

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Comparación del efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes - 2024**

**TESIS**

**Para optar el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista**

**Autora: Br. Ruthy Sughey García Sánchez**

**Tumbes, 2025**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Comparación del efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes – 2024**

**Tesis aprobada en forma y estilo por:**

**Mg. Aguirre Campos, Dorian Yasser**

**Presidente**

**Mg. Quintana Campos, Humberto**

**Secretario**

**Dr. Nuntón Chavesta, José Alberto**

**Vocal**

**Tumbes, 2025**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Comparación del efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes - 2024**

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y forma:**

**Br. García Sánchez, Ruthy Sugey**

**Ejecutora**

**Dr. Nuntón Chavesta, José Alberto**

**Asesor**

**Mblgo. Alfaro Aguilera, Rubén Héran**

**Coasesor**

**Tumbes, 2025**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
EX FUNDO FISCAL LA CRUZ-CAMPUS UNIVERSITARIO  
SECRETARIA ACADÉMICA



"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

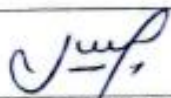


En Tumbes, a los diecisiete días del mes de diciembre de dos mil veinticinco, siendo las 16 horas, con 00 minutos (16:00), de la tarde, de forma presencial en el Aula F1 - Pabellón de Ingeniería Forestal - Ciudad Universitaria - Pampa Grande, Tumbes. se reunieron el Jurado Calificador, designado por Resolución N° 204-2024/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D, **Mg. Dorian Yasser Aguirre Campos** (Presidente), **Mg. M.V. Humberto Quintana Campos** (Secretario), **Dr. José Alberto Nunton Chavesta** (Vocal) reconociendo en la misma resolución además, al **Dr. José Alberto Nunton Chavesta**, como **Asesor**, y al **Mblgo. Rubén Hernán Alfaro Aguilera**, como **Co-asesor**, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, "**Comparación del efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon<sup>TM</sup> LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre-reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes – 2024**"; para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista, presentado por la **Bach. Ruthy Sugey García Sánchez**, Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte de la sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 75 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a la: **Bach. RUTHY SUGEY GARCÍA SÁNCHEZ, ~~ARRRARRA~~** por **~~L.M.R.N.L.M.F.R.A.R.~~**, con el calificativo **BUENO**.

Se hace conocer a la sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda **APTA** para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 17 horas y 00 minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 17 de diciembre de 2025

	
<b>Mg. Dorian Yasser Aguirre Campos</b> DNI N° 40442207 CODIGO ORCID 0000-0001-9842-1812 Presidente	<b>Mg. Mv. Humberto Quintana Campos</b> DNI N° 16717473 CODIGO ORCID 0000000342898747 Secretario
	
<b>Dr. José Alberto Nunton Chavesta</b> DNI N° 16714814 CODIGO ORCID 0000-0003-4358-1474 Vocal	

C.C. - JURADOS (03) -ASESOR Y (CO)-INTERESADA-ARCHIVO (Decanato)  
S.acad.

# INFORME DE ORIGINALIDAD DEL TURNITIN

Comparación del efecto  
desinfectante del hipoclorito de  
calcio y Virkon™ LSP aplicados  
en los pediluvios del área de  
cuarentena de pre  
reproductores (*Penaeus  
vannamei*) del campo Domingo  
Rodas, Tumbes

Fecha de entrega: 26-ene-2026 08:11 p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2801693229  
Por Ruthy Sugely García Sánchez

Nombre del archivo: Tesis\_Ruthy\_Garc\_a\_Sanchez\_1.docx (5M)

Total de palabras: 10337

Total de caracteres: 55756



Dr. M.V. Nurlán Chaves José Alberto  
Código ORCID: 0000-0003-4858-1476  
ASESOR DE TESIS


Comparación del efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes

INFORME DE ORIGINALIDAD


<b>17</b> %	<b>16</b> %	<b>2</b> %	<b>4</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<a href="http://www.repositorio.usac.edu.gt">www.repositorio.usac.edu.gt</a> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>2</b>	<a href="http://kerwa.ucr.ac.cr">kerwa.ucr.ac.cr</a> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>3</b>	<a href="http://www.slideshare.net">www.slideshare.net</a> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>4</b>	Ríos Castillo, Abel Guillermo, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. "Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo : nuevos métodos /", [Barcelona] : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2014 Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>5</b>	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>6</b>	<a href="http://www.kerwa.ucr.ac.cr">www.kerwa.ucr.ac.cr</a> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>7</b>	<a href="http://repositorio.uchile.cl">repositorio.uchile.cl</a> Fuente de Internet	<b>1</b> %

  
Dr. M.V. Nurián Charvesta José Alberto  
Código C.C.P. 000-0003-4855-1476  
ASESOR DE TESIS

8	ECOFLUIDOS INGENIEROS S.A.. "PAMA de la Planta de Beneficio de la Empresa Yugofrío-IGA0020447", R.D.G. N° 103-2019-MINAGRI-DVDIAR-DGAAA, 2022 Publicación	1%
9	ddd.uab.cat Fuente de Internet	1%
10	www.aasv.com Fuente de Internet	1%
11	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	<1%
12	dspace.uazuay.edu.ec Fuente de Internet	<1%
13	dspace.unl.edu.ec Fuente de Internet	<1%
14	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	<1%
15	docplayer.es Fuente de Internet	<1%
16	es.scribd.com Fuente de Internet	<1%
17	www.hidro.gov.ar Fuente de Internet	<1%
18	www.anetif.org Fuente de Internet	<1%
19	CLB TECNO LOGICA S.A.C. "DAAC para las Granjas de Engorde Atahuampa A y B-	<1%

  
 Dr. M.V. Nurián Chaves José Alberto  
 Código INECIP-000-0003-4858-1476  
 ASESOR DE TESIS

IGA0014221", R.D.G. N° 200-2019-MINAGRI-  
DVIAR-DGAAA, 2021

Publicación

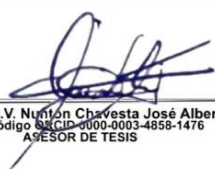
- 20 M & D CONSULTING S.A.C.. "Modificación para Impactos Ambientales Negativos No Significativos para la Modificación del Número de Estaciones de Captación de Agua de Estero, la Supresión del Requerimiento de Contar con una Estación de Re-Bombeo a la Salida del Sistema de Tratamiento de los Efluentes Acuícolas, la Modificación del Número Proyecto de Estaciones Eléctricas, la Modificación de los Componentes del Sistema de Tratamiento de Efluentes de Cultivo y la Modificación del Número de Puntos de Monitoreo Ambiental de la Calidad de Agua y Sedimento en el Centro de Producción Acuícola Denominado Domingo Rodas, Ubicado en el Sector Playa Hermosa-La Canela, Distrito de Corrales, Provincia y Departamento de Tumbes-IGA0015919", R.D. N° 00100-2021-PRODUCE/DGAAMPA, 2022
- <1 %
- Publicación

- 21 [repositorio.una.edu.ni](http://repositorio.una.edu.ni)  
Fuente de Internet
- <1 %

- 22 [analesdequimica.es](http://analesdequimica.es)  
Fuente de Internet
- <1 %

- 23 [buscador.una.edu.ni](http://buscador.una.edu.ni)  
Fuente de Internet
- <1 %

- 24 [www.jove.com](http://www.jove.com)  
Fuente de Internet
- <1 %

  
Dr.M.V. Nuyón Chavesta José Alberto  
Código ORCID: 0000-0003-4858-1476  
ASESOR DE TESIS

25	Submitted to Universidad de Burgos UBUCEV Trabajo del estudiante	<1%
26	es.slideshare.net Fuente de Internet	<1%
27	www.readbag.com Fuente de Internet	<1%

Excluir citas       Apagado       Excluir coincidencias < 15 words  
 Excluir bibliografía       Apagado



Dr. M.V. Nuytón Chaves José Alberto  
 Código SACIP-000-0003-4858-1476  
 ASESOR DE TESIS

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Ruthy Sughey García Sánchez, declaro que los resultados reportados en esta tesis son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo, declaro que hasta donde tengo conocimiento no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconoce como tal, a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En tal sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero, es de mi propia autoría. Finalmente, declaro que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de asesores, sin que ello implique la apropiación de contenidos ajenos no debidamente citados.



---

**Ruthy Sughey García Sánchez**

**DNI N° 71773771**

## DEDICATORIA

A Dios, por permitirme alcanzar este momento tan trascendental en mi vida profesional.

A mi madre, Mercedes Sánchez por ser mi guía durante todo mi trayecto estudiantil, además de demostrarme lo que es la verdadera fortaleza y resiliencia.

A mi padre, Leónidas García quien, con sus consejos y sus esperanzas en mí, ha sabido guiarme para culminar mis estudios.

A mis profesores, gracias por su tiempo, su apoyo, sabiduría y paciencia que me ofrecieron durante toda la carrera universitaria.

Ruthy Sughey García Sánchez.

## **AGRADECIMIENTO**

En primera instancia, agradezco infinitamente a Dios, por haberme dado la paciencia y el valor para concluir esta etapa en mi vida.

A mi madre, que me ha inculcado a jamás desfallecer ni rendirme ante los obstáculos de la vida y siempre superarme y perseverar a través de sus consejos y ejemplo de vida.

A mi padre, que siempre ha tratado de estar presente en cada situación importante de mi desarrollo personal y profesional, además de ser una de las personas que ha tenido mucha más fe en mí, que yo misma.

A mi asesor y coasesor de tesis, por su valiosa guía, asesoramiento y colaboración brindada, durante la ejecución de esta tesis.

Finalmente doy mi más sincero agradecimiento a cada una de las personas que directa o indirectamente me apoyaron a concluir con este trabajo de investigación.

Ruthy Suguey García Sánchez.

# ÍNDICE

	Página
RESUMEN.....	xix
ABSTRACT .....	xx
I. INTRODUCCIÓN .....	21
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	22
2.1 Bases teóricas – científicas.....	22
2.1.1 Bioseguridad .....	22
2.1.2 Microorganismos .....	22
2.1.2.1 Bacterias .....	22
2.1.2.2 Hongos .....	23
2.1.2.3 Levaduras.....	24
2.1.3 Método de identificación de bacterias.....	24
2.1.4 Métodos de identificación de <i>Vibrio</i> spp.....	24
2.1.5 Validación 24	
2.1.5.1 Validación prospectiva .....	24
2.1.4.2 Validación concurrente.....	25
2.1.4.3 Validación retrospectiva o revalidación .....	25
2.1.6 Desinfección .....	25
2.1.7 Desinfectantes.....	25
2.1.7.1 Características de un buen desinfectante.....	26
2.1.7.2 Tipos de desinfectantes .....	26
2.1.7.3 Factores que afectan la acción de los desinfectantes.....	34
2.2 Antecedentes .....	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
3.1 Ubicación del área de estudio.....	41

<b>3.2</b>	<b>Diseño de investigación .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3</b>	<b>Población.....</b>	<b>42</b>
<b>3.4</b>	<b>Métodos .....</b>	<b>42</b>
<b>3.4.1</b>	<b>Procedimiento de campo .....</b>	<b>42</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Procedimiento de hisopado .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Procedimiento de laboratorio .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5</b>	<b>Análisis de datos .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1</b>	<b>Evaluación de la acción desinfectante del hipoclorito de calcio a 200 ppm utilizado en pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (<i>Penaeus vannamei</i>) del campo Domingo Rodas, Tumbes .....</b>	<b>45</b>
<b>4.2</b>	<b>Evaluación de la acción desinfectante del Virkon™ LSP a una tasa de dilución de 1:200 utilizado en pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (<i>Penaeus vannamei</i>) del campo Domingo Rodas, Tumbes ...</b>	<b>48</b>
<b>4.3</b>	<b>Comparación del período de eficacia de los productos con relación al tiempo transcurrido desde su aplicación.....</b>	<b>52</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>54</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>.....</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados realizados antes y después de la utilización del pediluvio con hipoclorito de calcio. ....	45
Tabla 2. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados antes y después de la utilización del pediluvio con Virkon™ LSP. ....	48
Tabla 3. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados antes y después de la utilización del pediluvio con agua. ....	50
Tabla 4. Parámetros físicos en pediluvios que contienen los tratamientos con hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua. ....	51

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
Cuadro 1. Disociación del ácido hipocloroso .....	29
Cuadro 2. Descomposición del hipoclorito de calcio. ....	29
Cuadro 3. Composición del Virkon™ LSP .....	32
Cuadro 4. Efecto de actividad de los principales desinfectantes. ....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Ubicación geográfica del área de cuarentena de prereproductores ( <i>Penaeus vannamei</i> ) del campo Domingo Rodas. ....	41
Figura 2. Volatilización del hipoclorito de calcio (200 ppm) en pediluvio del área de cuarentena de pre reproductores ( <i>Penaeus vannamei</i> ) del campo Domingo Rodas, Tumbes, 2025. ....	47

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
Anexo 1. Ficha de muestreo. ....	68
Anexo 2. Registro de datos sin procesar de hisopados realizados en las suelas de las botas antes y después de los tratamientos .....	69
Anexo 3. Toma de muestra (procedimiento de hisopado).....	70
Anexo 4. Preparación de medios de cultivo.....	70
Anexo 5. Procedimiento de diluciones seriadas.....	71
Anexo 6. Procedimiento de siembra en placa por incorporación. ....	71
Anexo 7. Procedimiento de conteo de colonias bacterianas.....	72
Anexo 8. Reporte de resultados microbiológicos.....	72
Anexo 9. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con hipoclorito de calcio. ....	75
Anexo 10. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con Virkon™ LSP.....	75
Anexo 11. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con agua. ....	76
Anexo 12. Evolución de temperatura, pH y salinidad en pediluvios con hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua durante 7 días de ensayo en pediluvios. ....	76
Anexo 13. Prueba Z para medias de dos muestras (hipoclorito de calcio) .....	76
Anexo 14. Prueba Z para medias de dos muestras (Virkon™ LSP) .....	77
Anexo 15. Prueba Z para medias de dos muestras (agua).....	77

## RESUMEN

Las medidas de bioseguridad en la producción acuícola son esenciales para prevenir la entrada y propagación de patógenos, siendo los pediluvios una práctica común y de fácil aplicación. El objetivo de este estudio fue comparar el efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) en el campo Domingo Rodas. Para ello, durante siete días se recolectaron muestras mediante hisopados en las suelas de las botas de aquellos trabajadores que transitaban antes y después de los pediluvios. Los tratamientos evaluados fueron: 1) hipoclorito de calcio, 2) Virkon™ LSP y 3) agua; como control. Las muestras fueron analizadas mediante diluciones seriadas y sembradas en placas mediante el método de incorporación. Los resultados demostraron que al aplicar la prueba Z para comparar la eficacia de los desinfectantes, el lavado únicamente con agua evidenció que no produjo diferencias significativas entre los valores iniciales y posteriores ( $z = 0.77$ ;  $p = 0.445$ ). En el caso del hipoclorito de calcio, se encontró un incremento en los valores luego del tratamiento, con un resultado estadístico en el límite de la significancia ( $z = -1.94$ ;  $p = 0.052$ ), lo que sugiere que este desinfectante no generó un efecto reductor claro en las condiciones evaluadas. Finalmente, el uso del Virkon™ LSP mostró una tendencia a la disminución de la carga microbiana, pasando de 7.95 a 5.48 en promedio, aunque sin alcanzar un nivel de significancia convencional ( $z = 1.86$ ;  $p = 0.063$ ). Estos hallazgos indican que ninguno de los tratamientos logró un efecto estadísticamente significativo al 95 % de confianza, aunque Virkon™ LSP presentó un comportamiento más favorable en comparación con los demás.

**Palabras claves:** Bioseguridad, desinfección, *Penaeus vannamei*.

## ABSTRACT

Biosecurity measures in aquaculture production are essential to prevent the entry and spread of pathogens, with footbaths being a common and easy-to-implement practice. The objective of this study was to compare the disinfectant effect of calcium hypochlorite and Virkon™ LSP applied to the footbaths in the pre-breeding stock (*Penaeus vannamei*) quarantine area at the Domingo Rodas farm. To this end, samples were collected for seven days by swabbing the soles of the boots of workers who passed before and after the footbaths. The treatments evaluated were: 1) calcium hypochlorite, 2) Virkon™ LSP, and 3) water; as a control. The samples were analyzed by serial dilutions and plated using the incorporation method. The results showed that when applying the Z test to compare the effectiveness of disinfectants, washing with water alone showed no significant differences between the initial and subsequent values ( $z = 0.77$ ;  $p = 0.445$ ). In the case of calcium hypochlorite, an increase in values was found after treatment, with a statistical result at the limit of significance ( $z = -1.94$ ;  $p = 0.052$ ), suggesting that this disinfectant did not generate a clear reducing effect under the conditions evaluated. Finally, the use of Virkon™ LSP showed a tendency towards a decrease in the microbial load, going from 7.95 to 5.48 on average, although without reaching a conventional level of significance ( $z = 1.86$ ;  $p = 0.063$ ). These findings indicate that none of the treatments achieved a statistically significant effect at 95 % confidence, although Virkon™ LSP presented more favorable behavior compared to the others.

**Keywords:** Biosecurity, disinfection, *Penaeus vannamei*.

## I. INTRODUCCIÓN

La bioseguridad es un conjunto de medidas aplicadas en la producción acuícola con el fin de disminuir riesgos de ingreso y diseminación de patógenos (1) Entre ellas, el uso de pediluvios representa una práctica sencilla y económica que permite disminuir la contaminación microbiana en el calzado del personal que ingresa a las instalaciones (2). En áreas críticas como las cuarentenas, el control sanitario cobra mayor importancia, ya que una falla en el manejo puede comprometer la salud de toda la población de camarones (3).

En este contexto, surge la necesidad de evaluar la eficacia de los desinfectantes comúnmente empleados en pediluvios, considerando que su desempeño puede verse afectado por factores como concentración, pH y tiempo de contacto (4,5). El conocimiento de la efectividad real de estos productos en condiciones de campo es indispensable para garantizar su correcto uso y fortalecer las medidas de bioseguridad en los centros de producción acuícola (6).

El presente trabajo tuvo como objetivo comparar el efecto desinfectante de dos productos aplicados en pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores de *Penaeus vannamei* en el campo Domingo Rodas, Tumbes. La investigación se desarrolló durante siete días consecutivos, mediante la toma de muestras en las suelas de botas antes y después de pasar por pediluvios con diferentes tratamientos (hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua; como control), para luego realizar el análisis microbiológico en el laboratorio (7,8).

De esta manera, se busca generar información práctica y confiable que permita optimizar el uso de pediluvios en granjas acuícolas, contribuyendo a mejorar los programas de bioseguridad y prevenir el ingreso de patógenos que afectan la producción de camarón en la región (9).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Bases teóricas – científicas

#### 2.1.1 Bioseguridad

La bioseguridad son un conjunto de normas, medidas o barreras que se aplican con el fin de disminuir o eliminar riesgos biológicos (10).

#### 2.1.2 Microorganismos

Son microscópicos seres conformados por una o varias células. Se les considera microorganismos en general a las bacterias, levaduras y hongos filamentosos muy pequeños, inclusive también a los virus, aunque estos últimos tienen una estructura mucho más simple y no llegan a conformar una célula en realidad (11).

Las enfermedades causadas por bacterias, hongos y levaduras en camarones son un desafío para la acuicultura, causando en ocasiones grandes pérdidas económicas. Algunas enfermedades bacterianas comunes incluyen la septicemia y otras bacterias oportunistas. Las enfermedades fúngicas y por levaduras también pueden afectar a los camarones, especialmente en condiciones con mala calidad de agua o estrés (12,13).

#### 2.1.2.1 Bacterias

Son microorganismos unicelulares procariotas diversos, que se encuentran normalmente en diferentes ambientes (agua, suelo y aire), también suelen tener comportamientos como simbiosis o patógenos para el hombre, animales y plantas (14).

##### ***Vibrio* spp.**

Las especies que pertenecen al género *Vibrio* son bacterias gramnegativas que presenta forma de bastoncillo, por lo general, contienen más de cien especies originados en el filo proteobacteria, las cuales son anaerobias facultativas, también

pueden ser caracterizadas en halófilas y no halófilas habitando en aguas marinas, salobres y agua dulce (15).

Los *vibrios* constituyen el 60 % del total de bacterias heterótrofas presentes en los organismos acuáticos ya que forman parte del microbiota natural de estos, los cuales suelen estar alojados principalmente en el zooplancton, peces, moluscos, crustáceos, incluso en invertebrados marinos como esponjas y corales (13).

### **Enfermedades ocasionadas por *Vibrio* spp.**

Las patologías existentes en el cultivo de camarón son dadas por las especies del género *Vibrio*, encontrándose presente en todos los estadios de vida de *P. vannamei*, estos se presentan en la hemolinfa, tracto digestivo, cutículas y branquias del camarón, ocasionando así enfermedades como la Hepatopáncreas edematoso y necrótico y la Vibriosis, en fases de larvicultura y engordes en granjas de camarones. En las piscinas camaroneras se encuentran la presencia de *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *Photobacterium* en cambio a nivel de laboratorio de larvas se encuentra *V. harveyi* y *V. splendidus* (16).

El contagio de camarones por *vibrios* suele darse a través de los poros o heridas existentes en el caparazón o exoesqueleto del animal, así mismo en el intestino medio y branquias, esto mediante el consumo de alimentos, sedimentos y agua (16). Los signos característicos de la infección provocada por *Vibrio* spp son: hepatopáncreas pálida, caparazón corporal rojizo o pálido, urópodos y telson rojizo y antenas rojas. A pesar de que el *Vibrio* forma parte natural de la microbiota del ambiente acuícola varios de estos son patógenos oportunistas de ciertos organismos. La vibriosis causa mortalidad en estadios larvarios y adultos hasta en un 50 % (17).

### **2.1.2.2 Hongos**

Son eucariotas (poseen un núcleo definido, el cual se encuentra circundado por una membrana nuclear), que producen esporas, no contienen clorofila y se nutren por absorción (18).

### **2.1.2.3 Levaduras**

Son hongos que generalmente crecen por gemación, de forma agregada, sueltos de células independientes, que pueden ser alargadas, globosas, cilíndricas y ovoides (12).

### **2.1.3 Método de identificación de bacterias.**

El agar TSA (tripticosa soya) es un medio de cultivo versátil que permite el crecimiento y aislamiento de una gran diversidad de bacterias, hongos y levaduras. Es rico en nutrientes y permite el crecimiento tanto de microorganismos exigentes como no exigentes y para la identificación, se utiliza la observación macroscópica de las colonias en TSA, seguida de pruebas bioquímicas y microscópicas más específicas (19).

### **2.1.4 Métodos de identificación de *Vibrio* spp.**

Los métodos de identificación utilizados en acuicultura están basados en técnicas bioquímicas, moleculares y bacteriológicas. Este último es el más empleado ya que se puede utilizar diferentes tipos de medios de cultivo, como el agar TCBS (tiosulfato citrato bilis sacarosa, por sus siglas en inglés) para medios de cultivo selectivos - diferenciales, agar marino como medio de cultivo general y el CHROMagar (19).

### **2.1.5 Validación**

La validación es un procedimiento estipulado, que consiste en evidenciar mediante hechos registrados, que un procedimiento en particular se elabora de manera inalterable y permanentemente en conformidad con los resultados previstos inicialmente (9,20).

#### **2.1.5.1 Validación prospectiva**

Esta validación se aplica previo a la comercialización de un nuevo producto, o bajo la elaboración de un proceso de fabricación validado (21).

#### **2.1.4.2 Validación concurrente**

Esta validación se aplica durante la producción normal, y es muy utilizada para brindar información valiosa cuando se pretende modificar, corregir o variar alguna etapa del proceso (21).

#### **2.1.4.3 Validación retrospectiva o revalidación**

Se establece una evidencia documentada de la idoneidad de un proceso o producto basado en la recopilación y evaluación de los datos históricos acumulados (22).

La validación de las técnicas de desinfección actualmente constituye un requerimiento regulatorio en la industria de los alimentos, lo que vendría a representar como una práctica confiable que evidencia a través de datos reales la efectividad de los mismos. Hoy en día las empresas vienen enfocándose en reducir los posibles riesgos relacionados específicamente a la contaminación cruzada. La validación de los procesos de desinfección ha ido evolucionando y pasando de la teoría a la puesta en práctica de la mejora continua (23).

#### **2.1.6 Desinfección**

La desinfección tiene como objetivo eliminar o disminuir la mayor cantidad de microorganismos contaminantes a niveles que no sean considerados un peligro para la salud pública o a la calidad de los productos. Cabe señalar que una desinfección incorrecta permite el crecimiento y resistencia de biopelículas en ciertas áreas inertes que pueden estar presentes en las áreas de producción, incrementando el riesgo de contaminar las zonas de producción y/o transmitir enfermedades (24,4).

#### **2.1.7 Desinfectantes**

Son aquellas sustancias químicas que eliminan o destruyen los microorganismos infecciosos, pero no necesariamente a las esporas bacterianas (25).

### **2.1.7.1 Características de un buen desinfectante**

Dada la variedad de superficies donde actúan los productos desinfectantes, así como los innumerables microorganismos a eliminar, estos deben estar constituidos de ciertas especificaciones para que resulten eficaces y seguras (5). Entre las características más resaltantes, se mencionan las siguientes:

- Que sean de amplio espectro, es decir que eliminen la mayor cantidad de microorganismos.
- Que no generen resistencia.
- Que sigan manteniendo su efectividad ante la presencia de restos orgánicos y aguas duras.
- Que sean solubles en agua y se eliminen fácilmente con enjuague.
- Que no sea irritantes o tóxicos para la piel o mucosidades (ojos, boca y nariz) en condiciones normales de empleo.
- Que no dañen las superficies con las que tengan contacto.
- Que su efecto bactericida sea duradero sobre las superficies.
- Que no resulten contaminantes para el medio ambiente.

### **2.1.7.2 Tipos de desinfectantes**

Actualmente se evidencia la presencia de un sin número de desinfectantes utilizados en diferentes industrias de fabricación de alimentos, siendo los más comunes aquellos basados en amonios cuaternarios, productos clorados, compuestos yodóforos, compuestos fenólicos y los ácidos.

#### **a. Amonio cuaternario**

Son conocidos por su abreviatura como QACs, basados en sales de amonio con algunos o todos los átomos del ion amonio ( $\text{NH}_4$ ) reemplazados por grupos alquilo o arilo (26). Generalmente son surfactantes incoloros, catiónicos inodoros, estables a altas temperaturas, no irritantes, no corrosivos, desodorantes, solubles en agua y alcohol. También tienen una acción detergente y desinfectante. La presencia de cualquier residuo proteico suprime su efectividad (27,28,29).

## **b. Productos clorados**

El cloro es una de las sustancias más comúnmente usadas en los programas de desinfección, principalmente porque es de rápida acción, eficaz, de bajo costo y es estable en las condiciones óptimas. Además, de que los residuos provenientes de los desinfectantes se disipan con facilidad o son sales inofensivas (30).

El fragmento activo antibacteriano de este producto, se forma cuando el compuesto de cloro se le añade agua, formándose así el llamado “ácido hipocloroso”, el cual posteriormente se disocia en protones y “aniones de hipoclorito”. Siendo estas sustancias las que desinfectan el agua (31,27). El término “cloro libre” se refiere a la cantidad de ácido hipocloroso e hipoclorito en el agua, (7) teniendo un mayor poder desinfectante cuando este se encuentra entre un 80% y 95% de "cloro libre", que sería a un pH entre 6.5 y 7.0. Este nivel se reduce a menos del 20 % con un pH superior a 8.0. De igual manera, en soluciones con pH bajo, el cloro se pierde en forma de gas y aumenta su acción corrosiva. Siendo la concentración del ácido hipocloroso (HClO) significativamente afectada por condiciones ambientales como; luz, aire, temperatura y también materia orgánica (30). Se puede obtener el cloro en tres apariencias diferentes:

### **1. Cloro líquido (hipoclorito de sodio)**

Compuesto químico fuertemente oxidante de fórmula (NaClO), diluida en agua es conocida como cloro o lejía. En una disolución acuosa que sólo es estable en pH básico. Al acidificar en presencia de cloruro libera cloro elemental, que en condiciones normales se combina para formar el gas cloro, el cual es tóxico. Por este motivo debe mantenerse en un almacenamiento alejado de cualquier ácido y tampoco debe mezclarse con productos basados en amoníaco, ya que puede formar cloramina, un gas muy tóxico (7).

### **2. Cloro sólido (hipoclorito de calcio)**

También es llamado “cal clorada” es un compuesto químico cuya fórmula es  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ . Es ampliamente utilizado en tratamiento de aguas por su gran eficacia contra microorganismos peligrosos para la salud humana, pero se disuelve con

dificultad en agua fría. Tiene una apariencia granulosa, de color beige o blanco y en solución acuosa desprende un olor similar al del hipoclorito sódico (7).

Suele utilizarse como una alternativa al hipoclorito de sodio, ya que tiene como ventaja el hecho de que contiene una mayor cantidad de cloro en un porcentaje del 65 % a 70 % (equivalente a 650,000 - 700,000 ppm) por lo que resulta ser un producto con un nivel mucho más alto de efectividad. Además, de ser un compuesto más estable y de fácil manipulación, es uno de los desinfectantes que tiene múltiples usos de aplicación en diversos sectores como: hospitales, centros de salud, ámbitos acuícolas, industrias alimentarias, entre otros (32).

Para la desinfección de productos, superficies e incluso eliminar o reducir la población microbiana en el agua utilizada en procesos de higienización y limpieza de alimentos. Los compuestos de cloro son generalmente usados en niveles de 50 - 200 ppm, con un tiempo de exposición menor a 5 minutos, usualmente utilizados a valores de pH entre 6.0 - 7.5, para minimizar la corrosión de los equipos (33,34).

### **Mecanismo de desinfección con cloro**

El ácido hipocloroso es un excelente bactericida, gracias a su habilidad de difundir a través de la pared celular e intervenir con reacciones bioquímicas vitales para la subsistencia de los microorganismos. Por el contrario, el ion hipoclorito no tiene ningún efecto bactericida, ya que su carga negativa le impide el paso a través de la pared celular. Entonces, el poder bactericida de una solución depende de la concentración de ácido hipocloroso sin disociar (35). A su vez, la disociación del ácido hipocloroso depende del pH de la solución, tal como se observa en el siguiente cuadro 1:

Cuadro 1. Disociación del ácido hipocloroso

pH	% HClO sin disociar a 25°C
5.0	99.6
6.0	96.5
7.0	73
7.4	50
8.0	21
9.0	2.7
10.0	0.3

Fuente: Sconce, J.S. Chlorine. It's Manufacture, Properties and Uses. Robert E Krieger Publishing Company, Huntington, E.E.U.U. (35)

La estabilidad del hipoclorito de calcio a temperaturas elevadas disminuye a medida que aumenta el contenido de humedad (36). Los resultados se resumen en el siguiente cuadro 2:

Cuadro 2. Descomposición del hipoclorito de calcio.

Contenido de humedad en el hipoclorito de calcio	Temperatura	Aumento del grado de descomposición en relación a la referencia*
2 – 3 %	40°C	4 veces
5 – 6 %	40°C	7 – 8 veces
7 % o más	40°C	10 veces

\*Grado de descomposición de referencia medido para el hipoclorito de calcio con una humedad de 2 – 3 % a 20°C.

Fuente: Murakami, T., K. Igawa y Y. Hiraga. Stable Calcium Hypochlorite Composition and Method for Manufacture Thereof (37).

### Propiedades químicas y físicas

- Estado físico: sólido, polvo granulado blanco.
- Fórmula molecular:  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$
- Punto de fusión: se descompone a 100°C.
- Punto de inflamación: no aplicable
- Olor: fuerte olor a cloro

- División de riesgo: 5.1
- Peso molecular: 142.99 g/mol y contiene 49.6 % de cloro, 28.0 % de calcio y 22.4 % de oxígeno.
- Solubilidad en agua: completa, se descompone
- Gravedad específica (20°C): 2.35

El hipoclorito de calcio no es higroscópico y es bastante estable a través del tiempo (38).

### **Reactividad y estabilidad**

Fuerte oxidante y el calor de la reacción con agentes combustibles pueden causar ignición. A altas temperaturas puede sufrir una descomposición acelerada con liberación de cloro, calor y oxígeno. Higroscópico; en contacto con ácidos libera gas cloro (tóxico). No es combustible, pero ayuda a la combustión. Corrosivo para la mayoría de metales en presencia de humedad. Compuestos explosivos con amonio y aminas. Incompatible con materiales orgánicos, componentes nitrogenados y materias combustible (38).

### **3. Cloro gaseoso**

Tiene una apariencia de color amarillo verdoso, olor sofocante, no es combustible a temperatura ambiente y presión atmosférica (39). Se utiliza para purificar el agua, blanquear la pulpa de madera y fabricar otros productos químicos. El cloro gaseoso es muy complejo de dosificar y su manipulación es riesgosa por lo que normalmente se utiliza en grandes corporaciones donde realizan operaciones como el tratamiento de agua (40).

### **c. Compuestos yodóforos**

Son una combinación de yodo elemental y agentes tensoactivos no iónicos (yodo y sus mezclas con alcohol, conocidas como “tinturas de yodo”), utilizados como desinfectantes (28). El yodo penetra rápidamente dentro de los microorganismos y ataca los principales grupos de proteínas, nucleótidos y ácidos grasos, que conllevan a la muerte celular (41).

Dentro de las pros de utilizar estos compuestos, está el hecho de que no pierden su efecto ante la presencia de sales de las aguas duras, además de que son muy estables en forma concentrada, aunque luego de largos periodos de almacenamiento en altas temperaturas es posible que se pierda cierta actividad. Se pueden trabajar con temperaturas de hasta 50°C y concentraciones de yodo entre 10 y 100 ppm (26).

#### **d. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos comprenden el: resorcinol, cresol, clorocresol, hexaclorofeno, triclosan, paraclorofenol, ésteres del ácido parahidroxibenzoico, el N-hexil-resorcinol, etc. En la actualidad son poco utilizados, a excepción de que se usen junto con otros productos, para mejorar su eficacia, estabilidad y conseguir minimizar la toxicidad. Se suelen utilizar sus denominados “derivados fenólicos”, más que el fenol en sí mismo, tienen una muy buena actividad bactericida frente a bacterias (gramnegativas y grampositivas), o bacteriostática, pero su actividad fungicida es muy discreta y su acción viricida es discutida. Actúan destruyendo las membranas plasmáticas, precipitando proteínas, inactivando enzimas y perdiendo iones como potasio (K<sup>+</sup>) (42).

#### **1. Mezcla de fenólicos sintéticos**

Nombre comercial: Virkon™ LSP

Proporciona una solución de bioseguridad multipropósito muy conveniente para una amplia gama de aplicaciones desinfectantes. La empresa Lanxess, ha desarrollado la unión de dos elementos fenólicos Para-chloro-metacresol (PCMC) y Orthofenilfenol (OPP), en un solo producto, Virkon™ LSP, generando una sinergia significativa, ampliando el espectro de acción (43).

#### **Propiedades generales**

- Espectro: Eficaz contra bacterias, virus y hongos
- Estabilidad: Eficaz en una amplia gama de tiempos de contacto, temperaturas, aguas duras y en presencia de materia orgánica.
- Surfactancia: Potencia la limpieza y permite que el detergente penetre más fácilmente en las superficies.

- Seguridad: No deja residuos químicos nocivos cuando se aplica a superficies y equipos, y no genera vapores nocivos o sensibilizantes dentro de los alojamientos de animales o edificios a medida que aumentan las temperaturas. Es biodegradable.
- Velocidad de acción: Acción rápida y duradera en presencia de materia orgánica.
- Productos a evitar: Incompatible con detergentes catiónicos, carboximetilcelulosa, compuestos de amonio cuaternario y filtros de absorción de membrana.
- Estabilidad avanzada: Permanece estable durante 7 días, incluso en condiciones de alta temperatura de hasta 35 °C, a las tasas de dilución recomendadas de 1:100, 1:200 y 1:400 (44).
- Eficiencia: Mayor tiempo de eficiencia en superficies porosas/semi porosas. Sin peligro por vapores tóxicos. Sin evidencia de resistencia patógena al principio activo en dosis recomendadas (8).

Cuadro 3. Composición del Virkon™ LSP

Componentes	Función	Inclusión %
Ácido bencenosulfónico, derivs. 4-C 10 13-sec-alquilo	Surfactante	22-25
Ácido acético	Modificador de pH	30-33
Para-chloro-metacresol (PCMC)	Activo	10-15
Orthofenilfenol (OPP)	Activo	10-15
Ácido Etilendiaminotetraacético Tetrasódico (EDTA Na <sub>4</sub> )	Secuestrante	10-15
Agua	Solvente	q.s

Fuente: Lanzamiento de producto Virkon™ LSP, 2021 (8).

### Propiedades físicas y químicas

- Estado físico / apariencia: Líquido, marrón claro.
- Olor: Fenólico, característico, no duradero, no tóxico (8).

## Mecanismo de acción del Virkon™ LSP

Interfiere en síntesis de proteína y causa daño estructural:

- Coagulación y desnaturalización de proteínas
- Interfiere con la síntesis de ADN y ARN
- Penetra la pared de las células causando lisis, fuga y daño celular (8).

## e. Ácidos

Los ácidos o soluciones alcalinas son altamente bactericidas, ya que las bases alcalinas actúan por peptización, emulsificación y saponificación. En la mayoría de las ocasiones los productos alcalinos se les añade cloro en una concentración de 175 - 200 ppm para potenciar su actividad de peptización (45).

En el cuadro 4 se puede observar el efecto de actividad de los principales desinfectantes, dentro los bactericidas con muy buena actividad se tienen a los glutaraldehídos, seguido del cloro, yodo y ácido peracético. Luego se aprecia aquellos productos que tienen buena actividad y actividad media entre ellos están; alcoholes, agua oxigenada, amonios cuaternarios, y finalmente los derivados fenólicos.

Cuadro 4. Efecto de actividad de los principales desinfectantes.

Desinfectantes	Bacterias Gram +	Bacterias Gram -	Micobacterias	Esporas	Mohos	Levaduras	Virus Fagos
Ácido peracético	+++	+++	–	++	++	++	++
Alcoholes	++	++	–	0	++	++	+
Glutaraldehído	+++	+++	++	+	+++ (+)	++ (+)	++
Amonios cuaternarios	+++	+*	0	0	+	+	+
Cloro	+++	+++	++	++	++	++	++
Derivados fenólicos	Actividad variable según el compuesto						
Agua oxigenada	+++	+++	–	+	+	+	0
Yodo	+++	+++	++	++	++	++	++

\*Inactividad sobre *Pseudomonas* spp., +++: muy buena actividad; ++: buena actividad; +: actividad media; 0: actividad nula; ±: actividad débil; (+): actividad no constante.

Fuente: Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). NTP 429: Desinfectantes: características y usos más corrientes (46)

### **2.1.7.3 Factores que afectan la acción de los desinfectantes**

La efectividad de los desinfectantes dependerá de una gran serie de factores. El hecho de conocer cuáles son las circunstancias en las que los desinfectantes son afectados en cuanto a su actividad antimicrobiana es esencial para garantizar que se utilice correctamente (5).

#### **Naturaleza de los microorganismos**

Existen un sin número de microorganismos muy resistentes a la exposición de desinfectantes, entre ellos tenemos a las: micobacterias, esporas bacterianas, bacilos gramnegativos y grampositivos, y microorganismos fúngicos (5). En cuanto a los virus, su sensibilidad ante los desinfectantes dependerá en gran medida a su estructura. Aquellos que poseen envoltura, son más sensibles a la desinfección a diferencia de los virus sin envoltura (47).

#### **Cantidad de microorganismos**

La cantidad de microorganismos influye en la eficacia biocida de los productos, lo que indica que la cantidad de desinfectante y el tiempo de contacto que se utilicen sean directamente proporcionales a la cantidad de microorganismos que se pretenden eliminar o disminuir para conseguir un nivel determinado de actividad desinfectante. Así mismo, cuando las bacterias hayan conseguido formar biopelículas son menos susceptibles a los desinfectantes (48).

#### **Concentración y tiempo de contacto**

La concentración nos indica que, mientras mayor sea esta en un desinfectante, por consecuencia será mucho mayor su eficiencia y, por tanto, el tiempo de exposición será menor (4). Aunque inicialmente, la población microbiana es difícil de eliminar a concentraciones reducidas, pero a medida que se aumentan esta llega a causar una máxima mortalidad. Más allá de la concentración, los microorganismos pueden volverse resistentes, por lo que sobrevive una gran cantidad. Debido a esto hecho es fundamental utilizar las concentraciones indicadas en las fichas técnicas proporcionadas por los productores, ya que los cambios de las concentraciones o

dosificaciones a estas recomendaciones a veces pueden resultar no ser efectivas (49).

Por otro lado, el tiempo de contacto debe ser suficiente para que el desinfectante actúe sobre los microorganismos, de manera que se pueda asegurar la desinfección y alcanzar una reducción significativa de microorganismos (4).

### **Materia orgánica y otras sustancias**

La presencia de materia orgánica (hojas, tierra o suciedad) y otras sustancias tienen un impacto desfavorable en el desempeño de algunos desinfectantes, (50) ya que estos inactivan al ácido hipocloroso que aceleradamente podría reducir la cantidad de cloro disponible, perdiendo así su efecto microbicida y, por lo tanto, su potencia de desinfectante (51). Esto se debe a que la materia orgánica forma una barrera protectora en los microorganismos, logrando así que estos sean protegidos del efecto del cloro (52,50).

Múltiples sustancias pueden neutralizar la acción de los desinfectantes, por esta causa, es esencial cambiar el agua que contiene la solución desinfectante frecuentemente para que su efecto sea efectivo, además se debe tener en cuenta que previo a la desinfección, se recomienda previamente limpiar las superficies de restos orgánicos, con detergente y jabones; debido a que forman compuestos inertes o menos activos al provocar una disminución de las propiedades antimicrobianas de los desinfectantes (49,50).

### **Localización y tipo de superficie**

Los tipos de superficies donde se usarán los diferentes productos desinfectantes deben ser evaluados, ya que la compatibilidad puede llegar a generarse en no muy buenas condiciones (50).

### **Temperatura de acción**

Específicamente los desinfectantes derivados del cloro han demostrado incrementar su acción antimicrobiana con el aumento de la temperatura; sin embargo, cuando están expuestos a grados por encima de los 52° C la actividad

del cloro y su solubilidad disminuye (53). Esto ocurre porque a temperaturas elevadas la tasa de volatilización del cloro, se pierde en el ambiente como gas cloro. La mayor solubilidad del cloro se da a temperaturas cercanas a 4° C; aunque, en la industria de los alimentos, generalmente se ajusta la temperatura de la disolución desinfectante a 10° C por encima de la temperatura del producto o alimento a desinfectar (54).

### **Efecto del pH**

El pH de una disolución de cloro tiene un efecto antimicrobiano. Un pH entre 6,5 y 7,5 se considera ideal para la estabilidad de las soluciones de cloro que se pretende utilizar en actividades de desinfección debido a que a mayor acidez (bajo pH), mayor es la tendencia a liberar cloro gaseoso (55,56). Así mismo, las soluciones de cloro con pH por arriba de 8 son relativamente inefectivas contra los patógenos. Por debajo de pH 6, el cloro es más corrosivo para el equipo y la actividad se pierde rápidamente. Mientras que a un pH alrededor de 7 se mantendrá cerca del 80 % del cloro en la forma disponible (ácido hipocloroso) con muy poco gas formado (51). Es en este punto (80 % a 95 % de cloro libre detectado) donde ocurre la acción antimicrobiana de forma más efectiva y rápida (57).

## **2.2 Antecedentes**

Harrison *et al.*, (2022) en su estudio titulado “**Evaluación de la desinfección seca vs húmeda en baños de botas en la detección del virus de la Diarrea Epidémica Porcina y el ARN del virus Reproductivo y Respiratorio Porcino**”, desarrollada en el Centro de Innovación de Tecnología de Alimentos de la Universidad Estatal de Kansas en Manhattan; evaluó la eficiencia de los baños de botas para reducir la presencia de ADN detectable del Virus de la Diarrea Epidémica Porcina (PEDV) y del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV) utilizando desinfectantes húmedos (amonio/glutaraldehído) y secos (polvo de cloro seco). Las muestras de estudio fueron 36 botas, que, pasado un minuto después de haber estado en contacto con los desinfectantes, se les recolectó muestras mediante hisopado y de la misma manera al cupón de acero donde se realizó la

pisada. Utilizaron una técnica cuantitativa llamada qPCR dúplex, donde los resultados arrojaron que, mediante el uso del tratamiento desinfectante seco, no se encontró ningún ARN viral detectable ni en la bota ni en el cupón, mientras que, en el tratamiento húmedo, si se tuvo una contaminación viral estadísticamente similar ( $P > 0.05$ ) al control en la bota, pero menos contaminación viral en comparación con el control en el cupón de metal (58).

Altamirano *et al.*, (2020) en su trabajo titulado **“Manual de bioseguridad para granjas piscícolas de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en Managua, Nicaragua 2020”**, desarrollaron un manual y guías de bioseguridad, con el objetivo de establecer lineamientos para la prevención y control de enfermedades. La metodología consistió en la consolidación de protocolos basados en experiencias de campo y evidencia científica, incluyendo desinfección de calzado, equipos y pediluvios. Aunque no reportan cifras exactas de reducción de patógenos, recomiendan estas prácticas como parte obligatoria de los planes sanitarios (59).

Limsuwan *et al.*, (2019) en su estudio titulada **“Efficacy of calcium hypochlorite on the prevalence of microsporidiosis (*Thelohania*) in pond reared *Litopenaeus vannamei*”**, realizado en Tailandia, tuvo como objetivo evaluar la eficacia del hipoclorito de calcio en la reducción de microsporidiosis en estanques con *Litopenaeus vannamei*. Para ello aplicaron diversas concentraciones de  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  en estanques infectados y registraron la carga de patógenos antes y después del tratamiento durante varias semanas de cultivo. Los resultados mostraron una reducción de entre 85 y 90 % de los patógenos, demostrando que este desinfectante puede disminuir significativamente la carga infecciosa en ambientes de cultivo (60).

Fuentes (2018) en su tesis titulada **“Caracterización del diseño y uso de pediluvios en 39 lecherías de las regiones de los ríos y de los lagos”**, tuvo como objetivo establecer posibles asociaciones entre su uso y características generales del predio. Se seleccionaron por conveniencia 39 lecherías de las cuales recopilaron información sobre la existencia, descripción y forma de uso del pediluvio. Establecieron asociaciones entre las características generales de la finca

con el uso de pediluvios, y utilizaron la prueba de  $X^2$  y Fisher, con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . Demostrando que solo un 30,8 % de lecherías contaban con pediluvios dentro del recinto y lo usaban. Los agentes desinfectantes utilizados fueron la formalina en un 66.67 %, mientras que un 8.33 % utilizaba Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y un 16.67 % hacían uso de una mezcla formalina y ( $\text{CuSO}_4$ ), pero solo un 8.33 % usaba un producto llamado (victory®) el cual contiene sulfato de cobre pentahidratado y peróxido de hidrógeno. Se concluyó que no se encontró asociación significativa entre las características generales de las lecherías con el uso de los pediluvios (61).

Dunowska *et al.*, (2006) en su estudio titulado **“Evaluación de la eficacia de una alfombra rellena de desinfectante de peróxido de hidrógeno para la reducción de la carga bacteriana en el calzado en un entorno hospitalario de animales grandes”**, ejecutado en el Hospital Universitario Veterinario James L. Voss (JLV-VTH) de la Universidad Estatal de Colorado, tuvo como objetivo comparar la eficacia de un desinfectante a base de peróxido de hidrogeno, mediante un estudio del tipo retrospectivo; utilizaron bacterias recuperadas de las suelas de las botas de goma, después de una contaminación microbiana experimental; seguido a la exposición de soluciones desinfectantes o agua (botas de control tratadas con agua). Para este ensayo los investigadores contaminaron las botas al caminar a través de camas sucias de animales, luego se recogieron muestras mediante la técnica de hisopado de la suela de 1 bota no tratada; mientras que la otra bota si era tratada. Cuando los investigadores pasaron por un baño de pies lleno de desinfectante, se analizaron las diferencias sobre el número de bacterias recuperadas de botas tratadas y no tratadas, obteniendo como resultado que los recuentos bacterianos de las botas tratadas con peróxido de hidrogeno fueron de 1.3 a 1.4  $\log_{10}$  más bajo (95.4 % a 99.8 %) que los recuentos de botas no tratadas. Se concluyó así que las alfombrillas y los baños de pies que contienen desinfectante a base de peróxido de hidrógeno son efectivos para reducir la contaminación bacteriana en las suelas de las botas (62).

Morley *et al.*, (2005) en su trabajo de investigación titulada **“Evaluación de la eficacia del desinfectante Baños de pies utilizados en hospitales**

**veterinarios**”, tuvo como objetivo evaluar la eficacia de 2 desinfectantes (cuaternario compuesto de amonio (QAC) o un peróxido de hidrógeno compuesto) utilizados en los baños de pies para reducir contaminación bacteriana del calzado. Siendo un tipo de estudio prospectivo, la población de muestra se basó en obtener bacterias recogidas de las suelas de las botas de goma después de una contaminación experimental y exposición a soluciones desinfectantes. Las diferencias asociadas con los tratamientos experimentales se analizaron estadísticamente y los resultados obtenidos demostraron que las concentraciones bacterianas medias de las botas tratadas con peróxido de hidrogeno fueron entre un 67 % y un 78 % más bajas, en comparación con muestras tomadas de botas no tratadas. Por el contrario, no hubo diferencias estadísticamente detectables en concentraciones bacterianas medias en muestras tomadas de botas tratadas con QAC o agua, comparadas con botas de control. Se concluyó que el desinfectante que contiene la solución peróxido de hidrógeno aplicado en un baño de pies, tuvo una acción de reducción de las concentraciones bacterianas en las botas de goma (3).

Calderón (2005) en su tesis titulada **“Comparación del efecto desinfectante de hidróxido de calcio vs una mezcla de ácidos orgánicos y surfactantes, aplicados en pediluvios de una granja avícola en el departamento de Guatemala”**, tuvo como objetivo comparar la efectividad de dos productos utilizados en pediluvios. Para ello se utilizaron 2 galpones, donde se realizó un muestreo por conveniencia, durante un lapso de 10 días continuos a la misma cantidad de personas que ingresaban diariamente al recinto. Para la recolección de muestras, utilizaron la técnica del hisopado en la suela de las botas antes y después de la desinfección. Para realizar el trabajo en el laboratorio se basaron en el método de siembra en placa por inundación, llegando a la conclusión de que ambos productos inhiben el crecimiento bacteriano e incluso en presencia de materia orgánica, además de tener un buen período residualidad, ya que no se tuvo que redosificar los pediluvios durante los diez días del ensayo (6).

Dee (2004) en su estudio titulado **“Evaluación de 4 estrategias de intervención para prevenir la transmisión mecánica del virus del síndrome reproductivo y**

**respiratorio porcino**”, ejecutado en la granja de investigación del Centro de Erradicación de Enfermedades Porcinas de la Universidad de Minnesota (SDEC), tuvo como propósito medir la eficacia de las estrategias de intervención para prevenir la transmisión mecánica del PRRSV minimizando los factores de riesgo. Para ello probaron cuatro estrategias: uso de botas de plástico desechables, uso de baños de botas, uso de pisos de listones de plástico (Polygrate) en la antesala para prevenir la contaminación del calzado personal entrante, y uso de métodos de envío bag-in-a-box para evitar la contaminación. Para ello se recolectaron muestras de hisopados de sitios seleccionados, para luego ser analizados mediante PCR y bioensayo. Los resultados indicaron que el uso de botas desechables, baños de botas con lejía o métodos de envío bag-in-a-box fueron altamente eficaz, pero el uso de pisos (Polygrate) en la antesala no evitó la contaminación del calzado personal (63).

Amas *et al.*, (2001) en su trabajo de investigación titulada “**Evaluación de la eficacia de Virkon S como desinfectante para el baño de botas**”, tuvo como objetivo determinar la eficacia de una solución al 1 % de Virkon S como desinfectante para baños de botas. El diseño experimental se basó en muestrear un área de 75 mm<sup>2</sup> (0.12 pulgadas cuadradas) de la suela de cada bota antes y después del tratamiento. Las muestras se diluyeron y cultivaron, además se realizaron análisis de medidas repetidas con un modelo lineal general, seguido de un análisis post hoc de Tukey. Los resultados demostraron que al pasar por un baño de botas o permanecer de pie en el desinfectante Virkon S al 1 % durante 2 minutos sin quitar primero el estiércol de las botas no desinfectará las botas. Sin embargo, la desinfección solo se logrará cuando el estiércol visible se elimine estando de pie y/o restregando las botas en un baño con Virkon S al 1 %, y cuando el estiércol visible se elimine primero con agua y después se sumerjan las botas en Virkon S al 1 % (64).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación del área de estudio

El estudio se realizó en el área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del Centro de Producción Acuícola Domingo Rodas, ubicado en el sector Playa Hermosa – La Canela, distrito de Corrales, provincia y departamento de Tumbes. Dicho centro de producción cuenta con tres áreas debidamente identificadas: área de cuarentena, sala de muestreo y área de probióticos. Para el desarrollo del presente estudio se utilizaron únicamente el área de cuarentena y la sala de muestreo, por considerarse zonas críticas dentro del programa de bioseguridad.

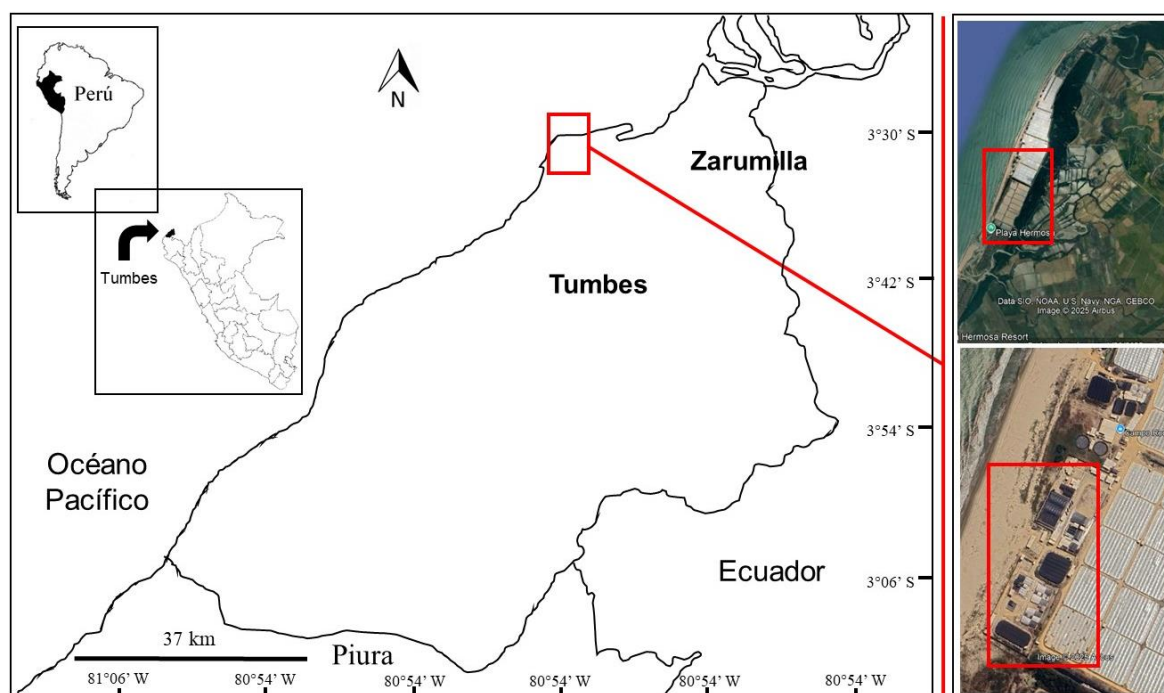


Figura 1. Ubicación geográfica del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas.

Fuente: Google Earth 2023.

## 3.2 Diseño de investigación

Se realizó una investigación de tipo experimental, mediante una validación concurrente, en donde se comparó el efecto desinfectante de dos productos a diferentes tiempos de contacto; con el fin de verificar si estos siguen teniendo un porcentaje de eliminación mayor al 90 %.

## 3.3 Población

Las bacterias recuperadas de las suelas de botas antes y después de la exposición a los 3 tratamientos con; hipoclorito de calcio (65-70 %) con una dosis de 200 ppm, Virkon™ LSP con una tasa de dilución 1:200 y el control (agua).

## 3.4 Métodos

### 3.4.1 Procedimiento de campo

1. Se enjuagaron los pediluvios con agua a presión.
2. Se prepararon soluciones detergentes para lavar y restregar los pediluvios antes de ser usados.
3. Se enjuagaron los pediluvios hasta retirar todo el detergente.
4. Se llenaron los pediluvios con 10 L de agua.
5. Se agregaron las soluciones desinfectantes según las recomendaciones del fabricante y/o manejo del Centro de Producción Acuícola (CPA):

**TRATAMIENTO 1:** Hipoclorito de calcio (65-70 %) a 200 ppm. Esta concentración suele utilizarse en pediluvios para la desinfección de botas, como norma de buenas prácticas de manufactura y procedimientos operacionales estandarizados de sanitización en empresas de industria alimentaria (65). **Dosificar:** 2.86 g para 10 L de agua.

**TRATAMIENTO 2:** Virkon™ LSP a una tasa de dilución de 1:200, recomendada como medida de bioseguridad para la desinfección rutinaria. **Dosificar:** 50 mL para 10 L de agua.

**TRATAMIENTO 3:** No se le agregó desinfectante, solo agua; tratamiento de control.

6. Se homogenizaron ambos productos hasta su completa disolución.

7. Se realizó el hisopado únicamente dentro del marco de 100 cm<sup>2</sup> (10 x 10 cm) en ambas suelas de las botas del personal que hizo uso de los pediluvios antes y después de la “desinfección”.
8. Este procedimiento se realizó por 7 días consecutivos al mismo número de personas. Se realizaron tres repeticiones.

#### **3.4.2 Procedimiento de hisopado**

1. Se abrió la funda de los hisopos.
2. Se tomó la parte libre de algodón del hisopo.
3. Se abrió el tubo falcón con el agua fosfatada y se presionó la cabeza del hisopo contra la pared interna del tubo, agitándose de esta manera durante 5 segundos.
4. Se removió el excedente de agua fosfatada del hisopo.
5. Se colocó la plantilla 100 cm<sup>2</sup> (10 x 10 cm) sobre la superficie a muestrear (suela de la bota/parte frontal).
6. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se frotó 4 veces la superficie, cada una en dirección opuesta a la anterior.
7. Una vez terminado el procedimiento de hisopado, se colocó el hisopo en el tubo con el agua fosfatada, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos y se desechó.
8. Se cerró perfectamente el tubo falcón y se identificó con la siguiente información: identificación de muestra (número de operario, bota derecha/izquierda, antes/después de la desinfección y número de tratamiento), fecha y hora de muestreo. Además, se llenó una ficha con los siguientes datos: ubicación del pediluvio, temperatura, pH, salinidad, cloro residual libre (esto se midió con las tiras de ensayo “chlorine – test”; para el caso del tratamiento 1; “hipoclorito de calcio 65-70 %”) y tipo de análisis a efectuar. Ver anexo 01 (66).
9. Las muestras se mantuvieron a 4 °C hasta que fueron procesadas (no más de 2 horas después de la recolección) (6,67).

#### **3.4.3 Procedimiento de laboratorio**

1. La preparación del medio de cultivo se basó en la ficha técnica del agar TCBS y TSA (68).

2. Se utilizaron tubos cónicos estériles con tapa de rosca con 3 mL de agua fosfatada como medio de transporte.
3. Se utilizaron placas de Petri estériles con 20 mL de agar TCBS para siembra.
4. Se tomó 1 mL de muestra del tubo falcón de 3 mL, para realizar diluciones seriadas, 1/10 para obtener diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  (TSA) y  $10^{-1}$  (TCBS) (69).

#### **Método de siembra en placa por incorporación.**

1. Se tomó 0.1 mL de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  (para TSA) y  $10^{-1}$  (para TCBS), se mezcló el volumen de la muestra (inóculo) con el medio de cultivo agar correspondiente que había sido fundido.
2. Se incubó por 24 h a 37°C.
3. Se realizó el conteo de colonias y se registró. (6,69). Ver anexo 2

#### **3.5 Análisis de datos**

Se realizó una estadística de tipo descriptiva para resumir los datos y presentarlos en tablas y gráficas, para evaluar la acción de los desinfectantes y comprobar el periodo de eficacia, se realizaron pruebas de hipótesis para determinar las diferencias entre las medias de dos muestras (prueba de Z).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el efecto desinfectante del hipoclorito de calcio y Virkon™ LSP aplicados en pediluvios mediante un estudio realizado durante siete días. Los análisis microbiológicos permitieron cuantificar las unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias totales. Las bacterias del género *Vibrio* no mostraron crecimiento en el agar selectivo correspondiente, por lo que los resultados se enfocaron en las bacterias totales registradas.

### 4.1 Evaluación de la acción desinfectante del hipoclorito de calcio a 200 ppm utilizado en pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes

Tabla 1. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados realizados antes y después de la utilización del pediluvio con hipoclorito de calcio.

Tratamiento	Momento	Días de tratamiento						
		21/04/25	22/04/25	23/04/25	24/04/25	25/04/25	26/04/25	27/04/25
		UFC/m <sup>2</sup>						
Hipoclorito de calcio	Antes	2.7	4.2	11.4	42.0	36.0	6.9	6.0
		16.5	18.6	12.0	21.0	24.0	24.0	42.0
	Después	0.3	0.6	7.2	6.6	40.2	6.3	10.5
		1.8	2.4	16.5	1.5	13.5	5.7	10.8
	Después	12.0	12.9	7.5	1.2	12.9	9.6	4.8
		3.3	4.8	54.0	42.0	51.0	18.0	12.6
		9.0	9.9	21.0	24.0	25.5	10.5	35.4
		0.3	0.6	21.0	12.0	25.5	38.4	13.8
		0.6	0.9	18.0	21.0	19.5	19.8	5.4
		21.0	21.9	6.9	27.0	18.6	34.8	11.7

Fuente: Datos experimentales del estudio, utilizados como base para la elaboración de la figura del Anexo 9.

En la Tabla 1 se presentan los valores de UFC/m<sup>2</sup> obtenidos antes y después del paso por el pediluvio con hipoclorito de calcio durante los siete días de prueba. En general, los resultados evidenciaron que la carga bacteriana no disminuyó tras la desinfección, ya que los valores que se presentaron en la figura del Anexo 9 mostraron que antes del tratamiento se mantuvieron en un rango promedio de 7 a 25 UFC/m<sup>2</sup>, mientras que después del paso por el pediluvio se observó un incremento, alcanzando picos promedios de hasta 28 UFC/m<sup>2</sup> en los días 4 y 5. Esto indica que, bajo las condiciones evaluadas, el hipoclorito de calcio no logró una reducción consistente de la carga bacteriana en las suelas de las botas.

El hipoclorito de calcio a 200 ppm no redujo la carga microbiana en las suelas de las botas, e incluso se observaron incrementos en algunos días, evidenciando baja eficacia bajo las condiciones evaluadas. Esta ineficacia puede atribuirse al pH alcalino del pediluvio ( $\geq 8$ ), que favorece la formación del ion hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ), menos microbicida que el ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), y a la rápida pérdida del cloro residual activo; por ello, ajustar el pH a valores entre 6 y 7 podría mejorar su acción desinfectante (70,71). Resultados similares fueron reportados por la FAO (1998), quien señaló que el efecto bactericida del hipoclorito disminuye hasta diez veces cuando el pH aumenta a 8 (72). De igual manera, Gómez *et al.* (2016) evidenciaron que las soluciones de hipoclorito de calcio recién preparadas presentan pH elevados y una rápida degradación del cloro disponible, reduciendo su efectividad (73). En contraste, *Limsuwan et al.* (2008) demostraron que, bajo condiciones controladas de pH y concentración, el hipoclorito de calcio logró reducir hasta en un 90 % la Microsporidiosis en estanques de *Penaeus vannamei*, lo que confirma que su eficacia depende del manejo adecuado del producto y del entorno de aplicación (74). En conjunto, estos antecedentes respaldan que el hipoclorito de calcio solo mantiene un efecto desinfectante óptimo cuando se controlan factores críticos como pH, materia orgánica y renovación periódica de la solución, coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio.

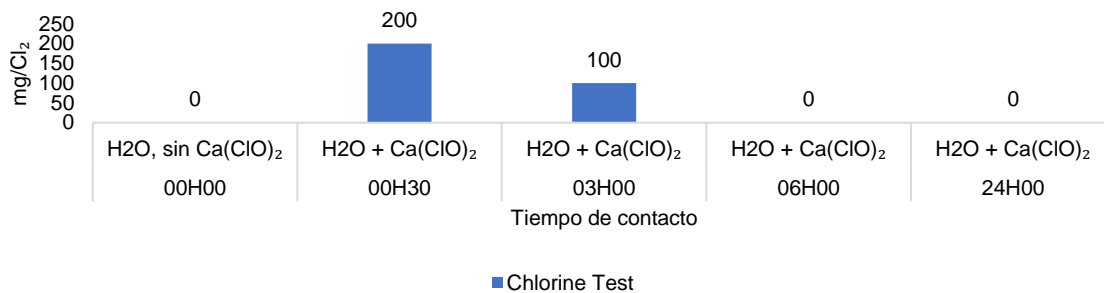


Figura 2. Volatilización del hipoclorito de calcio (200 ppm) en pediluvio del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes, 2025.

En la Figura 2 se mostró la volatilización de la concentración de cloro residual (ppm) en el agua tratada con hipoclorito de calcio. Inicialmente, a un tiempo de contacto de 30 minutos, se registró la concentración de 200 ppm, la cual disminuyó progresivamente a 100 ppm a las 3 horas. Posteriormente, a las 6 horas de exposición, el nivel de cloro se redujo a 0 ppm. El gráfico evidenció la rápida volatilización del hipoclorito, con una pérdida total del cloro residual en menos de 6 horas después de su aplicación.

Tras la adición de hipoclorito de calcio (200 ppm) en el agua, el cloro residual disminuyó de 200 ppm a 100 ppm en 3 h y a 0 ppm a las 6 h, lo que evidenció una rápida pérdida de cloro activo. Esto, sumado al pH elevado del pediluvio, favorece que el  $\text{OCl}^-$  sea menos efectivo, explicando la baja ineficiencia del desinfectante. Para mejorar el desempeño de desinfección, sería necesario ajustar el pH, reponer cloro periódicamente o minimizar su exposición al aire (75).

## 4.2 Evaluación de la acción desinfectante del Virkon™ LSP a una tasa de dilución de 1:200 utilizado en pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*) del campo Domingo Rodas, Tumbes

Tabla 2. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados antes y después de la utilización del pediluvio con Virkon™ LSP.

Tratamiento	Momento	Días de tratamiento						
		21/04/25	22/04/25	23/04/25	24/04/25	25/04/25	26/04/25	27/04/25
		UFC/m <sup>2</sup>						
Virkon™ LSP	Antes	4.8	17.7	15	7.5	3.6	11.4	8.4
		3.3	4.5	27	0	11.4	13.2	8.4
		1.8	2.1	5.4	4.2	2.4	7.8	15.9
		3	4.8	0	10.5	1.5	19.8	6
		4.2	6.3	1.5	5.1	15.6	15	9
		9.6	11.7	10.5	6	1.2	6.9	1.8
	Después	2.4	2.7	12	0.3	6.3	4.2	1.8
		0.6	1.2	3.9	6	1.2	9	15
		6	3.3	0.6	4.2	0.9	16.8	1.2
		4.5	2.7	0.9	5.1	10.5	5.1	15.6

Fuente: Datos experimentales del estudio, utilizados como base para la elaboración de la figura del Anexo 10.

En la Tabla 2 se compararon los resultados obtenidos antes y después de la aplicación de Virkon™ LSP. En la fase previa al tratamiento se evidenció una variabilidad considerable, con valores que oscilaron entre 0 y 27 UFC/m<sup>2</sup>, registrándose los recuentos más elevados el día 2. Tras la aplicación del desinfectante, los valores disminuyeron, con un rango entre 0.3 y 16.8 UFC/m<sup>2</sup>, lo que indicó una reducción efectiva de la carga microbiana superficial. La evolución de los valores de UFC/m<sup>2</sup> que se representó de forma comparativa en la figura del (Anexo 10) muestran el comportamiento de las muestras antes y después de la desinfección, evidenciándose que, tras el tratamiento, los recuentos se redujeron en la mayoría de los días evaluados, en contraste con la fase inicial, particularmente

el día 1, donde se observó un incremento notable en la cantidad de bacterias recuperadas.

El tratamiento con Virkon™ LSP a una tasa de dilución de 1:200 mostró una tendencia a reducir la carga microbiana en las suelas de las botas, aunque sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa. Este comportamiento concuerda con lo reportado por *Amass et al.* (2001), quienes evaluaron la eficacia del Virkon® S en pediluvios y demostraron que la desinfección solo fue efectiva cuando las botas se encontraban previamente limpias, ya que la presencia de materia orgánica reduce notablemente su acción bactericida (64). De forma similar, *Harrison et al.* (2022) observaron que el uso de desinfectantes húmedos en baños de botas presentó eficacia variable dependiendo de la limpieza y el tiempo de contacto, resaltando la necesidad de un mantenimiento adecuado de las soluciones (58). En conjunto, estos resultados respaldan que el Virkon™ LSP es un desinfectante de amplio espectro dada que su acción se le atribuye a la combinación de para-chloro-metacresol (PCMC) y orthofenilfenol (OPP), que permiten una rápida destrucción de microorganismos (43). Estos resultados indican que, manteniendo la concentración y tiempo de contacto, Virkon™ LSP es una alternativa confiable y mucho más estable que los compuestos clorados; sin embargo, su eficacia en pediluvios depende de factores operativos como la limpieza previa, el tiempo de contacto y la frecuencia de renovación de la solución, coincidiendo con lo observado en este estudio.

Tabla 3. Resultados obtenidos de la comparación de hisopados antes y después de la utilización del pediluvio con agua.

Tratamiento	Momento	Días de tratamiento						
		21/04/25	22/04/25	23/04/25	24/04/25	25/04/25	26/04/25	27/04/25
		UFC/cm <sup>2</sup>						
Agua	Antes	5.4	13.8	5.1	2.7	8.7	10.5	18.9
		0.3	7.8	6.0	5.1	9.6	20.7	5.1
		15.0	18.0	13.5	4.2	16.5	35.7	18.0
		12.0	13.8	16.5	21.0	22.5	9.9	22.5
		1.8	0.6	7.5	27.0	27.0	9.3	5.7
		6.0	6.0	5.1	4.2	4.5	15.0	26.4
		2.1	0.0	10.5	6.3	8.7	30.0	7.5
	Después	0.3	3.6	13.5	3.3	9.6	13.5	5.1
		5.4	6.6	18.0	18.0	23.1	11.7	29.1
		0.6	0.0	12.0	33.0	22.2	12.0	8.7

Fuente: Datos experimentales del estudio, utilizados como base para la elaboración de la figura del Anexo 11.

En la Tabla 3 se presentan los valores de unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>) obtenidos durante siete días de evaluación, antes y después del paso de las botas por el tratamiento de control con agua. En la fase previa se evidenció una amplia variabilidad, con valores que oscilaron entre 0.3 y 35.7 UFC/cm<sup>2</sup>, registrándose los recuentos más elevados el día 6. Posterior a la aplicación, los valores no mostraron una disminución sostenida como en los tratamientos con desinfectante, manteniéndose entre 0.0 y 33.0 UFC/cm<sup>2</sup>. La comparación gráfica con la figura del (Anexo 11) de los recuentos antes y después del tratamiento evidenció que las tendencias no reflejaron una reducción clara de la carga microbiana, ya que, aunque se observaron descensos puntuales en algunos días, también se registraron incrementos notorios en los días 3, 4 y 7. En conjunto, los resultados indican que el uso de agua, por sí solo, no ejerció un efecto consistente en la disminución de microorganismos presentes en las suelas de las botas.

El tratamiento con agua sola mostró fluctuaciones en la carga microbiana, con algunos días de disminución leve y otros con incrementos, lo que indica que el agua sin desinfectante no es suficiente para controlar la carga microbiana. Las variaciones observadas podrían deberse al arrastre físico de microorganismos, pero sin eliminación real, lo que coincide con lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), que señala que el lavado con agua puede reducir de forma transitoria la carga microbiana, pero no garantiza su control en superficies de riesgo sanitario (76). Estos resultados confirman la necesidad de aplicar agentes desinfectantes como Virkon™ LSP, especialmente en zonas de bioseguridad acuícola donde la contaminación microbiana puede ser crítica.

Tabla 4. Parámetros físicos en pediluvios que contienen los tratamientos con hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua.

Tratamiento	Días de tratamiento																				
	21/04/2025			22/04/2025			23/04/2025			24/04/2025			25/04/2025			26/04/2025			27/04/2025		
	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰	T°	pH	S‰
<b>Hipoclorito de calcio</b>	27	9	0	27	9	0	28	9	0	28	9	0	29	9	0	29	9	0	30	9	0
<b>Virkon™ LSP</b>	27	7	0	27	7	0	28	7	0	28	7	0	29	7	0	29	7	0	30	7	0
<b>Agua</b>	26	7	0	27	7	0	27	7	0	28	7	0	28	7	0	29	7	0	29	7	0

Fuente: Datos experimentales del estudio, utilizados como base para la elaboración de la figura del Anexo 12.

En la Tabla 4 se presentan los valores de temperatura (°C), pH y salinidad (S‰) registrados en los pediluvios con hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua durante los días de ensayo. Se observó que la temperatura se mantuvo estable en todos los tratamientos, mientras que el pH se mantuvo cercano a la neutralidad en los pediluvios con Virkon™ LSP y agua, alcanzando valores iguales o superiores a 8

en el pediluvio con hipoclorito de calcio; la salinidad, por su parte, se mantuvo prácticamente en 0 (S ‰) en todos los casos. La representación gráfica de estos parámetros evidencia que las condiciones físicas permanecieron relativamente constantes durante todo el ensayo, lo que confirma que las variaciones observadas en la carga microbiana se debieron principalmente a la eficacia de los desinfectantes y al arrastre físico de microorganismos, más que a cambios significativos en las propiedades del agua. Asimismo, el pH elevado registrado en el pediluvio con hipoclorito de calcio podría haber contribuido a la menor eficacia desinfectante observada en dicho tratamiento.

Durante los 7 días de ensayo, la temperatura se mantuvo estable, lo que permitió evaluar los tratamientos sin interferencias externas. El pH del pediluvio con hipoclorito de calcio fue  $\geq 8$ , reduciendo la proporción de ácido hipocloroso (HOCl) y explicando su menor eficacia; en los pediluvios con Virkon™ LSP, el pH cercano a neutro favoreció la acción (77,78).

#### **4.3 Comparación del período de eficacia de los productos con relación al tiempo transcurrido desde su aplicación.**

El análisis comparativo de los tres tratamientos evidenció diferencias notorias en su eficacia desinfectante. El Virkon™ LSP mostró la mayor reducción de carga microbiana (de 7.95 a 5.48 log UFC), confirmando su estabilidad y amplio espectro, en concordancia con lo reportado por *Amass et al.* (2001), quienes destacan su efectividad sobre superficies cuando se mantiene el tiempo de contacto y concentración adecuados (64). En contraste, el hipoclorito de calcio no logró disminuir la carga microbiana, mostrando incluso incrementos, lo cual se atribuye al pH alcalino ( $\geq 8$ ) que favorece la forma menos activa del cloro ( $OCl^-$ ), además de la pérdida de cloro libre por degradación y volatilización descrita por *Gómez et al.* (2016) (73). Por su parte, el tratamiento con agua solo generó reducciones leves atribuibles al arrastre físico, sin efecto germicida, coincidiendo con lo observado por *Harrison et al.* (2022) (58). En conjunto, los resultados demuestran que la eficacia

del pediluvio depende tanto de las propiedades químicas del desinfectante como del control de factores operativos, destacando al Virkon™ LSP como la alternativa más estable y efectiva bajo las condiciones evaluadas.

Los resultados demostraron que, al aplicar la prueba Z para la comparación de medias, ninguno de los tratamientos evaluados presentó diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la carga bacteriana al nivel de confianza del 95 %. El tratamiento con agua no evidenció diferencias significativas entre los valores iniciales y posteriores ( $z = 0.77$ ;  $p = 0.445$ ). En el caso del hipoclorito de calcio, se observó un incremento de los valores luego del tratamiento, con un resultado estadístico en el límite de la significancia ( $z = -1.94$ ;  $p = 0.052$ ), lo que indica que no generó un efecto reductor claro bajo las condiciones evaluadas. Por su parte, el Virkon™ LSP mostró una tendencia a la disminución de la carga microbiana, pasando de 7.95 a 5.48 UFC/m<sup>2</sup> en promedio, aunque sin alcanzar significancia estadística ( $z = 1.86$ ;  $p = 0.063$ ). En conjunto, estos resultados indican que ninguno de los tratamientos logró un efecto estadísticamente significativo, aunque el Virkon™ LSP presentó un comportamiento más favorable en comparación con los demás.

Los resultados detallados de las pruebas estadísticas se presentan en los Anexos 13, 14 y 15.

## V. CONCLUSIONES

El estudio confirmó que, bajo las condiciones evaluadas, el Virkon™ LSP a una tasa de dilución de 1:200 presentó una acción desinfectante relativamente constante en el tiempo, evidenciada por una reducción uniforme de la carga bacteriana en las suelas de las botas, en comparación con el hipoclorito de calcio a 200 ppm. En contraste, el hipoclorito de calcio mostró una eficacia prácticamente nula para la reducción bacteriana, lo que se asoció a la pérdida rápida de cloro residual activo y al pH alcalino del pediluvio. Estos resultados evidencian que la elección del desinfectante es un factor determinante para garantizar la bioseguridad en los pediluvios del área de cuarentena de pre reproductores (*Penaeus vannamei*).

El hipoclorito de calcio mostró una eficacia limitada, probablemente influenciada por el pH elevado del agua (sustancia que actúa como solvente) y la volatilización del cloro residual, lo que reduce la proporción de ácido hipocloroso (HOCl), principal agente antimicrobiano del cloro. Esto explica la menor eliminación de bacterias observada durante el ensayo.

Los análisis estadísticos realizados mediante la prueba Z indicaron que, bajo las condiciones evaluadas, ninguno de los tratamientos presentó diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la carga bacteriana. La variabilidad observada en la eficacia de los desinfectantes sugiere que su desempeño puede verse influenciado por factores externos, como el pH del agua, la volatilización del cloro y el arrastre físico de microorganismos durante el tránsito del personal.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Para el uso de pediluvios en las condiciones en las que se realizó este trabajo de investigación se recomienda cubrir o proteger los pediluvios con tapas o lonas ligeras para minimizar la volatilización del cloro y mantener una concentración efectiva de los desinfectantes. Además, siempre que sea posible, se sugiere ajustar ligeramente el pH del agua utilizada en los pediluvios (ácidos seguros para uso en acuicultura) para aumentar la proporción de ácido hipocloroso (HOCl) en el hipoclorito de calcio, mejorando así su acción antimicrobiana, sin que esto complique las labores diarias en campo.

Para asegurar que los desinfectantes mantengan su efectividad, especialmente el hipoclorito de calcio, se recomienda cambiar las soluciones cada 1-2 días o cuando se observe turbidez, suciedad acumulada o disminución visible de la concentración. Además, se sugiere limpiar el pediluvio regularmente para eliminar restos de tierra, barro o materia orgánica que puedan disminuir la acción de los desinfectantes.

Es fundamental capacitar al personal sobre el uso correcto de los pediluvios, asegurando que todo el calzado haga contacto completo con la solución desinfectante y que el paso sea lento y uniforme. Además, se debe reforzar la importancia de mantener la bioseguridad en todas las áreas de cuarentena, explicando cómo pequeños descuidos pueden favorecer la introducción de bacterias en áreas altamente sensibles. Estas medidas permiten un control microbiano efectivo sin necesidad de equipos complejos ni costosos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lightner, Donald; Pantoja, Carlos. Bioseguridad en el cultivo de camarones Arizona. Disponible en: <https://www.cesaibc.org/pdf/infointeres/crustaceos/bioseguridadencultivo.pdf>
2. Equipo Técnico- CKM S.A.C. [Online]; 2017. Disponible en: <https://ckmperu.com/evaluacion-efecto-residual-ckm-desin-uso-pediluvios/>.
3. Morley, Paul S; Morris, Nanea; Hyatt, Doreene R; Van Metre, David C. Evaluation of the efficacy of a peroxygen disinfectant-filled footmat for reduction of bacterial load on footwear in a large animal hospital setting. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2005; 226(12). Available at: [https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/226/12/javma.2005.226.2053.xml?tab\\_body=pdf](https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/226/12/javma.2005.226.2053.xml?tab_body=pdf)
4. Holah, J. Special needs for disinfectants in food - handling establishments. Revue scientifique et technique. 1995; 1(14): p. 95 - 104. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7548975/>
5. Ríos Castillo, Abel Guillermo. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo. Nuevos métodos. Tesis doctoral. Bellaterra: Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Ciencias animales y de Alimentos. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/129381/agrc1de1.pdf?sequence=1>

6. Calderón Barrios, Karen Sofía . Comparación del efecto desinfectante de hidróxido de calcio vrs. una mezcla de ácidos orgánicos y surfactantes, aplicados en pediluvios de una granja avícola en el departamento de Guatemala. Tesis de Pregrado. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10\\_0842.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_0842.pdf)
7. Guía para uso de cloro en desinfección de frutas y hortalizas de consumo fresco, equipos y superficies en establecimientos. Dirección Regional de Inocuidad de los Alimentos. Disponible en: <https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf>
8. LSP LdpV.. Disponible en: <https://www.facebook.com/GanaderiayAgricultura/videos/911695972958403>.
9. Bedoya Salcedo , Laura Isabel ; Corredor Barrera, Lorena Del Pilar. Validación concurrente de cuatro tipos de desinfectantes utilizados en el laboratorio de indicadores de calidad de aguas y lodos de la pontificia Universidad Javeriana. Pre grado. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11846/BedoyaSalcedoLauralsabel2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. MÓDULO 15: Bioseguridad y prevención de enfermedades en la Acuicultura. Programa Nacional de Acreditación veterinaria. 2011. Disponible en: <https://www.cfsph.iastate.edu/pdf-library/Acreditacion-Veterinaria/NVAP-Mod-15-AQBIO.pdf>
11. El Cuaderno de Porqué de la Biotecnología. En.; 2004. Disponible en: [https://www.porquebiotecnologia.com.ar/Cuadernos/El\\_Cuaderno\\_53.pdf](https://www.porquebiotecnologia.com.ar/Cuadernos/El_Cuaderno_53.pdf)
12. Hongos y Levaduras. [Online]. Disponible en: <https://ecobiouvm.wordpress.com/wp-content/uploads/2014/02/hongosmohosylevaduras.pdf>.
13. Sanches FG, Sá CL, Costa R. Vibriosis Outbreaks in Aquaculture: Addressing Environmental and Public Health Concerns and Preventive Therapies Using

- Gilthead Seabream Farming as a Model System. *Microbial Symbioses*. 2022; 13. Available at: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.904815/full>
14. Morfología y Estructura de los Microorganismos. [Online]. Disponible en: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_2\\_morfologia.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_2_morfologia.pdf).
15. Culot A, Grosset N, Bruey Q, Auzou M, Giard JC, Favard B, et al. Isolation of Harveyi clade *Vibrio* spp. collected in aquaculture farms: How can the identification issue be addressed? *Journal of Microbiological Methods*. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701220308228>
16. Castellano FJ. Efecto de dietas con *Spirulina* sp contra bacterias patógenas de tipo *Vibrio* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de Pregrado. Mochache: Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/4ec01926-d0dc-4a6a-b63b-700dd20994d8/content>
17. Sarjito , Sabdono A. Associated *Vibrio* Species in Shrimp Vibriosis from Traditional Brackish Water Pond in the North Coastal of Central Java, Indonesia. *Genetics of Aquatic Organisms*. 2021; 2(5): p. 45-54. Available at: [https://www.genaqua.org/uploads/pdf\\_49.pdf](https://www.genaqua.org/uploads/pdf_49.pdf)
18. ¿Qué son los Hongos? [Online]. Disponible en: <https://www.asociacionmicologicamairei.com/wp-content/uploads/2020/01/Que-son-los-Hongos-Apunte-UCA.pdf>.
19. Varela A, Choc Martínez LF. Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2020; 3(31): p. 1-13. Disponible en: <https://revistas.gnbit.net/index.php/veterinaria/article/view/18165>
20. González, Del Rio Massiel. Validación prospectiva del proceso de limpieza y desinfección de áreas estériles y cabinas en la central de mezclas de una

institución hospitalaria de alto nivel de complejidad. Pre grado. Cartagena: Universidad de Cartagena. Disponible en: <https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/14613/LESLIE%20MASSIEL%20GONZALEZ%20DEL%20RIO%20-%20Trabajo%20Final%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

21. CECMED. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. [Online]; 1994. Disponible en: <https://www.cecmed.cu/Does/RegFarm/DRA/BPPF/1992-2002/Reg/Reg%205-94.pdf>.
22. Caro, C. Validación de procesos no estériles. Industria farmacéutica. Equipos, procesos y tecnología. 1996;(2): p. 59-65. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3098654>
23. Ardilla Traslaviña, Enna Lorena. Validación del proceso de limpieza y desinfección de equipos de la planta de Fitoterapéuticos del laboratorio Labfarve. Tesis de Pre grado. Universidad de Pamplona, Departamento de Microbiología. Disponible en: <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/1212>
24. Frank, J; Koffi, R. Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* in associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. *Journal of Food Protection*. 1990; 7(53): p. 550-554. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31018356/>
25. Glossary OECD Efficacy Workshop on Certain Antimicrobial Biocides. OECD. 2002. Available at: [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2013\)11/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2013)11/en/pdf)
26. Forsythe, S J; Hayes, P R; Sanz, Pérez Bernabé. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. 2002; 2da Edición: p. 359-386. Disponible en: [https://catoute.unileon.es/discovery/fulldisplay/alma991000643129705772/34\\_BUC\\_ULE:VU1](https://catoute.unileon.es/discovery/fulldisplay/alma991000643129705772/34_BUC_ULE:VU1)

27. Rutala, W. APIC guideline for selection and use of disinfectants. American Journal of Infection control. ;(24): p. 313-342. Available at: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11846/BedoyaSalcedoLauralsabel2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Parish , M E; Beuchat, L R; Suslow, T V; Harris, L J; Garret, E H; Farber, J N; Busta, F F. Chapter V: Methodos to reduce/eliminate pathogens from fresh and fres-cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2003;(2): p. 161-173. Available at: [https://www.academia.edu/18347412/Methods\\_to\\_Reduce\\_Eliminate\\_Pathogens\\_from\\_Fresh\\_and\\_Fresh\\_Cut\\_Produce](https://www.academia.edu/18347412/Methods_to_Reduce_Eliminate_Pathogens_from_Fresh_and_Fresh_Cut_Produce)
29. FDA/CFSAN. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh - cut produce. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2001. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~com%20m/ift3-3.html>
30. Mayorga Vargas, Marianela. Validación de la etapa de desinfección en el proceso de empaque de melón fresco (Cucumis melo) en la planta procesadora de Finca La Cueva, Liberia, Guanacaste. Tesis de Posgrado. Universidad de Costa Rica, Sistema de Estudios de Posgrado. Disponible en: [https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/86143/CITA\\_Tesis%20maestr%C3%ADa\\_Validaci%C3%B3n%20de%20la%20etapa%20de%20desinfecci%C3%B3n%20en%20el%20proceso%20de%20empaque%20de%20mel%C3%B3n%20fresco.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/86143/CITA_Tesis%20maestr%C3%ADa_Validaci%C3%B3n%20de%20la%20etapa%20de%20desinfecci%C3%B3n%20en%20el%20proceso%20de%20empaque%20de%20mel%C3%B3n%20fresco.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
31. Sanchez L, Saenz. Antisépticos y Desinfectantes. Dermatología Peruana. 2005; 2(15): p. 82-103. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11846/BedoyaSalcedoLauralsabel2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
32. Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos, para Frutas y Hortalizas Frescas.: Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada de la Administración de Alimentos y Medicamentos del Departamento

de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. (CFSAN); 1998. Disponible en:  
<https://www.fda.gov/media/77823/download>

33. Santos Janampa G, Tolentino Fabian RK. Efecto de la concentración de hipoclorito de calcio, Tiempo de inmersión y empaque, en la conservación de la lechuga ICEBERG (*Lactuca sativa* L.) almacenada en refrigeración. Tesis de Pregrado. Huánuco: Universidad Nacional Hermilio Valdizán Huánuco. Disponible en:  
<https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/1245/TAI%2000058%20S21.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. Rico D, Martin A, Barat J, Ryan C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in food science technology*. 2007;: p. 373-386. Available at:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224407001057>
35. Sconce JS. Chlorine It's Manufacture, Properties and Uses Krieger RE, editor. Huntington: Publishing Company; 1972. Available at:  
<https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/bitstream/handle/123456789/1117/Rodríguez%20Saravia,%20Mauricio.PDF?sequence=1>
36. Murakami T, Igawa K, Hiraga. Stable Calcium Hypochlorite Composition and Method for Manufacture Thereof. [Online]; 1982. Disponible en:  
<https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/bitstream/handle/123456789/1117/Rodríguez%20Saravia,%20Mauricio.PDF?sequence=1>.
37. Sconce, J.S. Stable Calcium Hypochlorite Composition and Method for Manufacture Thereof: U.S. Patent; 1982. Available at: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://repositorio.uvg.edu.gt/server/api/core/bitstreams/2b3e08ca-ce16-4fb8-809a-d0e2a47728ac/content>
38. Austin , G T. Manual de Procesos Químicos en la Industria México: McGraw Hill Interamericana; 1988. Disponible en:  
<https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/bitstream/handle/123456789/1117/Rodríguez%20Saravia,%20Mauricio.PDF?sequence=1>

39. Cajal, Alberto. Lifeder. [Online] Acceso 12 de Diciembre de 2023. Disponible en: <https://www.lifeder.com/cloro-gaseoso/>.
40. FAO. Manual para la preparación y ventas de frutas y hortalizas frescas. 2003. Disponible en: <https://www.fao.org/3/Y4893S/y4893s00.htm#Contents>
41. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance. Clinica Microbiology Reviews. 1999; 1(12): p. 147 - 179. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88911/>
42. Desinfectantes y Antisépticos. Superintendencia de Riesgos de Trabajo. 2021. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/guia\\_desinfectantes\\_y\\_antisepticos\\_septiembre\\_2021\\_0.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/guia_desinfectantes_y_antisepticos_septiembre_2021_0.pdf)
43. fenólicos LD. Comunidad Profesional Porcina. [Online]. Disponible en: <https://www.3tres3.com/latam/guia333/empresas/lanxess/posts/5975>.
44. LanXESS. [Online] Acceso 7 de Julio de 2024. Disponible en: <https://lanxess.com/en/products-and-brands/products/v/Virkon--lsp>.
45. Aldana, Luisa; Sarassa, Sandra. Efecto de desinfectantes y antimicrobianos naturales frente a cepas de Listeria monocytogenes. Tesis de Pregrado. Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, Departamento de Microbiología. Disponible en: [extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8306/1/tesis282.pdf](https://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8306/1/tesis282.pdf)
46. NTP 429: Desinfectantes: características y usos más corrientes. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P. 2018. Disponible en: <https://www.insst.es/documentacion/colecciones-tecnicas/ntp-notas-tecnicas-de-prevencion/12-serie-ntp-numeros-401-a-435-ano-1997/ntp-429-desinfectantes-caracteristicas-y-usos-mas-corrientes>
47. Maillard, J Y. Virus susceptibility to biocides: an understanding. RRMM Reviews and research in medical microbiology. 2001; 2(12): p. 63-74. Available at:

[https://journals.lww.com/revmedmicrobiol/abstract/2001/04000/virus\\_susceptibility\\_to\\_biocides\\_\\_an\\_understanding.1.aspx](https://journals.lww.com/revmedmicrobiol/abstract/2001/04000/virus_susceptibility_to_biocides__an_understanding.1.aspx)

48. Luppens, S; Reij, M; Van der Heijden, R; Rombouts, F; Abee, T. Development of a standard test to assess the resistance of *Staphylococcus aureus* biofilm cells to disinfectants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 9(68): p. 4194-4200. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC124130/#:~:text=A%20standardized%20disinfectant%20test%20for,to%20evaluate%20the%20biofilm%20test>.
49. Holah, J T. Progres Report on CEN/TC 216/Working Group 3: Disinfectant Test Methods for Food Hygiene, Institutional, Industrial and Domestic Applications. *International Journal of Biodeterioration y Biodegradacion*. 1995; 36(3-4): p. 355-365. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0964830595000976>
50. Barrientos Hernández F. Evaluación de la actividad antimicrobiana de tres sanitizantes usados en los laboratorios de Microbiología General II y Laboratorio I planta alta de la UMIEZ de la FES Zaragoza. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_barrientos\\_hernandez.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_barrientos_hernandez.pdf)
51. Ritenour , M; Sargent, S; Bartz, J; Lon Kan , E. Uso del cloro en las Líneas de Empacado de Productos Cosechados Frescos. [Online]; 2007. Disponible en: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/hs336>.
52. Herruzo Cabrera, Rafael. Desinfectantes Españoles para el Siglo XXI. *Real Academia Nacional de Medicina de España*. 2000; 4(117): p. 791-806. Disponible en: <https://www.ranm.es/sesiones-y-actos/archivosesiones/2000/124-sesion-del-dia-31-de-octubre-del-2000.html?start=2>

53. Eifert J, Sanglay G. Chemistry of Chlorine Sanitizers in Food Processing; 2002. Available at: <https://www.foodprotection.org/upl/downloads/journal-archive/dairy-food-and-environmental-sanitation-2002-volume-22-issue-7.pdf>
54. Davidovich Young, Gabriela. Efecto del pelado y el troceado sobre la eficacia del cloro como desinfectante en lechuga, papa y zanahoria. Tesis de Pregrado. Costa Rica: Universidad de Costa Rica. Disponible en: <https://kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/85255/Tesis%20completa%20Gabriela%20Davidovich%20Young.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
55. Marín , F; Barrantes, M. Empleo de Cloro como Tratamiento Poscosecha de Productos Frescos. Boletín Posocosecha Centro de Investigaciones Agronómicas. 1998;(2): p. 7-10. Disponible en: <https://kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/85255/Tesis%20completa%20Gabriela%20Davidovich%20Young.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
56. Waters, B; Hung, Y C. The Effect of pH and Chloride Concentration on the Stability and Antimicrobial Activity of Chlorine - Based Sanitizers. Journal of Food Science. 2014; 4(79): p. 622-627. Available at: <https://kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/85255/Tesis%20completa%20Gabriela%20Davidovich%20Young.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
57. Suzlow, T. Postharvest chlorination. University of California - Davis, Department of Vegetable Crops. Available at: <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8003.pdf>
58. Harrison, Olivia; Houston, Gracia E; Blomme, Allison; Ottott, Haley; Jianfabai; Poulsen, Elizabeth; Woodwoth, Jason; Paulk, Chad; Gebhardt, Jordan; Jones, Casandra. Evaluating dry vs. wet disinfection in boot baths on detection of porcine epidemic diarrhea virus and porcine reproductive and respiratory virus RNA. 2022; VI(4). Available at: <https://academic.oup.com/tas/article/6/4/txac150/6825372?login=false>
59. Altamirano V, Meza Y. Manual de bioseguridad para granjas piscícolas de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en Managua, Nicaragua 2020. Managua:

Universidad Nacional Agraria. Disponible en:  
<https://repositorio.una.edu.ni/4386/1/tnm01a465.pdf>

60. Limsuwan C, Chuchird N, Laisutisan K. Efficacy of calcium hypochlorite on the prevalence of microsporidiosis (Thelohania) in pond-reared *Litopenaeus vannamei*. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2008;(42): p. 282 - 288. Available at: <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/TKJN/10471582.pdf>
61. Fuentes Allende, Gonzalo Ignacio. Caracterización del diseño y uso de pediluvios en 39 lecherías de las Regiones de los Ríos y de los Lagos. Tesis de Pre grado. Santiago: Universidad Austral de Chile, Fomento de la Producción Animal. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/151151/Caracterizaci%C3%B3n-del-dise%C3%B1o-y-uso-de-pediluvios-en-39-lecher%C3%ADas-de-las-regiones-de-Los-R%C3%ADos-y-de-Los-Lagos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
62. Dunowska, Magdalena ; Morley, Paul S; Patterson, Gage; Hyatt, Doreene; Van Metre, David. Evaluation of the efficacy of a peroxygen disinfectant-filled footmat for reduction of bacterial load on footwear in a large animal hospital setting. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2006; 228(12). Available at: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/228/12/javma.228.12.1935.xml>
63. Dee, Scott; Deen, John; Carlos, Pijoan. Evaluation of 4 intervention strategies to prevent the mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can J Vet Res*. 2004; 68(1): p. 19-26. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1142125/>
64. Amass SF. Evaluación de la eficacia de Virkon S como desinfectante para el baño de botas. Disponible en: <https://www.thepigsite.com/articles/evaluation-of-the-efficacy-of-Virkon-s-as-a-boot-bath-disinfectant>
65. Madrid Paz JD. Implementación de buenas prácticas de manufactura y procedimientos operacionales estándares de sanitización en la empresa

universitaria de industrias lácteas de la Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/cbee3e00-e28d-4f69-ae30-7fe9b87fb2e4/content>

66. Norma Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestr. [Online]. Disponible en: <https://www.simaspiedrasnegras.gob.mx/Transparencia/informacion/02.-Marco%20Normativo/pdfs/NOM-230-SSA1-2002.pdf>.
67. Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA. Disponible en: [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM\\_461\\_2007.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf)
68. MERCK. Agar TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bili-Sacarosa) SDS. [Online] Acceso 26 de Mayo de 2024. Disponible en: [https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-BR-Site/pt\\_BR/-/BRL/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA\\_CHEM-110263&DocumentId=200705.031.ProNet&DocumentType=TI&Language=ES&Country=NF&Origin=PDP](https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-BR-Site/pt_BR/-/BRL/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA_CHEM-110263&DocumentId=200705.031.ProNet&DocumentType=TI&Language=ES&Country=NF&Origin=PDP).
69. Sanz Cervera, Susana. Prácticas de Microbiología. Segunda ed. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=100835>
70. SS B. Disinfection, sterilization, and preservation. 5th ed.: Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. Available at: <https://archive.org/details/disinfectionster0000unse>
71. GC W. Handbook of chlorination and alternative disinfectants. 4th ed.: New York: Wiley-Interscience; 1999. Available at: <https://content.e-bookshelf.de/media/reading/L-575140-f5e89df674.pdf>

72. (FAO) FaAO. Use of chemicals in aquaculture in Asia: Proceedings of the meeting on the use of chemicals in aquaculture in Asia. SEAFDEC Aquaculture Department. 1996;: p. 127-140. Available at: [https://www.seafdec.org.ph/wp-content/uploads/2012/11/Use\\_of\\_Chemicals\\_in\\_Aquaculture\\_in\\_Asia.pdf](https://www.seafdec.org.ph/wp-content/uploads/2012/11/Use_of_Chemicals_in_Aquaculture_in_Asia.pdf)
73. Gómez , S; García, M; Rojas, E. Stability and degradation of calcium hypochlorite solutions under different storage conditions. 2016;: p. 391-398. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26944836/>
74. Limsuwan, N; Chuchird, N; Boonyaratpalin, S. Efficacy of calcium hypochlorite on the prevalence of microsporidiosis (Thelohania) in pond-reared *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Res.* 2008; 39(11): p. 1204-1211. Available at: <https://www.thaiscience.info/journals/Article/TKJN/10471582.pdf>
75. Technologies O. Chlorine, pH and Cyanuric Acid Relationships. [Online] Acceso 02 de Septiembre de 2025. Available at: <https://blog.orendatech.com/chlorine-ph-and-cya-relationships>.
76. Organización Mundial de la Salud (OMS). Guías para la calidad del agua de consumo humano: cuarta edición que incorpora la primera adenda. [Online]. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf>.
77. Hypochlorite C. ScienceDirect. [Online] Acceso 02 de Septiembre de 2025. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/calcium-hypochlorite>.
78. Hypochlorite TfC. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). [Online]; 2012. Acceso 02 de Septiembre de 2025. Available at: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts184.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts184.html).

# ANEXOS

## Anexo 1. Ficha de muestreo.

FICHA DE MUESTREO				
DATOS DEL SOLICITANTE				
Nombres y apellidos: <u>Ruthy García Sánchez</u>		Celular: <u>953 561 629</u>		
Cargo: <u>Asistente de Bioseguridad</u>		Correo electrónico: <u>ruthy_garcia04@hotmail.com</u>		
DATOS DE LA MUESTRA				
N° muestra: <u>1</u>	Fecha: <u>21/04/25</u>	Hora: <u>8:30 AM.</u>		
Ubicación: <u>Sala de muestreo (tratamiento N° 1)</u>				
TIPO DE MUESTRA				
Tratamiento	PARAMETROS FISICO-QUÍMICOS			
	Temperatura (C°)	pH	Salinidad (%)	Chlorine – test Cloro residual libre (ppm)
Agua + Hipoclorito de calcio	<u>26.5</u>	<u>8.5</u>	<u>0</u>	<u>200 ppm</u>
Agua + Virkon™ LSP	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>-</u>
Agua	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>-</u>
DATOS DEL RECEPCIONISTA				
Nombres y Apellidos: <u>Ruthy García Sánchez</u>		Fecha: <u>21/04/25</u>		
Cargo: <u>Asistente de Bioseguridad</u>		Hora: <u>8:35 am</u>		
Análisis a realizar: <u>Microbiología.</u>		Firma: <u>[Firma]</u>		

Anexo 2. Registro de datos sin procesar de hisopados realizados en las suelas de las botas antes y después de los tratamientos

Fecha de muestreo	Fecha de lectura	N° de muestra	Muestras	B.T	S(+)	S(-)
21/04/25	22/04/25	1	Operario 1 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	7	0	0
21/04/25	22/04/25	2	Operario 1 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	2	0	0
21/04/25	22/04/25	3	Operario 1 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 1	4	0	0
21/04/25	22/04/25	4	Operario 1 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 1	7	0	0
21/04/25	22/04/25	5	Operario 2 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	15	0	0
21/04/25	22/04/25	6	Operario 2 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	40	0	0
21/04/25	22/04/25	7	Operario 2 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 1	15	0	0
21/04/25	22/04/25	8	Operario 2 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 1	15	0	0
21/04/25	22/04/25	9	Operario 3 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	0	0	0
21/04/25	22/04/25	10	Operario 3 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	4	0	0
21/04/25	22/04/25	11	Operario 3 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 1	0	0	0
21/04/25	22/04/25	12	Operario 3 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 1	1	0	0
21/04/25	22/04/25	13	Operario 4 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	3	0	0
21/04/25	22/04/25	14	Operario 4 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	3	0	0
21/04/25	22/04/25	15	Operario 4 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 1	2	0	0
21/04/25	22/04/25	16	Operario 4 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 1	0	0	0
21/04/25	22/04/25	17	Operario 5 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	20	0	0
21/04/25	22/04/25	18	Operario 5 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 1	20	0	0
21/04/25	22/04/25	19	Operario 5 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 1	20	0	0
21/04/25	22/04/25	20	Operario 5 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 1	50	0	0
21/04/25	22/04/25	21	Operario 1 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	22	Operario 1 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	11	0	0
21/04/25	22/04/25	23	Operario 1 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 2	12	0	0
21/04/25	22/04/25	24	Operario 1 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 2	20	0	0
21/04/25	22/04/25	25	Operario 2 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	7	0	0
21/04/25	22/04/25	26	Operario 2 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	4	0	0
21/04/25	22/04/25	27	Operario 2 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 2	3	0	0
21/04/25	22/04/25	28	Operario 2 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	29	Operario 3 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	30	Operario 3 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	1	0	0
21/04/25	22/04/25	31	Operario 3 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 2	0	0	0
21/04/25	22/04/25	32	Operario 3 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 2	2	0	0
21/04/25	22/04/25	33	Operario 4 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	34	Operario 4 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	35	Operario 4 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 2	0	0	0
21/04/25	22/04/25	36	Operario 4 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 2	20	0	0
21/04/25	22/04/25	37	Operario 5 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	7	0	0
21/04/25	22/04/25	38	Operario 5 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 2	7	0	0
21/04/25	22/04/25	39	Operario 5 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 2	10	0	0
21/04/25	22/04/25	40	Operario 5 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 2	5	0	0
21/04/25	22/04/25	41	Operario 1 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	10	0	0
21/04/25	22/04/25	42	Operario 1 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	8	0	0
21/04/25	22/04/25	43	Operario 1 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 3	5	0	0
21/04/25	22/04/25	44	Operario 1 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 3	15	0	0
21/04/25	22/04/25	45	Operario 2 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	1	0	0
21/04/25	22/04/25	46	Operario 2 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	0	0	0
21/04/25	22/04/25	47	Operario 2 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 3	0	0	0
21/04/25	22/04/25	48	Operario 2 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 3	7	0	0
21/04/25	22/04/25	49	Operario 3 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	10	0	0
21/04/25	22/04/25	50	Operario 3 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	40	0	0
21/04/25	22/04/25	51	Operario 3 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 3	1	0	0
21/04/25	22/04/25	52	Operario 3 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 3	0	0	0
21/04/25	22/04/25	53	Operario 4 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	10	0	0
21/04/25	22/04/25	54	Operario 4 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	30	0	0
21/04/25	22/04/25	55	Operario 4 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 3	3	0	0
21/04/25	22/04/25	56	Operario 4 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 3	15	0	0
21/04/25	22/04/25	57	Operario 5 / Bota derecha / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	5	0	0
21/04/25	22/04/25	58	Operario 5 / Bota izquierda / Antes de la desinfección / Tratamiento 3	1	0	0
21/04/25	22/04/25	59	Operario 5 / Bota derecha / Después de la desinfección / Tratamiento 3	1	0	0
21/04/25	22/04/25	60	Operario 5 / Bota izquierda / Después de la desinfección / Tratamiento 3	1	0	0

Legenda: B.T: (Bacterias totales), S (+): (Sacarosas positivas), S (-): (Sacarosas negativas)

Anexo 3. Toma de muestra (procedimiento de hisopado).



Anexo 4. Preparación de medios de cultivo.



Anexo 5. Procedimiento de diluciones seriadas.



Anexo 6. Procedimiento de siembra en placa por incorporación.



Anexo 7. Procedimiento de conteo de colonias bacterianas.



Anexo 8. Reporte de resultados microbiológicos.

REPORTE DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS								
N° DE MUESTRA	DESCRIPCIÓN	DÍAS DE TRATAMIENTO						
		21/04/2025	22/04/2025	23/04/2025	24/04/2025	25/04/2025	26/04/2025	27/04/2025
		BACTERIAS TOTALES						
UFC/m <sup>2</sup>								
1	Operario 1/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	4.2	6.0	4.8	42.0	36.0	4.8	6.0
2	Operario 1/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	1.2	2.4	18.0	42.0	36.0	9.0	6.0
3	Operario 1/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	2.4	4.8	60.0	48.0	48.0	12.0	7.2
4	Operario 1/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	4.2	4.8	48.0	36.0	54.0	24.0	18.0
5	Operario 2/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	9.0	12.0	9.0	24.0	18.0	30.0	48.0
6	Operario 2/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	24.0	25.2	15.0	18.0	30.0	18.0	36.0
7	Operario 2/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	9.0	10.2	18.0	18.0	24.0	12.0	40.8
8	Operario 2/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	9.0	9.6	24.0	30.0	27.0	9.0	30.0

9	Operario 3/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	0.0	0.6	6.0	12.0	34.8	3.6	12.0
10	Operario 3/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	0.6	0.6	8.4	1.2	45.6	9.0	9.0
11	Operario 3/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	0.0	0.6	18.0	12.0	24.0	30.0	16.8
12	Operario 3/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	0.6	0.6	24.0	12.0	27.0	46.8	10.8
13	Operario 4/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	1.8	2.4	18.0	3.0	18.0	6.0	11.4
14	Operario 4/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	1.8	2.4	15.0	0.0	9.0	5.4	10.2
15	Operario 4/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	1.2	1.8	18.0	24.0	18.0	24.0	4.8
16	Operario 4/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	0.0	0.0	18.0	18.0	21.0	15.6	6.0
17	Operario 5/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	12.0	13.2	9.0	1.2	16.8	18.0	4.2
18	Operario 5/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	12.0	12.6	6.0	1.2	9.0	1.2	5.4

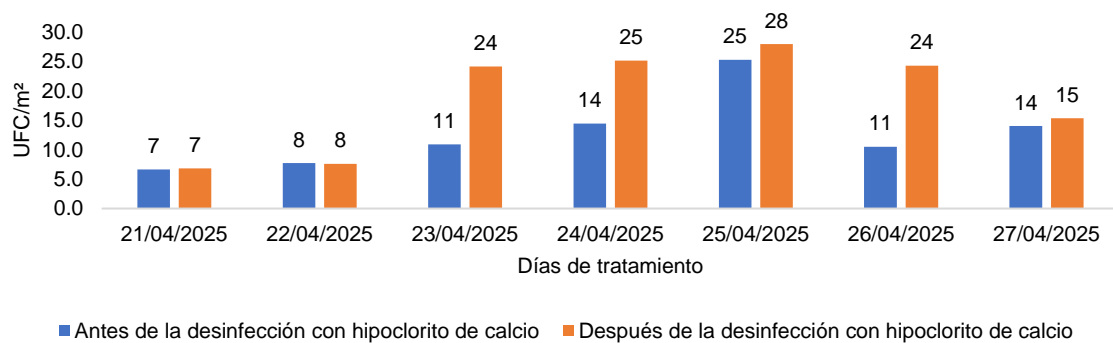
19	Operario 5/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	12.0	12.6	4.8	30.0	12.0	28.8	6.0
20	Operario 5/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 1 (Hipoclorito de calcio)	30.0	31.2	9.0	24.0	25.2	40.8	17.4
21	Operario 1/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	3.0	10.2	12.0	6.0	3.0	12.0	12.0
22	Operario 1/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	6.6	25.2	18.0	9.0	4.2	10.8	4.8
23	Operario 1/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	7.2	7.8	9.0	6.0	1.8	9.0	1.2
24	Operario 1/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	12.0	15.6	12.0	6.0	0.6	4.8	2.4
25	Operario 2/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	4.2	5.4	30.0	0.0	1.8	10.8	6.0
26	Operario 2/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	2.4	3.6	24.0	0.0	21.0	15.6	10.8
27	Operario 2/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	1.8	4.8	12.0	0.6	3.6	3.6	1.2
28	Operario 2/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP)	3.0	0.6	12.0	0.0	9.0	4.8	2.4

29	Operario 3/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	3.0	4.2	4.8	6.0	1.8	3.6	15.0
30	Operario 3/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	0.6	0.0	6.0	2.4	3.0	12.0	16.8
31	Operario 3/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	0.0	2.4	6.0	6.0	2.4	6.0	12.0
32	Operario 3/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	1.2	0.0	1.8	6.0	0.0	12.0	18.0
33	Operario 4/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	3.0	3.6	0.0	12.0	1.8	10.8	10.8
34	Operario 4/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	3.0	6.0	0.0	9.0	1.2	28.8	1.2
35	Operario 4/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	0.0	1.2	1.2	4.2	0.6	6.0	1.8
36	Operario 4/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	12.0	5.4	0.0	4.2	1.2	27.6	0.6
37	Operario 5/ Bota derecha/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	4.2	5.4	0.0	4.2	16.2	12.0	12.0
38	Operario 5/ Bota izquierda/ Antes de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	4.2	7.2	3.0	6.0	15.0	18.0	6.0

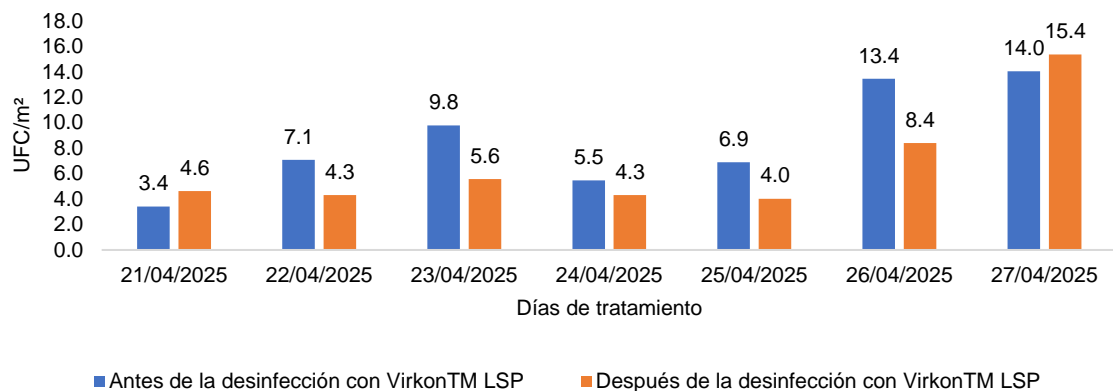
39	Operario 5/ Bota derecha/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	6.0	4.2	0.0	6.0	12.0	5.4	9.0
40	Operario 5/ Bota izquierda/ Después de la desinfección/ Tratamiento 2 (VirkonTM LSP )	3.0	1.2	1.8	4.2	9.0	4.8	22.2
41	Operario 1/ Bota derecha/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	6.0	24.0	9.0	4.2	9.0	12.0	21.0
42	Operario 1/ Bota izquierda/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	4.8	3.6	1.2	1.2	8.4	9.0	16.8
43	Operario 1/ Bota derecha/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	3.0	10.8	4.2	6.0	6.0	18.0	30.0
44	Operario 1/ Bota izquierda/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	9.0	1.2	6.0	2.4	3.0	12.0	22.8
45	Operario 2/ Bota derecha/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.6	4.8	9.0	9.0	9.0	22.2	4.2
46	Operario 2/ Bota izquierda/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.0	10.8	3.0	1.2	10.2	19.2	6.0
47	Operario 2/ Bota derecha/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.0	0.0	9.0	12.0	8.4	24.0	3.0
48	Operario 2/ Bota izquierda/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	4.2	0.0	12.0	0.6	9.0	36.0	12.0
49	Operario 3/ Bota derecha/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	6.0	25.2	4.8	3.6	24.0	48.0	24.0
50	Operario 3/ Bota izquierda/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	24.0	10.8	22.2	4.8	9.0	23.4	12.0
51	Operario 3/ Bota derecha/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.6	0.0	9.0	4.8	9.0	12.0	4.8

52	Operario 3/ Bota izquierda/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.0	7.2	18.0	1.8	10.2	15.0	5.4
53	Operario 4/ Bota derecha/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	6.0	22.8	18.0	18.0	21.0	10.8	24.0
54	Operario 4/ Bota izquierda/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	18.0	4.8	15.0	24.0	24.0	9.0	21.0
55	Operario 4/ Bota derecha/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	1.8	9.6	21.0	24.0	21.0	13.2	36.0
56	Operario 4/ Bota izquierda/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	9.0	3.6	15.0	12.0	25.2	10.2	22.2
57	Operario 5/ Bota derecha/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	3.0	0.6	9.0	30.0	36.0	9.6	6.0
58	Operario 5/ Bota izquierda/ Antes del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.6	0.6	6.0	24.0	18.0	9.0	5.4
59	Operario 5/ Bota derecha/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.6	0.0	18.0	48.0	22.8	13.2	4.2
60	Operario 5/ Bota izquierda/ Después del Agua/ Tratamiento 3 (Agua)	0.6	0.0	6.0	18.0	21.6	10.8	13.2

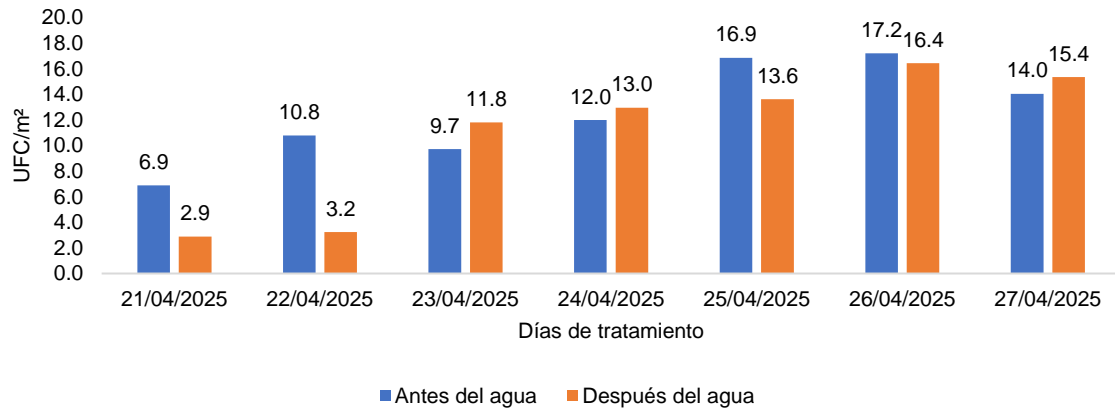
Anexo 9. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con hipoclorito de calcio.



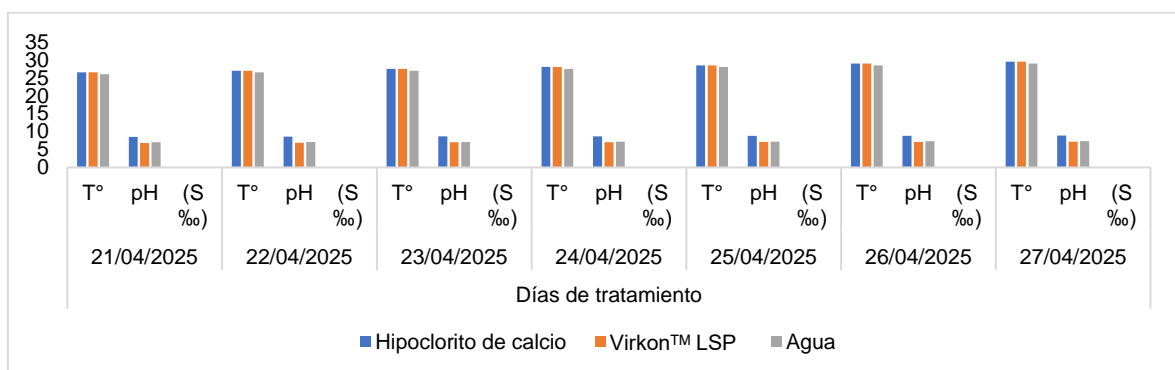
Anexo 10. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con Virkon™ LSP.



Anexo 11. Resultados promedio microbiológicos obtenidos de hisopados de botas sometidas al tratamiento con agua.



Anexo 12. Evolución de temperatura, pH y salinidad en pediluvios con hipoclorito de calcio, Virkon™ LSP y agua durante 7 días de ensayo en pediluvios.



Anexo 13. Prueba Z para medias de dos muestras (hipoclorito de calcio)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	12.91714286	18.8485714
Varianza (conocida)	138.36146	189.18787
Observaciones	35	35
Diferencia hipotética de las medias	0.01	
<b>Z</b>	<b>-1.942166885</b>	
P(Z<=z) una cola	0.02605845	
Valor crítico de z (una cola)	1.644853627	
<b>Valor crítico de z (dos colas)</b>	<b>0.052116901</b>	

Valor crítico de z (dos colas) 1.959963985

---

Anexo 14. Prueba Z para medias de dos muestras (Virkon™ LSP)

---

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	7.94571429	5.477143
Varianza (conocida)	39.342555	21.73946
Observaciones	35	35
Diferencia hipotética de las medias	0.01	
<b>z</b>	<b>1.86105911</b>	
P(Z<=z) una cola	0.03136791	
Valor crítico de z (una cola)	1.64485363	
<b>Valor crítico de z (dos colas)</b>	<b>0.06273583</b>	
Valor crítico de z (dos colas)	1.95996398	

---

Anexo 15. Prueba Z para medias de dos muestras (agua)

---

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	12.50571	10.90286
Varianza (conocida)	70.78114	81.59264
Observaciones	35	35
Diferencia hipotética de las medias	0.01	
<b>z</b>	<b>0.763406</b>	
P(Z<=z) una cola	0.222611	
Valor crítico de z (una cola)	1.644854	
<b>Valor crítico de z (dos colas)</b>	<b>0.445221</b>	
Valor crítico de z (dos colas)	1.959964	

---