas comienzan a hacerse evidentes a las 36 y 48 horas después de la muda se zoea II.

### **1.2.3. VIRUS DEL SÍNDROME DE TAURA**

Esta enfermedad en los años 95 al 2000 causó grandes pérdidas financieras con índices de mortalidad de hasta el 90%. *L. vannamei* y *L. stylirostris* son las especies de mayor concurrencia para ser hospederos de TSV en su etapa juvenil (Organismo Animal de Sanidad Mundial O. , 2016b). Según (Vanpatten & et, 2004), uno de los vectores son las aves,

como las gaviotas, al dejar sus heces en las piscinas de engorde o tanques de larvicultura, estas se las comen, corriendo el riesgo de una infección a largo plazo.

#### **1.2.4. SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA**

El nombre es debido a la mortalidad del camarón que produce en sus estadios tempranos dentro del cultivo, posteriormente fue renombrada como “Síndrome de la necrosis hepatopancreática” (AHPNS). Esa enfermedad provocó múltiples pérdidas monetarias grandes en los productores de camarón (Tailandia, Vietnam, China) (Cuellar-Anjel, 2013). Se conoce como mortalidades completas cuando se alcanza hasta 100% en los estanques afectados, durante los primeros 5-20 días de cultivo ( en la etapa de engorde) y días después que se presentan síntomas de la enfermedad en las piscinas. (Cuellar-Anjel, 2013)

#### **1.2.5. VIRUS DE LA MANCHA BLANCA**

Siendo una de las enfermedades con virulencia alta y amplio espectro, su poder de infestación abarca una gran variedad de crustáceos acuáticos, que van desde todas las especies de camarones marinos hasta cangrejos y langostas (Organismo Animal de Sanidad Mundial S. , 2016c). Se puede detectar la enfermedad en postlarvas, juveniles y adultos, en esa edad son más visibles los signos clínicos. El porcentaje de infección aumentará si el cultivo es expuesto a condiciones adversas extremas como: cambio de pH, salinidad, temperatura, muda, entre otros). (Organismo Animal de Sanidad Mundial S. , 2016c).

### **1.3 ASPECTOS DE CONTROL**

#### **1.3.1 BIOSEGURIDAD**

Tener o conseguir una buena bioseguridad dentro de los laboratorios de larva de camarón es indispensable para una buena producción tanto en el cultivo como en el proceso de transporte. De esta manera para entender la importancia de la bioseguridad esta se la define como “el conjunto de

prácticas que reducirán la probabilidad de introducción de patógenos y la subsiguiente propagación de un sitio a otro”...» (Lotz, 1997).

De acuerdo a la FAO (2004), los métodos físicos, biológicos y químicos son los elementos básicos para establecer un programa de bioseguridad los cuales son importantes para mitigar y proteger el laboratorio de las posibles consecuencias de aquellas enfermedades que representan un alto riesgo biológico. Un debido control para una bioseguridad eficaz conlleva tener en cuenta las enfermedades, desde los puntos de vista técnicos hasta aspectos económicos.

### **1.3.2 PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTANDAR**

La FAO (2004), describe en su documento técnico #450 que todos los laboratorios deben tener desarrollado su propia estructura de procedimientos estándar los cuales resumirán el protocolo de control a aplicar dentro del laboratorio, estos deben estar documentados en detalle cubriendo el proceso del ciclo de producción. El protocolo debe indicar detalles de los puntos críticos de control (CCP) y explicar cómo se realiza cada actividad para controlar el riesgo mencionado. Una vez que el proceso del protocolo se documenta, los Procedimientos de Operación Estándar deberán ser impartidos a todo el personal, y adicional a esto se debe dejar una copia accesible para los trabajadores en un lugar visible.

# CAPÍTULO 2

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se lo realizo en un laboratorio de larvas ubicado en el sector conocido como “La Diablica” ubicado en la vía principal de Punta Carnero, en el cantón Salinas, provincia de Santa Elena, Ecuador. Este sector es uno de los mas considerados como zona muy productiva y de alta importancia para la industria camaronera porque es uno de los primeros procesos de producción en sus estadios tempranos. Dentro de esta zona de estudio se trabajó específicamente en el laboratorio de larvas (Figura 1) Genética Marina del Ecuador (GENEMAR S.A), Mz 2215 solar 3-5, 8-10.

El presente estudio se lo realizo en los meses de octubre 2017 a febrero 2018, desarrollando el proceso de transporte una vez por mes, obteniendo datos de 5 despachos en total.

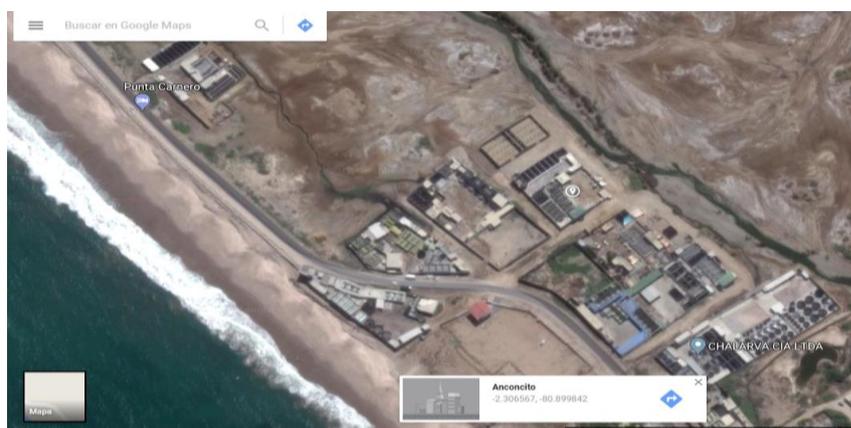


Figura 1. Ubicación del lugar de estudio (GENEMAR S. A). Fuente Google Maps.

### 2.2 ASPECTOS GENERALES

La empresa es relativamente nueva, fue creada en septiembre del 2016, trabajando directamente con un grupo específico de camaronera (venta directa). Sus instalaciones estas divididas en dos módulos, contando cada uno con área de producción, modulo 1 con 18 tanques (10 de 25 tn, 6 de 18 tn, y 2 de 14 tn), modulo 2 con 14 tanques de 30 tn, área de cosecha, área de bombeo, área de artemia, área de parqueo para los camiones, área de bodega de insumos, área de análisis patológicos, área de cocina, área de dormitorios, etc. La empresa

cuenta con 20 empleados entre técnicos, asistentes técnicos, operarios (personas que alimentan y limpian las instalaciones), contador, guardia.

Contiene una densidad de siembra estándar de este laboratorio es de 150 a 200 larvas por litro. Posterior a la cosecha de la larva se lleva a cabo de 4 a 7 días de secado, para su debida desinfección.

## **2.3 ANÁLISIS DEL ESTADO ACTUAL DEL PROCESO DE TRANSPORTE**

Para poder determinar el estado actual del proceso de transporte, este debe manejarse como cualquier proceso de producción general, la investigación se facilita mediante la aplicación de un sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), según (Weirich, Segars, Bruce, & Browdy, 2002) el HACCP como herramienta de corrección, es un sistema preventivo para identificar los riesgos y esto se ha manejado ampliamente para mejora y control de riesgos/peligros en los sistemas de proceso de alimentos en la salud. Se establecen indicadores estrictos para el manejo de los puntos críticos de control (CCP) en el cual se enfatiza que controles se necesitan hacer como método preventivo, dando así el resultado eliminar o mitigar los riesgos de enfermedades patógenas.

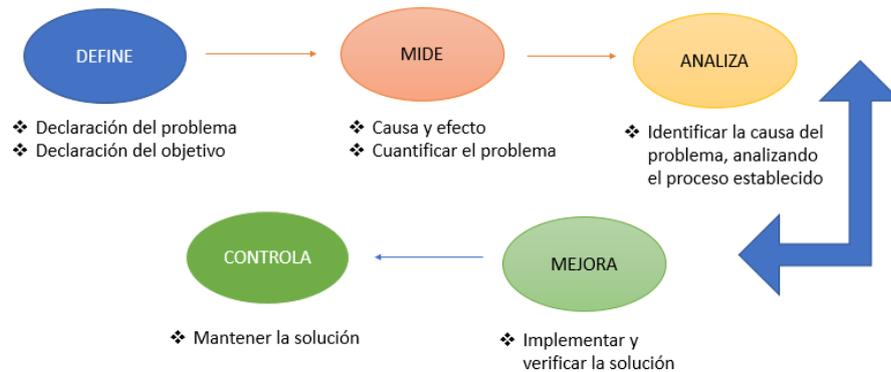
Para poder determinar estos puntos críticos de control que propone el HACCP y se procedió a usar la metodología de DMAIC, el cual consiste en identificar los riesgos potenciales a través de sus fases (Diagrama 1). La combinación de estos análisis nos permite tener una visión un poco más general de los problemas que se generan en el proceso de transporte y a su vez implementar los posibles correctivos de esta manera desarrollar o implementar protocolos de bioseguridad

### **2.3.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DMAIC.**

La metodología DMAIC fue elaborada por la empresa Motorola a principio de 80, en donde dicha metodología tiene como enfoque el incrementar los procesos de producción, cada uno de estos pasos tiene se enfoque en tener excelentes resultados minimizando los errores dentro de los procesos.

Los pasos estándares (Diagrama 1) se detallarán a continuación:

# DMAIC



**Diagrama 1.** Proceso Metodológico DMAIC. Elaborado por el autor del documento.

- a. **Definir:** establecen en poder definir las necesidades del cliente o problema que se tiene y entender los puntos importantes afectados. Estos requerimientos del cliente se denominan CTQ (por sus siglas en inglés: Critical to Quality, Crítico para la Calidad). Este paso nos ayuda a definir quién es el cliente, sus requerimientos y expectativas. Además, se determina el alcance del proyecto: las fronteras que delimitarán el inicio y final del proceso que se busca mejorar. En esta etapa se elabora un mapa del flujo del proceso.
- b. **Medir:** Logrado entender al cliente o problema esta etapa ayuda a establecer el desempeño actual del proceso que se busca mejorar. Aquí se utilizan los supuestos puntos críticos para la calidad, para determinar los indicadores y tipos de defectos que se utilizarán durante el proyecto. Se diseña el plan de recolección de datos y se identifican las fuentes de estos, se lleva a cabo la recolección de las distintas fuentes, se organizan las hipótesis causa-efecto. Por último, se comparan los resultados actuales con los requerimientos del cliente para determinar la magnitud de la mejora requerida.
- c. **Analizar:** en esta etapa se recolecta información para analizar y determinar las causas raíz de los defectos y oportunidades de mejora. Posteriormente se tamizan las oportunidades de mejora, de acuerdo con su importancia para el cliente y se identifican y validan sus causas de variación.
- d. **Implementar:** Se estructuran la solución con el enfoque de atacar el de raíz las dificultades o problemas y que los resultados obtenidos sean de acuerdo

a las expectativas y necesidades del cliente. Todo este proceso se denomina plan de implementación.

- e. **Controlar:** en esta última etapa se valida las soluciones, y se refuerza los controles o se implementan nuevos controles de ser necesario para asegurar que el proceso nuevo tenga éxito. Para evitar que la solución sea momentánea, es necesario documentar todo el nuevo proceso y hacer un seguimiento del plan sosteniendo al proyecto a lo largo del tiempo.

## 2.4 PROCESO METODOLÓGICO

La metodología DMAIC, en su primer punto de “Definir” problemas se lo realizó a través de la experiencia vivida o “Metodología Específica Vivencial”, que consistió en estar personalmente durante todo el proceso de transporte, desde la cosecha de la postlarva en el laboratorio, viajando junto con los camiones durante el transporte en sí, y la siembra en las fincas camaroneras, en múltiples días para obtener una percepción del manejo de este proceso, sin cambiar ningún factor, solo observar y anotar posibles fuentes de contaminación de patógenos en base a la experiencia del autor (Diagrama 2).

Habiendo identificado algunas falencias dentro del proceso de transporte, se procedió a usar las herramientas de “Entrevistas de Contextos”, “Los 5 porqués” (Anexo 1, Tabla 1), un método basado en realizar preguntas sencillas y clara a todos los trabajadores del laboratorio para explorar las relaciones de causa-efecto que generan un problema en particular, de esta manera obtener una perspectiva más amplia del HACCP, los cuales nos llevan a la fase 2 y 3 de DMAIC, “Mide y Analiza”, para así poder obtener datos cuantitativos y cualitativos del estado actual del proceso de transporte y a su vez realizar su correspondiente análisis, de esa manera proponer posibles medidas de control (Diagrama 2).

En base a los datos obtenidos y la experiencia obtenida en el proceso de mi carrera como Biólogo se procedió a la siguiente fase de DMAIC. Fase 4 “Mejora”, previo al análisis elaborado del proceso de transporte y teniendo claro las fuentes de contaminación se establece una posible mejora implementando cambios en los puntos críticos de control, de esta manera se esquematiza la propuesta de un protocolo para aumentar la supervivencia de la postlarva disminuyendo el estrés de la larva (Diagrama 2)

Presentadas las posibles mejoras, se plantea la última fase de DMAIC. Fase 5 “Controla”, el cual consiste en la aplicación de dichas mejoras en al menos un día de despacho, haciendo su respectivo seguimiento de control, para determinar si existe o no alguna diferencia en el porcentaje de supervivencia de la larva (Diagrama 2).

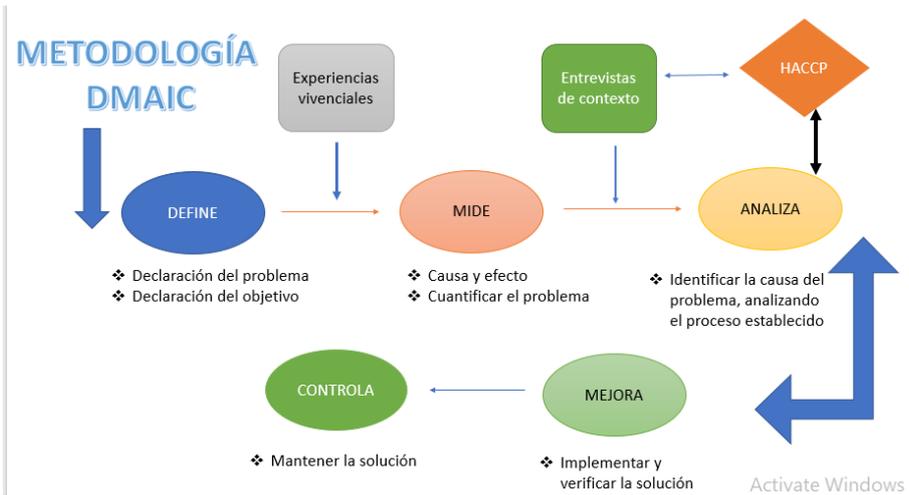


Diagrama 2. Elaboración de la metodología con herramientas didácticas. Elaborado por el autor del documento.

# CAPÍTULO 3

## 3. RESULTADOS

### 3.1 SITUACIÓN ACTUAL DEL PROCESO DE TRANSPORTE.

Para poder estructurar un protocolo de control es necesario identificar el estado actual del proceso que maneja el laboratorio de larvas. Durante el análisis de dicho estado a través de DMAIC, se encontraron algunos problemas de manejo de transporte (Diagrama 3), especificando los Puntos Críticos de Control (CCP).

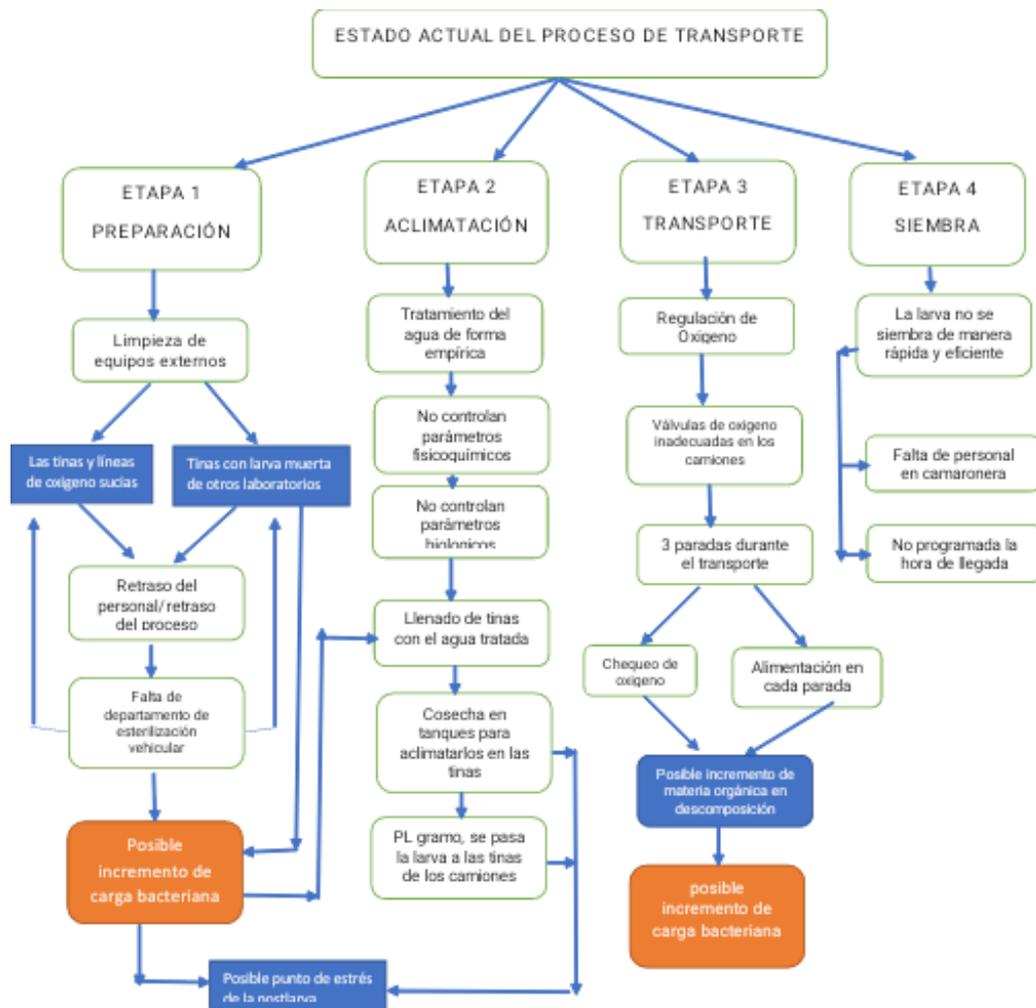


Diagrama 3. Estado Actual del Proceso de Transporte. Elaborada Por el autor del documento.

## **3.2 PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL DE BIOSEGURIDAD BIOLÓGICA.**

### **3.2.1 ETAPA 1 PREPARACIÓN DE LOS EQUIPOS**

Posible aumento de carga bacteriana biológica debido a tinas sucias dentro de los camiones, como dichos camiones son de empresa contratista de transporte tienen embarques en múltiples laboratorios de larvas, en ocasiones llegando con larva muerta de otros lugares a nuestras instalaciones (no se sabe el estado biológico de dicha larva), lo cual ocasiona un gran retraso de los trabajadores al limpiar y desinfectar todas las tinas y como el proceso es nocturno existe una posibilidad que no queden bien limpias lo cual da propicio a contaminación bacteriana.

Las líneas de oxígeno que los camiones tienen no son las óptimas para el transporte debido que las flautas (reguladoras de oxígeno), son de plástico y no son segura, con el movimiento del vehículo están tienden a cerrarse o abrirse provocando el exceso o escases del oxígeno provocando un estrés a la larva, añadiendo la falta de asepsia de estas, de las piedras difusoras de oxígeno y las mangueras en sí, da como resultado un aumento en la carga bacteriana dentro de las tinas donde se transporta la postlarva. (Anexo 3, Figura 2)

### **3.2.2. ETAPA 2 TRATAMIENTO DE AGUA Y ACLIMATACIÓN**

La falta de un buen manejo en el tratamiento del agua para el embarque o despacho de postlarva es también uno de los mayores problemas de la empresa, al no tener un protocolo de regulación para tratar el agua que ingresa directamente del mar, no se sabe a ciencia cierta si está libre o no de carga bacteriana, lo cual es considerado como un vector potencial de contaminación biológica afectando directamente el proceso de transporte. (Anexo 3, Figura 3)

### **3.2.3. ETAPA 3 TRANSPORTE**

Sobrealimentación, el transporte de la postlarva dura entre 6 a 8 horas aproximadamente dependiendo del lugar de destino (finca), en el laboratorio se alimenta cada 3 horas a la larva dentro de los estadios de PL, debido a esa idea implementada en los trabajadores, ellos alimentaban

con *Artemia sp* de dos a tres veces en el transporte ocasionando una sobre alimentación, dando inicio a que el agua aumente su carga de materia orgánica en descomposición, provocando el aumento de amonio, disminución del pH, disminución del oxígeno, teniendo como resultado final un estrés fuerte de la larva al punto de provocar que se “fondee” o incluso la muerte de la misma. (Anexo 3, Figura 4)

#### **3.2.4. ETAPA 4 SIEMBRA EN CAMARONERA**

En camaroneras, el manejo de siembra de cada sector no es el adecuado, debido que una vez el camión con la larva llegaba a la camaronera no hay quien reciba inmediatamente retrasando la siembra de este, ocasionando un aumento de materia orgánica en descomposición debido a los factores antes mencionados, esto provoca que la larva este mucho tiempo en las tinajas bajo esas condiciones, generando un índice de mortalidad que se nota claramente el en momento de su respectiva siembra en las precrias de las camaroneras (Anexo 3, Figura 5)

### **3.3 PROPUESTA DEL PROTOCOLO CONTROL**

Identificado los puntos críticos de control según DMAIC, se presentó una propuesta de control (Diagrama 4) para disminuir las entradas de contaminación biológica y a su vez asumir que estas medidas de control disminuirán el porcentaje de mortalidad dentro del proceso de transporte.



Para la corroboración de esta medida de control se mandó a realizar análisis microbiológicos de la larva en el Centro de Servicio Acuícola (CSA), antes de la aplicación del protocolo control y después de aplicar el protocolo control, dando como resultado una gran disminución de carga bacteriana en un  $70\% \pm 2\%$  (datos estrictamente de la empresa).

#### **3.4.1 EQUIPOS PARA USAR LIBRES DE PATÓGENOS**

Todos los equipos externos a la empresa dentro del proceso de transporte llegaron limpios sin excepción, sino llegan limpios, y sin ningún tipo de animal muerto (postlarvas), indicando que estén libres de patógenos, estos no se los usaran dentro del transporte. Protocolo implementado directamente con la empresa transportista que provee de camiones al laboratorio.

#### **3.4.2. AGUA LIBRE DE PATÓGENOS**

Para evitar el ingreso de patógenos dentro del reservorio el agua debe ser tratada y filtrada 48 horas previas al despacho de la larva de manera estricta cumpliendo con las normas de desinfección de la FAO en su documento técnico 450 la limpieza inicial es con cloro , posterior a eso se decanta, el agua deberá ser filtrada dos veces con un filtro más fino y posterior a eso sera desinfectada mediante ozono luz ultravioleta.

#### **3.4.3. ALIMENTO (DOSIFICACIÓN ADECUADA DE ARTEMIA) LIBRE DE PATÓGENOS**

Debido que la artemia es un vector influyente para los patógenos y esta se la siembra o prepara con agua cruda (agua directa de mar) sin ser tratada previamente, al momento del despacho de la postlarva, los bolos de artemia de la cocina en baño maría para eliminar cualquier tipo de contaminación bacteriana. También en el viaje solo se alimentó una vez a la postlarva, de esta manera no se aumenta la carga de materia orgánica en descomposición.

# **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## **CONCLUSIONES**

- I. En conclusión, la asepsia dentro de los procesos de transportes es de alta importancia realizarla debido que la ausencia se esta puede incentivar al aumento de carga bacteriana patógena y provocar la mortalidad de la postlarva.
- II. La observación de los Puntos Críticos de Control (CPP) fue clara y precisa, los vectores de contaminación bacteriana se lograron identificar con el método DMAIC para corregir cualquier entrada de contaminación patógena (virus y bacterias).
- III. Las medidas de control propuestas fueron elaboradas con éxito, logrando reestructurar el protocolo que tenía la empresa, o proponiendo un nuevo protocolo para el proceso de transporte, aumentando la supervivencia de la postlarva al llegar a la finca camaronera.
- IV. La aplicación del protocolo de bioseguridad en el proceso de transporte corrobora la importancia de manejar estos procesos bajo estricto régimen para obtener resultados significativamente buenos.

## **RECOMENDACIONES**

- I. Se recomienda implementar un protocolo de bioseguridad para el proceso de producción del laboratorio.
- II. Se recomienda capacitar al personal del laboratorio para realizar buenas prácticas de manejo y bioseguridad.
- III. Es recomendable hacer evaluaciones trimestrales de los porcentajes de supervivencia de postlarva en el proceso de transporte para determinar si el protocolo se lleva a cabo con rigidez o se debe implementar nuevas mejoras.

## BIBLIOGRAFÍA

- Calderon, J. (2005). *El Estado Actual de la Acuicultura en Ecuador: Perfiles de Nutricion y Alimentacion*. San Pablo.
- Chamberlain, G. W. (1997). Sustainability of World Shrimp Farming. 195-209.
- Cuellar et, a. (2014). Guía Técnica de Patología e Inmunología de camarones Peneidos. 1-274 pp.
- Cuellar-Anjel, J. (2013). Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS), Enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopancreas (ANPND). 50-62.
- FAO. (2004). Manejo Sanitario y Mantenimiento de la Bioseguridad de los Laboratorios de Postlarvas de camarón blanco en América Latina. *FAO INFORMATION DIVISION*, 69.
- FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture. *FAO INFORMATION DIVISION*, 1-230 pp.
- FAO. (2017). El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. *FAO INFORMATION DIVISION*, 1-200pp.
- Franco, A. (1990). Manejo Técnico de Granjas Camaroneras . *Pradepesca Manual*, 9-17.
- Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones. (2016). *Perfil Sectorial de Acuicultura*. Guayaquil.
- Instituto Nacional de Pesca, I. (2017). *Informes de Laboratorio Registrados y Aprobados*. Ecuador.
- Lotz, J. M. (1997). Disease control and pathogen status in an SPF-based shrimp aquaculture industry, with particular reference to the United States. 21-24.
- O, F. A. (2004). Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina. *FAO Documento Tecnico de Pesca No 450*, 69p.
- O, F. A. (2016). Contribucion a la Seguridad Alimentaria ya la Nutricion para Todos. En O. d. Agricultura, *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura*. Estados Unidos.
- Organismo Animal de Sanidad Mundial, O. (2016a). Manual de las Pruebas de Diagnostico para los Animales Acuaticos. Paris, Francia.
- Organismo Animal de Sanidad Mundial, O. (2016b). Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Paris, Francia.
- Organismo Animal de Sanidad Mundial, S. (2016c). Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Paris, Francia.
- Tsuzuki, M. Y. (2000). The effects of temperature, age, and acclimation to salinity on the survival of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae. *World Aquaculture Society* , 459-468.
- Vanpatten, K. A., & et, a. (2004). Seabirds as potential vectors of penaeid shrimp viruses and the development of a surrogate laboratory model utilizing domestic chickens. 31-46.
- Weirich, C. R., Segars, A., Bruce, J., & Browdy, C. (2002). Development and implementation of biosecurity protocols and procedures at the Waddell Mariculture Centre. . 12-19.
- Wyban, J. A., & Sweeney, J. N. (1991). The Oceanic Institute Shrimp Manual. *The Oceanic Institute*, 24-28.

**ANEXO 1**  
**ENTREVISTAS DE CONTEXTO AL PERSONAL QUE LABORA DENTRO DEL LABORATORIO**

1.- ¿Cargo que ocupa dentro de la empresa?

---

2.- ¿tiempo que tiene trabajando en la empresa?

---

3.- ¿Está usted a gusto con el proceso de transporte que maneja la empresa?

SI

PORQUE\_\_\_\_\_

4.- ¿Cree usted que el proceso de transporte se lo puede mejorar?

SI  NO  Explique como\_\_\_\_\_

5.- ¿Cuál cree usted que son los puntos de contaminación biológica dentro del proceso de transporte?

---

---

6.- ¿cree usted que se pueden mitigar esos puntos de contaminación biológica?

SI  NO

7.- ¿Qué haría usted para mitigar los puntos de contaminación biológica?

---

---

## ANEXO 2

**Tabla 1.** Formulación de la Metodología de los 5 porqués de Sakichi Toyoda.

PROBLEMA A ESTUDIAR	N° de persona encuestada/ N° de respuesta	Pregunta 2	Pregunta 3	Pregunta 4	Pregunta 5/ punto de posible solución	
¿Por qué se muere la postlarva en el proceso de transporte?	1	Por exceso de materia orgánica	¿Por qué hay un exceso de materia orgánica?, porque se alimenta muchas veces en el transporte	¿Por qué se alimenta muchas veces en el transporte? Porque así nos dicen que hagamos	¿Por qué así le dicen que hagan? Porque no nos capacitan	Capacitar al empleado sobre la saturación de materia orgánica en el agua
	2	Porque las tinas llegan sucias, con larva muerta	¿Porque las tinas llegan con larva muerta? Porque no existe un régimen de control con la empresa contratista	¿Porque no existe un régimen de control? Porque no hay un protocolo de bioseguridad de la empresa para el transporte		Implementar un protocolo de Bioseguridad en el transporte
	3	Porque el agua no es tratada debidamente	¿Por qué el agua no es tratada debidamente?, porque tratan el agua empíricamente	¿porque tratan el agua empíricamente? Porque siempre se ha trabajado de esa manera		Capacitar al personal en buenas prácticas de manejo
	4	Porque la postlarva esta estresada	¿Por qué la larva esta estresada? Por múltiples factores: parámetros fisicoquímicos inadecuados	¿Por qué los parámetros fisicoquímicos estas inadecuados? Porque nadie lleva un control	¿Por qué nadie lleva un control de parámetros? Porque no nos dejan manejar los equipos	Preparar a una persona específica para el control de parámetros y uso de equipos
	5	Por exceso de carga bacteriana	¿Por qué hay un exceso de carga bacteriana? Por múltiples factores, exceso de alimento, lo implementos a usar no están debidamente desinfectados	¿Por qué los equipos o materiales no están debidamente desinfectados? Porque se lo hace en la noche y no se puede ver bien		Proponer medidas de control para la asepsia de los equipos y materiales a usar

## ANEXO 3



Figura 2. Llenado de las tinas en el transporte



Figura 3. Acimatación de la Larva en el despacho



Figura 4. Larva fondeada por estrés en las tinas de transporte



Figura 5. Larva muerta por exceso de carga bacteriana