

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS DEL MAR**

PROYECTO FIP N° 2008-66

**“DETERMINACION DE PATOGENOS DE IMPORTANCIA
EN LA SALMONICULTURA, EN CALIGUS Y MOLUSCOS
BIVALVOS”**

INFORME FINAL

Valparaíso, 2011

INFORME FINAL

**“DETERMINACION DE PATOGENOS DE
IMPORTANCIA EN LA
SALMONICULTURA, EN CALIGUS Y
MOLUSCOS BIVALVOS”
(FIP 2008-66)**

CONCURSO

FONDO DE INVESTIGACION PESQUERA
MINISTERIO DE ECONOMIA FOMENTO
Y RECONSTRUCCION
SUBSECRETARIA DE PESCA

UNIDAD EJECUTORA

Escuela de Ciencias del Mar
Facultad de Recursos Naturales
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

INVESTIGADOR RESPONSABLE

MARIEL CAMPALANS BARNIER

RESUMEN EJECUTIVO

Con el objeto de contribuir al conocimiento de la epidemiología de los patógenos de mayor interés en las zonas de producción de los salmones en Chile, se estudia el posible rol de vector del copépodo *Caligus rogercreseyii* y como reservorio de los mismos patógenos a los moluscos formadores de fouling. Para seleccionar los patógenos a estudiar, en primer lugar se realiza una revisión bibliográfica y consulta a laboratorios de diagnóstico estableciendo que los patógenos de mayor importancia para la salmonicultura, en estos momentos, serían el agente viral de la Anemia Infecciosa del Salmon (ISAv) y la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, un tercer patógeno seleccionado por su calidad de emergente estuvo representado por la *Neoparamoeba perurans*.

Se diseñó un muestreo para detectar los tres patógenos seleccionados a partir de muestras de Cáligus tanto en sus formas parasíticas en los peces como en estadios plantónicos en la columna de agua, y a partir de moluscos bivalvos desde el fouling de estructuras flotantes de un centro de cultivo y desde establecimientos de cultivo de *Mytilus chilensis* contiguos a los centros de salmones. Los centros de cultivo de salmones fueron seleccionados de 4 zonas de cultivo, estas zonas se establecieron luego de revisar Informes Técnicos elaborados por Sernapesca que registraban la situación del virus ISA en las regiones de cultivo del salmón desde el año 2007. Las zonas identificadas como de interés para el estudio corresponden a la Zona I (Calbuco), Zona II (Chiloé), Zona III (Aysén) y Zona IV (Magallanes).

En cada zona se seleccionó un máximo de 5 centros de cultivo de salmones. El criterio de selección de los centros fue estar declarados sospechoso o en brote respecto al virus ISA o ser positivo para *P. salmonis*. Se realizaron dos campañas de muestreo agosto-octubre 2009 y mayo-junio 2010. Para identificar los centros categorizados respecto a ISAv o positivos para *P. salmonis* en cada una de las zonas de interés, se contó con la colaboración de Sernapesca Nacional y Regional, siendo ésta última la entidad que autorizaba la entrada a los centros para realizar el muestreo.

De cada centro de salmones, se extrajo una muestra de moluscos bivalvos desde el fouling, se colectaron copépodos de los peces, se obtuvo muestras de plancton del

perímetro del centro y *M. chilensis* de los centros de cultivo del bivalvo, cuando éstos se encontraban a menos de 5 Km. del centro de salmones.

Para obtener las muestras de plancton en cada centro muestreado la red de plancton se caló tres veces en la zona frontal del tren de jaulas a una profundidad de 12 metros, recogiendo la red en forma oblicua a favor de la corriente. La muestra obtenida se dividió en dos partes, una para la identificación de patógenos y la segunda para determinar la composición de especies. Para obtener las muestras de copépodos parásitos se muestrearon dos jaulas, desde las cuales se extrajeron 15 peces para la obtención de los copépodos desde su piel, se formaron a lo mas 15 pooles de tres parásitos en microtubos que fueron analizados para detección de los patógenos en estudio.

Para la obtención de los moluscos desde el fouling de cabos y boyas, se desprendieron moluscos desde un área uniforme, empleando un cuadrante (50 x 50cm) en tres sectores del mismo centro de cultivo. Estos fueron dispuestos en recipientes refrigerados y transportados al laboratorio para su identificación y procesamiento. Se obtuvo 15 tubos conteniendo tejido blando de tres ejemplares por tubo y se analizaron para detección de los patógenos. Para obtener las muestras de *M. chilensis* desde centros de cultivo de Mtilidos se procedió de la misma forma, se obtuvo una muestra de 45 ejemplares que fueron procesados para obtención de tejido blando que se distribuyó en 15 tubos conteniendo tres ejemplares por tubo.

Durante la primera campaña de muestreo se tomaron muestras de diez centros de cultivo de salmones pertenecientes a tres de las cuatro Zonas identificadas (I, II y III) de los cuales ocho estaban en categoría de sospechosos de virus ISA y dos eran positivos para *P. salmonis*, se obtuvo además muestras desde dos centros de cultivo de mitilidos. En la segunda campaña de los diez centros muestreados, pertenecientes a tres de las cuatro Zonas identificadas (I, III y IV) cuatro se encontraban en doble categoría, es decir, sospechoso de virus ISA y positivos para *P. salmonis*, dos centros no presentaban patologías y tres eran positivos para *P. salmonis*. Se muestrearon también dos centros de cultivo de mitilidos.

Para evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y *P. salmonis*, se diseñó un estudio basado en muestreos de moluscos desde centros en descanso lo que permitiría evaluar en un período de tres meses la presencia de

los patógenos en estudio, no obstante, a raíz de la normativa de Sernapesca de eliminar todos los moluscos y cerrar el centro durante el periodo de descanso se diseñó una experiencia en laboratorio que permitiría simular el periodo de descanso. La experiencia se realizó obteniendo moluscos del fouling desde dos centros de cultivo de salmones, uno de ellos declarado sospechoso para virus ISA y positivo para *P. salmonis* proveniente de la Zona IV y un centro declarado positivo para *P. salmonis* y virus ISA cepa no virulenta (HPRO) proveniente de la Zona III. Los moluscos de la experiencia se dispusieron en 8 estanques con 100 moluscos cada uno, 4 estanques correspondieron al centro de la Zona III y los 4 restantes para los moluscos del centro de la Zona IV. Para evaluar su condición respecto a los patógenos, se analizaron muestras de tejido blando de dos individuos por estanque tres veces al día durante los 5 primeros días, luego a intervalos mayores hasta completar 2 semanas en la experiencia con la Zona IV y 66 días en la experiencia con la Zona III. En ambas experiencias se evaluó la presencia de *P. salmonis* y virus ISA en cada muestra de *M. chilensis* analizada.

Para la identificación de los patógenos de todas las muestras del estudio se emplearon técnicas moleculares para lo cual se extrajo el ADN y ARN total con el objeto de buscar material genético de los patógenos de interés utilizando partidores específicos según protocolos recomendados (OIE 2009 para ISA y OIE 2003 para *P. salmonis* y Young *et al.*, 2008 para la ameba *N. perurans*).

De las 48 muestras de plancton analizadas en el primer muestreo ninguna resultó ser positiva para ISAv, *P. salmonis* ni para *N. perurans*. En el segundo muestreo, las 10 muestras de plancton obtenidas fueron negativas para ISAv, detectándose *P. salmonis* en 3 muestras provenientes de la Zona I y en una muestra de la Zona III, ninguna resultó positiva para *N. perurans*. En el análisis de la composición del plancton no se detectaron estadios tempranos de Cáligns en ninguno de los dos muestreos.

De los 150 pooles de Cáligns analizados en el primer muestreo, se detecta presencia de ISAv en 17 pooles obtenidos en 2 centros de cultivo, ambos provenientes de la Zona II. En el caso de *P. salmonis* 5 pooles provenientes de dos centros de cultivo de la misma zona resultaron positivos para este patógeno. En el segundo muestreo de los 63 pooles de Cáligns analizados ninguno fue positivo para ISAv en ninguna de las zonas muestreadas, en

tanto que en el caso de *P. salmonis* 18 pooles resultaron positivos en la Zona I y 2 en la Zona III. En ninguna de las dos campañas de muestreo se detectó a la ameba *N. perurans* en las muestras de Cáligus analizadas.

En los moluscos provenientes del fouling en ninguno de los 150 pooles analizados del primer muestreo se detecta la presencia de ISAv ni de *P. salmonis*. En el segundo muestreo, de los 150 pooles analizados se detecta ISAv en 7 pooles provenientes de 2 centros de cultivo de la Zona III, y 75 pooles fueron positivos para *P. salmonis* provenientes de 5 centros de cultivo de la Zona I (Calbuco), 3 centros de la Zona III (Aysén) y 1 centro de la Zona IV (Magallanes). En ninguna de las dos campañas de muestreo se detectó a la ameba *N. perurans* en las muestras de fouling analizadas.

De los 2 centros de cultivo de moluscos del primer muestreo los 30 pooles analizados resultaron negativos para ISAv y *P. salmonis*. En cambio en el análisis de 30 pooles del segundo muestreo se detectan 25 positivos para *P. salmonis* y ninguno para ISAv. En ninguna de las dos campañas de muestreo se detectó *N. perurans* en las muestras de mitilidos analizadas.

En los resultados de la experiencia de simulación de periodo de descanso se detecta la presencia de ISAv sólo en el primer día de la experiencia con moluscos provenientes de la Zona IV, en tanto en los mismos moluscos, *P. salmonis* se detecta hasta el día 16 de la experiencia. En la experiencia de moluscos provenientes de la Zona III no se detecta virus ISA en ninguno de los individuos analizados, sin embargo se detecta la presencia de *P. salmonis* hasta el día 66 de la experiencia.

En relación con la vigilancia sanitaria de los patógenos en estudio éstos están incluidos en el Programa de Vigilancia Activa sobre los patógenos de alto riesgo (Lista 1 y Lista 2), aunque los programas específicos sólo incluyen el ISA virus y la Caligidosis, se considera que es necesario incluir una propuesta de detección temprana de *P. salmonis*. Se propone que los análisis para la identificación del patógeno deberían estar enfocados en los mitilidos del fouling ya que de acuerdo a los resultados de este estudio actuarían como reservorios manteniendo a los patógenos en el ambiente. Por lo anteriormente expuesto y en consideración a evitar un manejo extra a los peces se propone un programa de monitoreo para *P. salmonis* complementario a los monitoreos específicos existentes.

Finalmente en base a los resultados obtenidos en este estudio se puede señalar que:

Los copépodos parásitos de los salmónidos en la Región de los Lagos cumplirían una función de vector mecánico respecto al agente viral de ISA y al agente bacteriano *P. salmonis* en ambientes en donde se presentan dichos agentes y que el molusco bivalvo *Mytilus chilensis* estaría actuando como reservorio de *Piscirickettsia salmonis* en las regiones estudiadas manteniendo un foco dinámico y permanente de circulación del patógeno en dichos ambientes geográficos.

En relación a *Neoparamoeba perurans*, durante el año 2009 y 2010 no se encontraba presente en las muestras de Cáligus, bivalvos del fouling, ni plancton de los centros de salmones analizados. Tampoco se detectó en bivalvos provenientes de los centros de cultivo de mitilidos.

Se propone un programa de monitoreo preventivo para *P. salmonis* mediante el análisis de *M. chilensis* provenientes del fouling presentes en las estructuras de los centros de cultivo de salmones, basado en que estos organismos actuarían como reservorios del patógeno.

INDICE GENERAL

OBJETIVOS.....	15
1. ANTECEDENTES	16
1.1. Diseminación de las enfermedades en peces de cultivo	18
1.2. Enfermedades de Alto Riesgo en la Acuicultura.....	19
1.2.1. Enfermedades de Alto Riesgo en Chile.....	19
1.2.1.1. Anemia Infecciosa del Salmón (ISA).....	22
1.2.1.2. <i>Piscirickettsia salmonis</i> (SRS).....	27
1.3. Vectores o Reservorios de enfermedades de peces	29
1.3.1. Moluscos Bivalvos	29
1.3.2. Cáligus.....	30
1.4. Normativa Nacional e Internacional sobre enfermedades de Alto Riesgo y programas de muestreo.....	35
1.4.1. Políticas públicas para controlar los brotes	35
2. METODOLOGÍA.....	37
2.1. Objetivo 1: Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes como el virus ISA, <i>Piscirickettsia salmonis</i> u otros, en <i>Caligus</i> spp. y en moluscos bivalvos en zonas infectadas.....	37
2.1.1. Revisión y actualización de la información de patógenos relevantes para la salmonicultura.	37
2.1.2. Diseño de un programa de muestreo para la detección y cuantificación de los patógenos relevantes en <i>Caligus</i> spp. y moluscos bivalvos	37
2.1.2.1. Determinación de las Zonas de Muestreo.....	37
2.1.2.2. Determinación de campañas de muestreos.....	43
2.1.2.3. Selección de centros de cultivo a muestrear.....	43
2.1.2.4. Diseño de muestreos.....	45
2.1.2.5. Técnicas de Análisis de las muestras	48
2.1.2.6. Registro de parámetros ambientales de zonas infectadas.....	51
2.2. Objetivo 2: Relacionar epidemiológicamente los brotes de virus ISA y SRS en salmones, con la presencia de copépodos y moluscos bivalvos.	54
2.2.1. Revisión de información de Patógenos de salmónidos de la zona de estudio....	55
2.2.2. Análisis de la información ambiental obtenidas durante el estudio v/s prevalencia de ISA y <i>P. salmonis</i> en las diferentes zonas y origen de las muestras (<i>Caligus</i> /moluscos).....	55
2.3. Objetivo 3: Evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes, en la mantención del o de los patógenos en el ambiente y en la ocurrencia de enfermedades.	56
2.3.1. Realización del catastro de la presencia/ausencia de patógenos identificados como relevantes en zonas que históricamente han presentado brotes.	56
2.3.2. Diseño de las experiencias.....	58
2.3.2.1. Experimento 1	59
2.3.2.2. Experimento 2	59

2.3.2.3. Modelo de Regresión Logística.....	60
2.4. Objetivo 4: Formular un sistema de monitoreo preventivo que funcione como alerta sanitaria.....	61
2.4.1. Monitoreos activos	61
2.4.2. Propuesta de Vigilancia Sanitaria.....	62
3. RESULTADOS	63
3.1. Objetivo 1: Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes como el virus ISA, <i>Piscirickettsia salmonis</i> u otros, en <i>Caligus spp.</i> y en moluscos bivalvos en zonas infectadas.....	63
3.1.1. Revisión y actualización de la información de patógenos relevantes para la salmonicultura.	63
3.1.1.1. Proyectos FIP	63
3.1.1.2. Publicaciones Científicas	64
3.1.1.3. Revisión de la normativa nacional e internacional acerca de enfermedades de alto riesgo en la salmonicultura	72
3.1.2. Ejecución de campañas de muestreos para la detección y cuantificación de los patógenos relevantes en <i>Caligus spp.</i> y moluscos bivalvos.	76
3.1.2.1. Análisis de Cáligus.....	79
3.1.2.2. Análisis de Plancton	79
3.1.2.3. Análisis de Fouling.....	80
3.1.2.4. Centros de cultivo de moluscos.....	81
3.1.2.5. Registros satelitales de TSM y clorofila α	82
3.1.2.6. Mediciones estacionales <i>in situ</i> de las variables ambientales	84
3.2. Objetivo 2: Relacionar epidemiológicamente los brotes de virus ISA y otros patógenos relevantes en salmones con la presencia de copépodos y moluscos bivalvos.	94
3.2.1. Patógenos de salmónidos en la zona de estudio	94
3.2.1.1. Relación patógenos ambiente.....	96
3.2.2. Antecedentes ambientales en zonas de cultivo de salmones.	98
3.2.3. Análisis de la información ambiental obtenida durante el estudio v/s prevalencia de ISAv y <i>P. salmonis</i> en las diferentes zonas y origen de la muestra (Cáligus/moluscos).	101
3.2.3.1. Relación de la Prevalencia con parámetros ambientales.....	102
3.3. Objetivo 3: Evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes en la mantención de él o los patógenos en el ambiente y la ocurrencia de las enfermedades.	106
3.3.1. Experimento 1	106
3.3.2. Experimento 2	107
3.3.3. Modelo de Regresión Logística.....	109
3.4. Objetivo 4: Formular un sistema de monitoreo preventivo que funcione como alerta sanitaria.....	112
3.4.1. Monitoreos activos	112
3.4.2. Propuesta de Vigilancia Sanitaria para <i>P. salmonis</i>	119
3.4.2.1. Programa Monitoreo Preventivo	121

4.	TALLER DE DIFUSIÓN.....	125
4.1.	Objetivos y Programa.....	125
4.2.	Fecha y Lugar de realización.....	125
4.3.	Invitados y Participantes.....	125
4.4.	Resumen ejecutivo.....	127
5.	MANUSCRITO EN INGLÉS	131
6.	DISCUSIÓN.....	132
7.	CONCLUSION	141
8.	BIBLIOGRAFIA	142
	ANEXOS	162
	Anexo I: Carta Sernapesca:	163
	Anexo II: Listado Centro Moluscos	165
	Anexo III: Proyectos FIP	167
	Anexo IV: Publicaciones Científicas.....	171
	Anexo V: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco institucional)	192
	Anexo VI: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco Legal).....	199
	Anexo VII: Composición del Plancton (Columna de agua).....	203
	Anexo VIII: Imágenes satelitales de TSM y clorofila α	206
	Anexo IX: Programa Taller de Discusión	215
	Anexo X: Manuscrito en Inglés.....	218

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Evolución de la presentación de la enfermedad clínica de ISA entre julio 2007 y julio 2008, representada por el número de nuevos casos brote por mes (Fuente: Sernapesca, 2008).	24
Figura 2	Distribución de centros de cultivo de mar declarados como positivos al virus ISA según las diferentes categorías de clasificación a julio de 2008 (Fuente: Sernapesca, 2008).	25
Figura 3	Porcentaje de centros marinos detectados positivos al virus ISA por región (periodo julio 2007-julio 2008) (Fuente: Sernapesca, 2008).	25
Figura 4	Centros afectados por ISA a abril de 2009 (Fuente: Sernapesca, 2009)	26
Figura 5	Número de empresas afectadas en el país (Fuente: Sernapesca, 2009)	26
Figura 6	Abundancia promedio de Cáligus totales por quincenas, a nivel de zonas (agosto a noviembre de 2007) (Fuente: Sernapesca 2007).	33
Figura 7	Abundancia promedio de Cáligus totales por quincenas, a nivel de zonas (diciembre de 2007 a marzo de 2008). (Fuente: Sernapesca 2007).....	33
Figura 8	Mapa de Georreferenciación X Región, incluyendo las Zonas de vigilancia para ISA de Sernapesca 2009.	40
Figura 9	Mapa de georreferenciación XI Región, incluyendo las Zonas de vigilancia para ISA de Sernapesca 2009.	41
Figura 10	Mapa de georreferenciación centros de cultivos de salmones XII Región.	42
Figura 11	Detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Zona I, Región de Los Lagos Continental.	84
Figura 12	Detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Zona II, Región de Los Lagos Insular.	85
Figura 13	Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Los Lagos Continental (Zona I).	88
Figura 14	Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (Zona III).	89
Figura 15	Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Magallanes y la Antártica Chilena (Zona IV).	89
Figura 16	Temperatura superficial del mar en Puerto Montt y Puerto Chacabuco del año 2007 al 2010.	98
Figura 17	Centros positivos (+) y Brotes de ISAv versus temperatura superficial del mar en los diferentes meses del año 2007, 2008, 2009 y 2010 en la región de Los Lagos (Adaptado de exposición Taller FIP 2008-66 de Gallardo, 2010).	99
Figura 18	Cargas de Cáligus versus temperatura superficial del mar en los diferentes meses del año 2007, 2008, 2009 y 2010 (Adaptado de exposición Taller FIP 2008-66 de Gallardo, 2010).	100
Figura 19	Prevalencia (%) de ISAv y <i>P. salmonis</i> detectado en <i>Caligus spp.</i> Vs. Temperatura Superficial del Mar (TSM), por zona y fecha de muestreo.	103
Figura 20	Prevalencia (%) de ISAv y <i>P. salmonis</i> detectado en Moluscos de Fouling Vs. Temperatura Superficial del Mar (TSM), por zona y fecha de muestreo.	104
Figura 21	Prevalencias de virus ISA y <i>P. salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.	107

Figura 22	Prevalencias de virus ISA y <i>P.salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona III.....	109
Figura 23	Prevalencia (%) observada y estimada de <i>P. salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> ...	110
Figura 24	Prevalencia (%) observada y estimada de <i>P. salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> ...	110
Figura 25	Prevalencia (%) observada y estimada de virus ISA en <i>Mytilus chilensis</i> Zona IV.....	111
Figura 26	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Pocihue Alto, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	206
Figura 27	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Camahué, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	207
Figura 28	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Puqueldón, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	207
Figura 29	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Manao, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	208
Figura 30	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Loncochagua, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	209
Figura 31	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Quillaípe, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	209
Figura 32	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Francisco-Marisur, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.....	210
Figura 33	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Jacaf-Macetero, región de Aysén, 23- 28 de septiembre 2009.	210
Figura 34	Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) en zona de muestreo, Calbuco, región de Los Lagos, 2-9 junio del 2010.	211
Figura 35	Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Manao, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.	212
Figura 36	Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Puqueldón, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.	213
Figura 37	Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Quillaípe, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.....	213
Figura 38	Imagen satelital promedio mensual de clorofila α (sensor MODIS) en zona de muestreo, región de Los Lagos, junio del 2010.....	214

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Primer registro de enfermedades de Salmónidos, de importancia Económica..	16
Tabla 2	Listados de Enfermedades de Alto Riesgo de Chile.....	17
Tabla 3	Enfermedades de Alto Riesgo Lista 2 para salmones.....	20
Tabla 4	Distribución de los centros participantes en monitoreo 2009, por subzona y especie de cultivo.....	34
Tabla 5	Resumen de abundancia de diferentes estadios de desarrollo de <i>C. rogercresseyi</i> en especies cultivadas.....	35
Tabla 6	Número de centros de cultivos de salmones muestreados, por zona y sector para ambas campañas de muestreo.....	44
Tabla 7	Centros de cultivo de moluscos bivalvos muestreados, por zona y sector para ambas campañas de muestreo, X Región.....	45
Tabla 8	Técnicas de Análisis, por patógeno de interés.....	49
Tabla 9	Partidores específicos para ISAv y <i>P. salmonis</i>	49
Tabla 10	Protocolo de amplificación para virus ISA.....	50
Tabla 11	Protocolo de amplificación para <i>P. salmonis</i>	50
Tabla 12	Protocolo de amplificación para <i>Neoparamoeba perurans</i>	50
Tabla 13	Zonas que históricamente han presentado brotes de ISAv o SRS por Patógeno.....	56
Tabla 14	Buscadores de Revistas Científicas disponibles en la Biblioteca de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.....	64
Tabla 15	Resumen Primera Campaña de Muestreo.....	76
Tabla 16	Resumen Segunda Campaña de Muestreo.....	78
Tabla 17	Número de casos positivos para ISA y SRS en muestras de plancton, Cáligus y moluscos del fouling en las 3 zonas respecto del número de pooles en ambos muestreos.....	81
Tabla 18	Número de casos positivos de ISA y SRS en <i>Mytilus chilensis</i> de cultivo por zona durante el primer y segundo muestreo respecto del número pooles.....	82
Tabla 19	Temperatura promedio superficial del mar satelital y valores de clorofila α satelitales en la Primera campaña de muestreo entre agosto-septiembre 2009.....	83
Tabla 20	Temperatura promedio superficial del mar satelital y valores de clorofila α satelitales en la segunda campaña de muestreo en junio del 2010.....	83
Tabla 21	Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos Continental.....	85
Tabla 22	Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos Insular.....	87
Tabla 23	Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos.....	90
Tabla 24	Valores de variables oceanográficas en Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.....	92
Tabla 25	Valores de variables oceanográficas en Región de Magallanes y la Antártica Chilena.....	94
Tabla 26	Publicaciones internacionales sobre moluscos bivalvos como reservorios de agentes patógenos.....	95
Tabla 27	Prevalencia (%) de patógenos de interés en muestras de Plancton, Cáligus y Moluscos Bivalvos del fouling de las balsas jaulas, por sector de cada centro de cultivo de salmónidos.....	101

Tabla 28	Prevalencia (%) de Patógenos de Interés en muestras de <i>Mytilus chilensis</i> de cultivo en áreas cercanas a centros de salmones.	102
Tabla 29	Prevalencias de virus ISA y <i>P. salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.	106
Tabla 30	Prevalencias de virus ISA y <i>P. salmonis</i> en <i>Mytilus chilensis</i> provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.	108
Tabla 31	Coefficiente de Determinación (R ² de Nagelkerke) de los Modelos de Regresión logística para la Prevalencia de <i>P. salmonis</i>	110
Tabla 32	Coefficiente de Determinación (R ² de Nagelkerke) del Modelo de Regresión Logística para la Prevalencia de virus ISA. Zona III.	111
Tabla 33	Tabla comparación monitoreos activos para ISA, SRS y Cáligus, por programa o normativa e institución.	113
Tabla 34	Asistentes al Taller “Moluscos bivalvos y copépodos parásitos como posibles vectores de enfermedades de Alto Riesgo en salmones”.....	126
Tabla 35	Proyectos FIP relacionados con la temática del estudio.	167
Tabla 36	Publicaciones científicas revisadas relacionadas con la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv).	171
Tabla 37	Publicaciones científicas revisadas relacionadas con <i>Piscirickettsia salmonis</i>	178
Tabla 38	Publicaciones científicas revisadas relativas a <i>Caligus</i> spp.	180
Tabla 39	Publicaciones científicas revisadas relacionadas con amebas.	185
Tabla 40	Publicaciones relativas a enfermedades emergentes	189
Tabla 41	Análisis comparativo de la institucionalidad por países.	192
Tabla 42	Resumen comparación de institucionalidad, por organización.	197
Tabla 43	Análisis comparativo de la legislación, por países.	199
Tabla 44	Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona I, X Región.	203
Tabla 45	Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona II, X Región.	204
Tabla 46	Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona III, XI Región.	204
Tabla 47	Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector; Zonas I y III.	205

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la participación del parásito *Caligus spp* (*C. rogercressyi* y *C. teres*) y de moluscos bivalvos en la epidemiología de las enfermedades de alto riesgo en la salmonicultura.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes como el virus ISA, *Piscirickettsia salmonis* u otros en *Caligus spp* y en moluscos bivalvos en zonas infectadas.
2. Relacionar epidemiológicamente los brotes de virus ISA y otros patógenos relevantes en salmones con la presencia de copépodos y moluscos bivalvos.
3. Evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes en la mantención de él o los patógenos en el ambiente y la ocurrencia de las enfermedades.
4. Formular un sistema de monitoreo preventivo que funcione como alerta sanitaria.

1. ANTECEDENTES

El Sector Pesquero chileno es un importante generador de empleos directos e indirectos en el país, constituyéndose en el tercer generador de divisas para la nación. Dentro de éste, la acuicultura ha desempeñado un rol cada vez más importante, siendo la producción de salmones en cautiverio el principal producto de cultivo, el cual ha presentado un crecimiento sostenido en las últimas décadas.

Uno de los principales problemas que presenta en la actualidad esta industria, es la aparición de agentes patógenos que causan grandes pérdidas en la producción. En la Tabla 1 se detallan los registros de enfermedades de importancia económica producidas en salmónidos en nuestro país.

Tabla 1 Primer registro de enfermedades de Salmónidos, de importancia Económica.

Año de Aparición	ENFERMEDAD	Autor y año de la publicación
1970	Enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD). Causada por la bacteria <i>Renibacterium salmoninarum</i> .	Wood, 1970
1984	Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN).	Mc Allister & Reyes, 1984
1989	Septicemia rickettsial de salmones (SRS) Provocada por la bacteria <i>Piscirickettsia salmonis</i>	Bravo & Campos, 1989
1992	Enfermedad Entérica de la Boca Roja (ERMD) Provocada por la bacteria <i>Yersinia ruckeri</i> .	Toledo <i>et al.</i> , 1992
1993	Síndrome del Alevín de la Trucha Arcoiris Provocada por la bacteria <i>Flavobacter psychrophilus</i>	Bustos <i>et al.</i> , 1995
1995	Microsporidiosis Causada por el microsporidio <i>Nucleospora salmonis</i>	Bravo, 1996
1995	Furunculosis atípica. Causada por <i>Aeromonas salmonicida</i> atípica	Bravo, 2000
2000	Mixosporidiosis Provocada por <i>Kudoa thyrsites</i>	Chacko <i>et al.</i> , 2001
2001	Anemia Infecciosa del Salmón Provocada por <i>Orthomyxovirus</i> Virus ISA	Kibenge <i>et al.</i> , 2001

(Fuente: FIP 2001-09)

Como una manera de evitar la aparición y propagación de patógenos, las empresas asociadas han ido mejorando paulatinamente la condición sanitaria de los cultivos, adoptando buenas prácticas de manejo. El Estado, por su parte, también ha trabajado en establecer normas que se ajusten a la dinámica que ha experimentado esta industria, promulgando la Ley General de Pesca y Acuicultura, que en su artículo 86 señala que

deberán reglamentarse las medidas de protección y control para evitar la introducción de enfermedades de alto riesgo, aislar su presencia en caso de que éstas ocurran, evitar su propagación y propender a su erradicación, identificando las patologías que se clasifican de alto riesgo.

Basado en esta norma, se decretó el Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación de Enfermedades de Alto Resgo para las especies hidrobiológicas (D.S. N°319 de 2001) y las medidas técnicas emanadas de este reglamento se establecen a través de programas sanitarios generales y específicos, que elabora el Servicio Nacional de Pesca, previo Informe Técnico del Comité Técnico. El citado reglamento establece Enfermedades de Alto Riesgo en dos categorías, Lista 1 y Lista 2, de acuerdo a su virulencia, prevalencia, nivel de diseminación o impacto económico para el país; estos listados son modificados anualmente por la Subsecretaría de Pesca (Tabla 2).

Tabla 2 Listados de Enfermedades de Alto Riesgo de Chile.

LISTA 1 DE PECES	
Enfermedad	Agente causal
Necrosis Hematopoyética Epizoótica	Virus de la necrosis Hematopoyética Epizoótica
Necrosis Hematopoyética Infecciosa	Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa
Herpesvirosis del Salmón Masou	Virus del <i>Oncorhynchus masou</i> (Herpesvirus tipo II)
Septicemia Hemorrágica Viral	Virus de Septicemia Hemorrágica Viral
Viremia Primavera de la Carpa	Virus de la Viremia Primavera de la Carpa
Encefalopatía y retinopatía virales	Virus de la Necrosis nerviosa viral
Virosis del Bagre del Canal	Herpesvirus de Ictaluridae Tipo I
Septicemia Entérica del Bagre	<i>Edwardsiella ictaluri</i>
Iridovirosis del Esturión Blanco	Iridovirus del Esturión Blanco
Furunculosis	<i>Aeromonas salmonicida</i> subespecie <i>salmonicida</i>
Síndrome ulcerante epizoótico	<i>Aphanomyces invadans</i> , <i>A. piscicida</i> , <i>A. Invaderis</i>
Girodactilosis	<i>Gyrodactylus salaris</i>
Iridovirosis de la Dorada japonesa	Iridovirus de la Dorada japonesa
Enfermedad del páncreas	Virus de la enfermedad del páncreas de la familia Togaviridae
LISTA 2 DE PECES	
Enfermedad	Agente causal
Anemia Infecciosa del Salmón (ISA)	<i>Orthomyxovirus</i> Virus ISA
Necrosis pancreática infecciosa	Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa
Piscirickettsiosis	<i>Piscirickettsia salmonis</i>
Renibacteriosis	<i>Renibacterium salmoninarum</i>
Streptococosis	<i>Streptococcus phocae</i>
Síndrome Ictérico	<i>Mycobacterium sp.</i>
Furunculosis atípica	<i>Aeromonas salmonicida</i> atípica

LISTA 1 DE PECES	
Enfermedad	Agente causal
Vibriosis	<i>Vibrio ordalii</i>
Caligidosis	<i>Caligus rogercresseyi</i>
Enfermedad ameboide branquial	<i>Neoparamoeba perurans</i>

Fuente: www.sernapesca.cl (2007)

1.1. Diseminación de las enfermedades en peces de cultivo

De acuerdo a lo establecido por Mortensen (2000), el riesgo de transferencia de patógenos desde un centro de cultivo depende, en gran medida, del tipo de sistema utilizado, los cuales incluyen:

- i) Sistemas semi-cerrados o recirculación: representan un potencial menor de riesgo de transferencia de enfermedades debido a que se puede tratar el agua y restringir el acceso de portadores intermediarios.
- ii) Balsas jaulas: representan un potencial de riesgo mucho más alto en la transferencia de enfermedades, debido a que no existe ninguna barrera impermeable entre el cultivo y el ambiente acuático. Debido a que están abiertos al medio, estos sistemas pueden diseminar patógenos fácilmente entre las especies en cultivo y las especies silvestres, y viceversa.

El conocimiento del proceso de transmisión de los agentes patógenos resulta crítico para la acuicultura y el manejo de recursos naturales, por lo que, es necesario abordar interrogantes sobre la diseminación de enfermedades durante el proceso de establecimiento de distancias seguras entre sitios de cultivo, establecer modelos para la protección de peces silvestres y poblaciones de moluscos. Las enfermedades en poblaciones silvestres y de cultivo normalmente conducen al establecimiento de restricciones en el movimiento de peces, moluscos y otros materiales. Sin embargo, los agentes patógenos pueden diseminarse a través de los cuerpos de agua, peces portadores silvestres o vectores, por lo que las restricciones impuestas no permiten asegurar el total control de la diseminación de una enfermedad a través de estas vías (Mortensen, 2000, Mortensen *et al.*, 2006).

El alto índice de mezcla que se produce en las aguas, junto con la proximidad de los centros de cultivos, pueden provocar una relación epidemiológica entre ellos. Los estudios

hidrográficos han demostrado que las fuertes corrientes pueden por si solas provocar el intercambio de aguas, intercambiando además potenciales patógenos entre hasta 7 centros de cultivo dentro de un solo ciclo de marea en una región determinada (Chang *et al.*, 2005).

1.2. Enfermedades de Alto Riesgo en la Acuicultura

Mientras que la acuicultura en sí no necesariamente provoca enfermedades, las condiciones de alta densidad observadas en las instalaciones acuícolas pueden provocar el brote de enfermedades, que también se pueden presentar en bajos niveles en las poblaciones naturales (Murray & Peeler, 2005).

Diversos agentes de enfermedades han sido descritos en la literatura; sin embargo, sólo algunos de ellos causan impactos serios en la producción siendo difíciles de erradicar, los que en la literatura se denominan como patógenos primarios, de alto riesgo o de declaración obligada.

1.2.1. Enfermedades de Alto Riesgo en Chile

En nuestro país existen diez enfermedades que se encuentran incluidas en la lista 2 de enfermedades de alto riesgo para salmones, es decir, que se encuentran presentes en el territorio nacional, las cuales se encuentran detalladas en la Tabla 3, incluyendo su agente causal y signos clínicos.

De estas enfermedades, la Anemia Infecciosa y SRS revisten la mayor importancia para la industria del salmón en Chile, debido a que causan grandes pérdidas en peces en engorda (Sernapesca, 2007).

Tabla 3 Enfermedades de Alto Riesgo Lista 2 para salmones.

Nombre	Agente causal	Signos clínicos	Especie susceptible	Referencias
Renibacteriosis	<i>Renibacterium salmoninarum</i>	Letargia; oscurecimiento de la piel; distensión abdominal por ascitis; branquias pálidas asociadas con anemia; exoftalmos; hemorragias perianales; y cavidades quísticas en el músculo esquelético.	Especies del salmón del Pacífico del género <i>Oncorhynchus</i>	Evenden <i>et al.</i> , 1993; Fryer & Lannan., 1993; Bandin <i>et al.</i> , 1993; Gutemberger <i>et al.</i> , 1997.
Streptococosis	<i>Streptococcus phocae</i>	Hemorragias en la piel, generalmente alrededor del ano. Hemorragia interna en los órganos y músculos.	Restringida al Salmón Atlántico	Grizes <i>et al.</i> , 2004
Vibriosis	<i>Vibrio ordalii</i>	Lesiones en la piel, úlceras hemorrágicas, mortalidad. Los signos internos incluyen pericarditis, peritonitis y septicemia sistémica	Restringida al Salmón Atlántico	Colquhoun <i>et al.</i> , 2004; Bohle <i>et al.</i> , 2007.
Necrosis Pancreática Infecciosa	Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa	Necrosis en los tejidos hematopoyéticos, con anemia y leucopenia asociada y necrosis en el vaso, hígado, páncreas y tracto digestivo.	Salmón del Pacífico, Salmón Atlántico y trucha arcoiris	Bootland & Leong, 1999.
Síndrome Ictérico	<i>Mycobacterium</i> sp.	Ictericia, descamación, branquias pálidas y aletas hemorrágicas, internamente ascitis amarillenta, hígado pálido con aspecto moteado, renomegalia leve, esplenomegalia y musculatura amarillenta. necrosis hepática multifocal confluyente, hepatitis periportal multifocal, congestión	Salmón Coho	Velásquez, 2003

Nombre	Agente causal	Signos clínicos	Especie susceptible	Referencias
		esplénica severa con hemosiderosis, glomerulonefritis crónica severa y nefritis difusa con focos de necrosis, epi y miocarditis moderada, atrofia y degeneración muscular.		
Furunculosis atípica	<i>Aeromonas salmonicida</i> atípica	Hemorragias en la musculatura e hinchazón subcutánea. Sin tratamiento, los peces afectados suelen morir generalmente en el plazo de dos o tres días.	Salmón Atlántico	Strom M., 1990.
Caligidosis	<i>Caligus rogercresseyi</i>	Heridas en la piel, estrés, disminución del apetito y mayor susceptibilidad a adquirir infecciones secundarias, ya sea bacterianas o virales.	Especies salmonídeas	Sernapesca, 2008
Enfermedad ameboide branquial	<i>Neoparamoeba perurans</i>	Letargia, distrés respiratorio, anorexia, y muerte. A la inspección visual de branquias éstas se observan pálidas y hemorrágicas, con zonas blancas focalizadas de tipo mucosas (White mucous patches). En las laminillas branquiales, lesiones multifocales y aumento de mucosidad.	Salmón Atlántico	Kent, <i>et al.</i> , 1988; Sandoval, C., 2008.
Anemia Infecciosa del Salmón	Virus ISA	Los peces con ISA parecen letárgicos y pueden mantenerse próximos a las paredes de las jaulas. Los síntomas externos más característicos son branquias pálidas (excepto en casos con	Salmón Atlántico	OIE, 2009

Nombre	Agente causal	Signos clínicos	Especie susceptible	Referencias
		estancamiento sanguíneo en las branquias), exoftalmos, abdomen dilatado, petequias en la cámara ocular, a veces hemorragias epidérmicas especialmente en el abdomen, y edema de las escamas.		
SRS	<i>Piscirickettsia salmonis</i>	Los peces gravemente afectados tienen color oscuro y muestran anorexia y letargo. Generalmente, nadan cerca de la superficie o de los bordes de las jaulas. Lesiones en la piel de algunos peces, como pequeños parches blancos que pueden convertirse en úlceras superficiales.	Salmón plateado (<i>Oncorhynchus kisutch</i>), salmón real (<i>O. tshawytscha</i>), e salmón japonés (<i>O. masou</i>), trucha arco iris (<i>O. mykiss</i>), salmón rosado (<i>O. gorbuscha</i>) y salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>).	OIE, 2003

1.2.1.1. Anemia Infecciosa del Salmón (ISA).

El virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) fue diagnosticado por primera vez en 1984 en Noruega en el salmón Atlántico (Thorud & Djupvik, 1988). Posteriormente, fue diagnosticado en Canadá (Byrne *et al.*, 1998, Mullins *et al.*, 1998, Lovely *et al.*, 1999; OIE, 2006), Estados Unidos (Bouchard *et al.*, 2001), Escocia (Rodger *et al.*, 1998), Islas Faroe (OIE, 2000; Schyth *et al.*, 2003) y Chile (Kibenge *et al.*, 2001).

El ISAV, es un orthomyxovirus perteneciente al género *Isavirus*, virus RNA envuelto de la familia Orthomyxoviridae (Workenhe *et al.*, 2008), el cual presenta sus máximos niveles de réplica a 15°C, mientras que a temperatura igual o mayor a 25°C no se produce réplica (Falk *et al.*, 1997).

Los mecanismos de transmisión de ISA en ambientes marinos están dados mayormente a través de partículas virales presentes en mucus, heces o material biológico contaminado de los peces, o por contacto directo entre peces susceptibles e infectados.

Además, se ha establecido que la transmisión del virus también ocurre por desechos derivados de las actividades de cosecha, sean éstas realizadas en mar o en plantas de proceso, cuando no existe tratamiento de los efluentes o por el uso compartido de equipamientos y materiales entre centros de cultivo o entre jaulas con distinto estatus sanitario, sin mediar procedimientos de desinfección capaces de eliminar el virus (Vagsholm *et al.* 1994; Rolland y Nylund, 1998; USDA, 2002). Otra vía de transmisión de ISA, la cual puede explicar la diseminación a través de largas distancias, está relacionada con el transporte de peces vivos, donde los wellboats juegan un rol crítico (Murray *et al.*, 2002).

Un estudio experimental realizado por Melville y Griffiths (1999) propone la ausencia de transmisión vertical del virus ISA. Sin embargo, nuevas evidencias aportadas por Nylund *et al.*, (2007) sugieren la posibilidad de algún tipo de transmisión transgeneracional, que explicaría la recurrencia de brotes y la circulación de ciertos aislados virales dentro de Noruega.

En relación a las especies susceptibles, es posible afirmar que la única especie donde el virus ISA se presenta en forma natural es en el salmón Atlántico (Glover *et al.*, 2006); sin embargo, se ha demostrado que se puede replicar en diversas especies sin que la enfermedad se manifieste. Estas especies adquieren gran importancia debido a que pueden participar en el transporte o actuar como reservorios del virus. La susceptibilidad del salmón Atlántico a la infección por virus ISA experimenta un marcado aumento durante el proceso de smoltificación (Glover *et al.*, 2006), aunque se ha demostrado que podría existir una variación significativa en la susceptibilidad al virus entre las especies de salmón Atlántico (Gjøen *et al.*, 1997) y trucha arcoiris (Biancchesi *et al.*, 2007). Además, se ha descrito la variación estacional y se ha demostrado que los peces de cultivo son más susceptibles que los peces silvestres (Nylund *et al.*, 1995).

1.2.1.1.1. Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) en Chile en Centros de Mar

El primer brote de la enfermedad se reportó oficialmente el 25 de julio del 2007 en centros de mar (Sernapesca, 2008). Posteriormente, se observó la evolución de la curva

epidémica de la enfermedad, la cual mostró un aumento en los primeros meses, descendiendo en primavera y aumentando en los meses de verano. Por otro lado, durante los meses de otoño de 2008, la curva mostró una disminución, presentando una tendencia al alza en los meses de junio y julio. La Figura 1 muestra la curva epidémica sobre la incidencia de nuevos centros declarados brote por mes desde el inicio de la enfermedad.

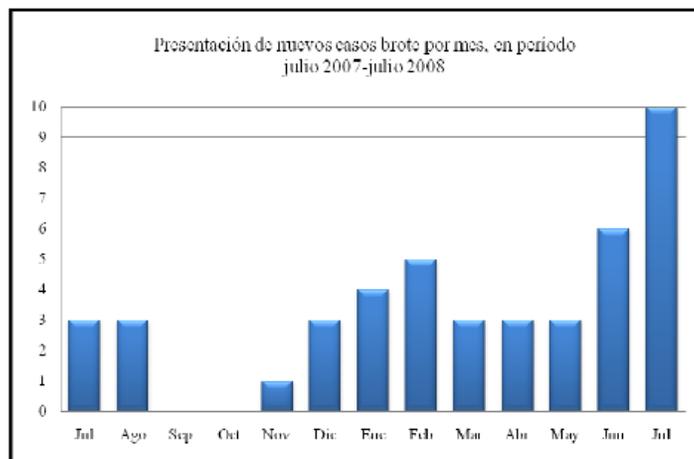


Figura 1 Evolución de la presentación de la enfermedad clínica de ISA entre julio 2007 y julio 2008, representada por el número de nuevos casos brote por mes (Fuente: Sernapesca, 2008).

Durante ese periodo, y en relación a los centros de cultivo sospechosos, 36 centros (54,55%) evolucionaron a brote, otros 9 fueron eliminados o cosechados y para julio de 2008 había 21 centros sospechosos poblados y por ende en riesgo de brote (Sernapesca, 2008).

La Figura 2 muestra la distribución a julio de 2008, según la condición de los centros que han resultado positivos al virus ISA.

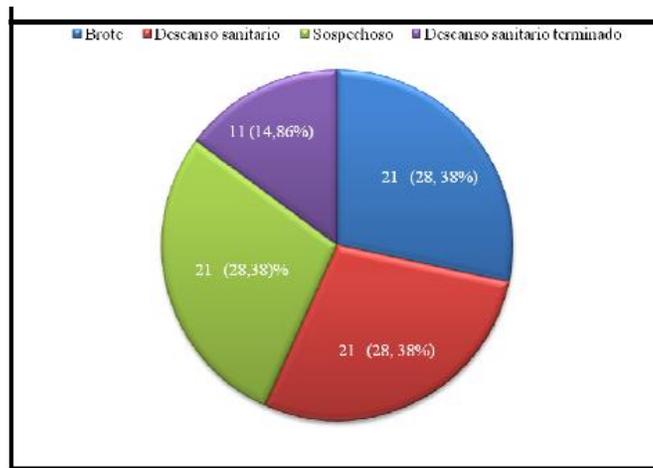


Figura 2 Distribución de centros de cultivo de mar declarados como positivos al virus ISA según las diferentes categorías de clasificación a julio de 2008 (Fuente: Sernapesca, 2008).

Del total de centros de mar detectados como positivos al virus ISA (brote o sospechoso) en julio de 2008, un 89% (66 centros) se ubicaban en la X región y un 11% (8 centros) en la XI región (Figura 3).

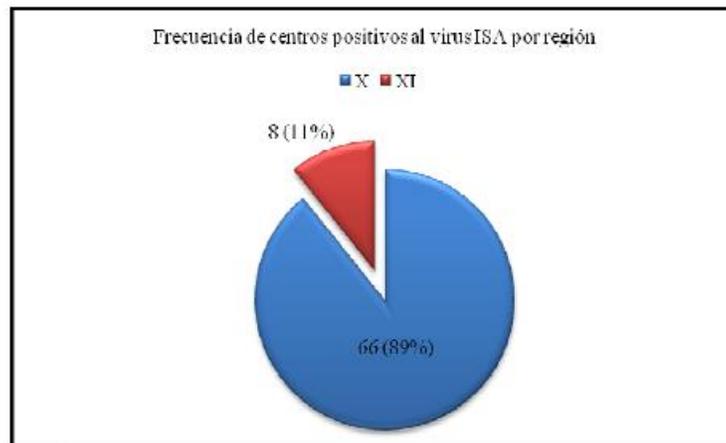


Figura 3 Porcentaje de centros marinos detectados positivos al virus ISA por región (periodo julio 2007-julio 2008) (Fuente: Sernapesca, 2008).

Según el informe del primer semestre de 2009 de Multiexport Seafood, el cual considera las estadísticas de Sernapesca acumuladas hasta el 24 de abril de 2009, se produjo un aumento de centros positivos a ISA desde la primera detección en el año 2007

(213 centros), con una importante disminución de la tasa de aparición de nuevos casos a partir de febrero de 2009 (Figuras 4 y 5) (www.multiexportfood.com).

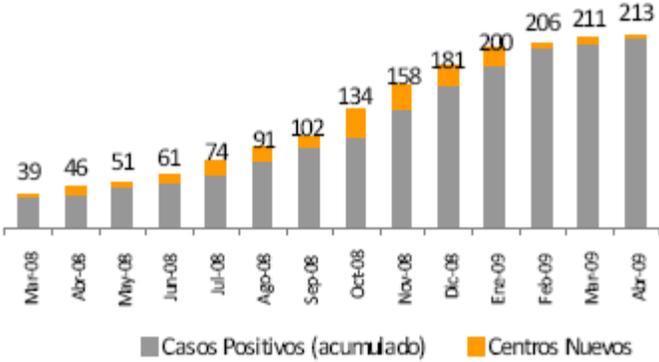


Figura 4 Centros afectados por ISA a abril de 2009 (Fuente: Sernapesca, 2009)

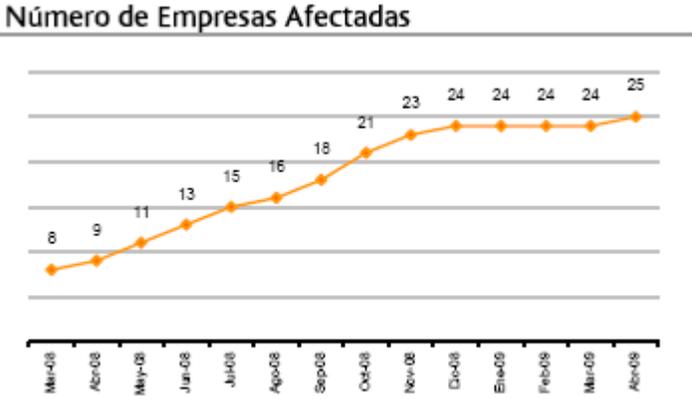


Figura 5 Número de empresas afectadas en el país (Fuente: Sernapesca, 2009)

Según la cuenta pública de Sernapesca de noviembre de 2009 a la fecha se han producido brotes en 141 centros de cultivo de salmónidos, e incluyendo a éstos, un total de 228 centros han tenido detección del virus, siendo el mes de enero del 2009 el de mayor prevalencia de la enfermedad, es decir el de mayor tasa de centros afectados en relación a aquellos que estaban poblados con la especie susceptible (salmón atlántico), llegando la prevalencia de centros positivos en ese mes a un 45% (Sernapesca, 2009).

Considerando este complejo escenario originado por la crisis sanitaria del salmón, Sernapesca implementó una estrategia institucional focalizada en las cuatro etapas de la cadena productiva:

- Producción y/o importación de ovas.
- Fase de agua dulce.
- Fase de agua de mar.
- Cosecha.

El principal objetivo de esta estrategia fue mejorar los sistemas de vigilancia sanitaria para evitar el ingreso de nuevas enfermedades, incrementando sustancialmente las exigencias para el ingreso de ovas al país. Esta estrategia comprendió por primera vez el lanzamiento de un programa dirigido a la pesquisa de agentes infecciosos en animales silvestres, lo que sumado a la vigilancia activa en especies en cultivo, permite contar con un mecanismo de alerta temprana, frente a la aparición de enfermedades de alto riesgo sanitario. Además incluyó el desarrollo de nuevas y rigurosas medidas de control destinadas a la contención del brote de ISA y de otras enfermedades, como Cáligus (Sernapesca, 2009). Respecto a este último se implementó un programa de vigilancia y control al que están incorporados todos los centros de cultivo de salmónidos marinos, el que ha servido para desarrollar un control efectivo de este copépodo, y permitir la mantención de las cargas parasitarias controladas en todas las áreas de cultivo (Sernapesca, 2009).

1.2.1.2. *Piscirickettsia salmonis* (SRS)

No está claro desde cuando se presentan las infecciones por organismos tipo rickettsiales en los peces. Según la revisión de Fryer & Lannan (1994), con anterioridad a la aislación y caracterización del patógeno *P. salmonis* en Chile, existían pocos reportes de organismos tipo rickettsiales. Estos autores mencionan el trabajo de Wolf (1981) que cita el hallazgo realizado por Mohamed en 1939, de un cocoide tipo rickettsial en monocitos y plasma de un pez Tetraodontidae en Egipto y posteriormente el reporte realizado por Ozel y Schwanz-Pfitzner en 1975 (citado por Fryer & Lannan, 1994) sobre un agente tipo

rickettsial de forma cilíndrica detectado en tejidos de Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) provenientes de agua dulce en Europa, el cual fue aislado y pasado a cultivo celular, aunque sólo fue caracterizado mediante descripción morfológica y no fue mantenido para posteriores estudios.

Después que se caracterizó al patógeno *P. salmonis* que causó altas pérdidas a la industria del salmón en Chile (Fryer *et al.*, 1990; Cvitanich *et al.*, 1991), algunos agentes morfológicamente similares fueron detectados en peces salmónidos alrededor del mundo (Fryer & Lannan, 1994). En Canadá Brocklenbank *et al.* 1993, reportan a un agente tipo Rickettsia involucrado en mortalidades de *Salmo salar* de cultivo, concluyendo que el agente rickettsial fue similar *P. salmonis*. que afectó a los cultivos de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) en Chile. En Irlanda Rodger & Drinan (1993) informan de hallazgos histopatológicos y clínicos en *S. salar* afectados con mortalidades leves, provocados por un agente tipo rickettsia que son similares a la patología causada por *P. salmonis* en salmón coho en Chile. En Noruega Olsen *et al.*, (1997) asocia la causa de bajas mortalidades en salmón del Atlántico (*S. salar*) detectada entre los años 1988 y 1992 al agente *P. salmonis*.

Los agentes rickettsiales también han sido asociados con síndrome de enfermedades en otras especies no salmónidos como la tilapia del nilo cultivada en Taiwan *Oreochromis niloticus.*, las tilapias hawaianas *Oreochromis mossambicus* y *Sarotherodon melanotheron* y la tilapia cultivada en California y Florida en EEUU *Oreochromis sp* (Cheng *et al.*, 1994, Mauel *et al.*, 2003, 2005), en corvina blanca *Atractoscion nobilis* de California (Chen *et al.*, 2000) en la lubina del mediterráneo *Dicentrarchus labrax* (McCarthy *et al.*, 2005).

1.2.1.2.1. La infección en Chile

En 1989, un gran número de empresas se vieron afectadas por altas mortalidades en salmones Coho cultivados en balsas jaulas, las cuales fueron provocadas por una condición infecciosa desconocida hasta ese momento, la cual no había sido diagnosticada a nivel mundial (Bravo y Campos., 1989, Alvarado *et al.*, 1990; Cubillos *et al.*, 1990; Cvitanich *et*

al., 1990; Gárate, 1990; Schäfer *et al.*, 1990), lo que hacía suponer que esta enfermedad tenía su origen en Chile (Fryer *et al.*, 1990).

En Chile, *Piscirickettsia salmonis* fue aislada y caracterizada por primera vez en 1989, en salmones de cultivo afectados por altas mortalidades (Fryer *et al.* 1990; Cvitanich *et al.*, 1991).

Geográficamente, esta afección se presentó por primera vez en la zona del Canal Huito y, posteriormente, se extendió al Canal Caicaén, ambos ubicados en la Comuna de Calbuco, X región. Posteriormente, esta patología se propagó a casi la totalidad de los centros de cultivo de salmónidos en fase de agua de mar de la X región (Alvarado *et al.*, 1990; Fryer *et al.*, 1990).

1.3. Vectores o Reservorios de enfermedades de peces

1.3.1. Moluscos Bivalvos

El agua actúa tanto como medio de dilución como de transporte y el destino de los agentes patógenos vertidos al agua depende de una serie de factores, como por ejemplo la dilución, inactivación por rayos UV u otros factores físicos y químicos, enlace y absorción de partículas en organismos filtradores o plancton (Noble & Fuhrman 1997, Sinton *et al.* 2002, Wilhelm *et al.* 2003).

Si los moluscos filtradores, por ejemplo, atrapan agentes patógenos, es posible que actúen como vectores o reservorios; en la mayoría de los casos, este tipo de mecanismo de difusión puede ser considerado como un mecanismo pasivo, debido a que los agentes patógenos son atrapados, ingeridos y hasta acumulados a través de la absorción normal de alimento realizada por las especies filtradoras.

Los virus no constituyen un alimento natural de los bivalvos; sin embargo, se ha demostrado que pueden permanecer atrapados en los filamentos del mucus durante el proceso de alimentación (Di Girolamo *et al.*, 1977), situación que los coloca como vectores mecánicos si son trasladados a otras zonas.

Además, existen estudios que indican que los moluscos bivalvos bioacumulan microbios durante la filtración y está bien establecido que la bioacumulación de patógenos

virales y bacterianos humanos pueden provocar enfermedades transmitidas por alimentos (Girones *et al.*, 2007). Evidencia de lo anterior, es que se ha logrado aislar patógenos de peces en bivalvos, por lo que se pueden considerar como vectores potenciales. Sin embargo, debido a que no existen pruebas suficientes que indiquen la multiplicación de los agentes infecciosos en bivalvos, es probable que éstos sólo actúen como vectores mecánicos de los patógenos de peces.

No obstante, Starliper (2001) demostró que las *Aeromonas salmonicida* pueden ser fácilmente transmitidas desde la trucha *Salvelinus alpinus* al bivalvo de agua dulce *Amblema plicata* y viceversa, por simple cohabitación. Sin embargo, otro estudio indicó que este efecto puede ser transitorio, debido a que la eliminación de la fuente de infección en *Fusconaia ebena* evita la transmisión del patógeno a trucha *Salvelinus fontinalis* luego de 15 días de depuración (Starliper, 2005).

Respecto a los virus de peces, se ha realizado aislamientos del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) en pectínidos de cultivo (*Pecten maximus*) (Mortensen, 1993) y considerando que este virus es bastante resistente, tiene muchas más probabilidades de sobrevivir en los bivalvos que cualquier otro virus. Por otro lado, el estudio realizado por Skår y Mortensen (2007) indicó que es poco probable que los mitílidos actúen como reservorio de ISAV. Luego de la acumulación experimental del virus por parte de los moluscos, los resultados del PCR indicaron que el ARN viral persistía por 96 horas. La solución homogenizada de tejido de mitílido tomada 24 horas después del desafío dio como resultado un salmón infectado por cada 25, por lo que se concluyó que estas especies no representan un huésped reservorio o especie vector importante para el ISAV. El virus ISA es mucho menos resistente que el IPNV y puede que no pueda sobrevivir en los bivalvos; sin embargo, esta información no se encuentra disponible para ninguna de las otras enfermedades de alto riesgo.

1.3.2. Cáligus

Caligus rogercresseyi es un ectoparásito copépodo habitante natural en los mares de Chile, que afecta a salmónidos de cultivo generando pérdidas económicas. Sin embargo, a la fecha no se han cuantificado dichas pérdidas económicas, las cuales podrían estar

relacionadas a la predisposición a contraer otras enfermedades, extensión del ciclo productivo, eliminación de peces en planta, entre otros (Sernapesca, 2009).

El ciclo de vida de este parásito está compuesto de ocho estadíos de desarrollo, tres planctónicos (de vida libre) y cinco parasitarios. De los estadíos planctónicos se distinguen: nauplius I, nauplius II y copepodito, este último es el estadío infestante. Los estadíos parasitarios comprenden cuatro estadíos Chalimus y un estadío de hembra o macho adulto (González y Carvajal 2003).

En Noruega se ha comprobado que el piojo del salmón o (*Lepeophtheirus salmonis*) puede transmitir pasivamente el ISAV de peces infectados a peces sanos, referencia que sustenta la hipótesis que la especie *Caligus rogercresseyi* que afecta a los salmones en Chile podría actuar como vector de esta enfermedad. De este modo, centros de cultivo dentro de una distancia de 5 km (3.1 millas) de centros infectados y plantas de proceso que procesan peces infectados sin un adecuado tratamiento, tienen de 5 a 13 veces más riesgo de infectar peces con virus ISA. (Subpesca, 2008).

Según algunas investigaciones realizadas en Chile, habría diferencias en la susceptibilidad a adquirir este parásito por parte de las tres especies mayormente cultivadas, siendo el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) altamente resistente, la trucha arcoiris (*O. mykiss*) altamente susceptible y el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) se encontraría en un nivel intermedio (González y Carvajal 2003; Carvajal *et al.*, 1998). Sin embargo, según estudios posteriores realizados por Hamilton-West *al.* (2007), quienes compararon niveles de abundancia parasitaria en poblaciones cultivadas de salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico, se observan diferencias significativas entre los niveles de abundancia parasitaria en poblaciones de salmón coho con respecto a los otras dos; pero, no se detectaron diferencias significativas entre las poblaciones de cultivo de trucha arcoiris y salmón del Atlántico (Sernapesca, 2009).

Desde el año 1999, el Instituto Tecnológico del Salmón (INTESAL) ha desarrollado un sistema de monitoreo de esta enfermedad en Chile con las empresas productoras asociadas. Como resultado de este monitoreo se han registrado valores de abundancia promedio de estadíos adultos de 3.38 parásitos por pez, entre los años 1999 y 2002, mientras que durante el periodo 2004 a 2007 se observó un incremento en las cargas

parasitarias, registrando un promedio de abundancia total durante el 2004 (juveniles + adulto móvil + hembras ovígeras) de 5, 10 y 3 parásitos /pez en trucha arcoiris, salmón Atlántico y salmón coho respectivamente. A comienzos del año 2007, según estudios efectuados por Rozas y Ascencio (2007), los niveles de abundancia incrementaron a 20, 34 y 29 parásitos/pez en las mismas especies mencionadas.

Durante el mismo año el Servicio Nacional de Pesca decidió implementar un Programa Oficial de Monitoreo en sectores marinos y estuarinos donde se realizaba cultivo de salmónidos en el sur de Chile, para obtener información relevante y establecer medidas estratégicas de control.

El Programa de Vigilancia de Caligidosis, Resolución 1789/07 de Sernapesca, estableció el monitoreo de los niveles de abundancia parasitaria a través de un monitoreo quincenal de dos jaulas de cada centro operativo y un monitoreo anual de todas las jaulas de cada centro operativo, muestreando 10 peces al azar por cada jaula.

Del primer informe del programa de vigilancia, se obtuvo que entre el período de Agosto a Noviembre del 2007, los mayores niveles de prevalencia a nivel de zonas, se registraron en el Seno de Reloncaví, Chiloé Centro, Hornopirén y Chaitén. En cuanto a los menores valores fueron registrados en Puerto Aysén, Melinka, Chiloé Sur y Estuario de Reloncaví.

En cuanto a la abundancia, se encontraron los mayores niveles en el Seno de Reloncaví, Hornopirén, Chiloé Centro y Chaitén. En tanto, menores niveles fueron registrados en Puerto Aysén, Melinka, Estuario de Reloncaví y Puerto Cisnes (Figura 6).

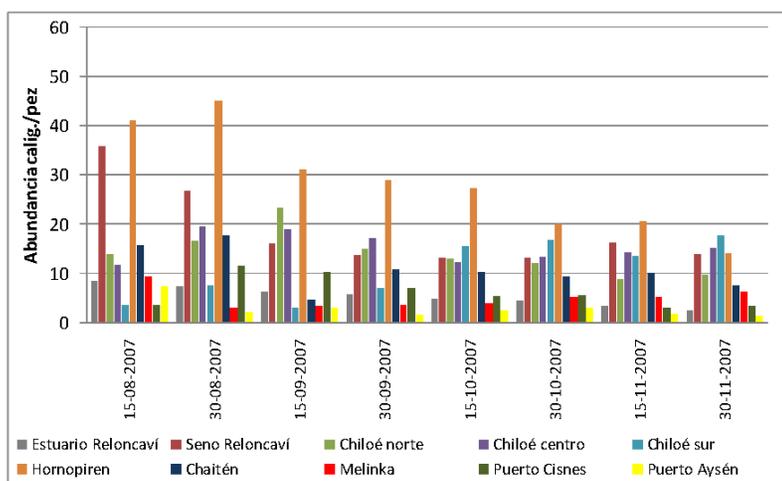


Figura 6 Abundancia promedio de Cálignos totales por quincenas, a nivel de zonas (agosto a noviembre de 2007) (Fuente: Sernapesca 2007).

Durante el periodo de diciembre del 2007 y marzo del 2008, la prevalencia de la enfermedad se mantuvo similar a lo observado anteriormente en las zonas evaluadas, con leves variaciones con respecto al periodo anterior (Figura 7).

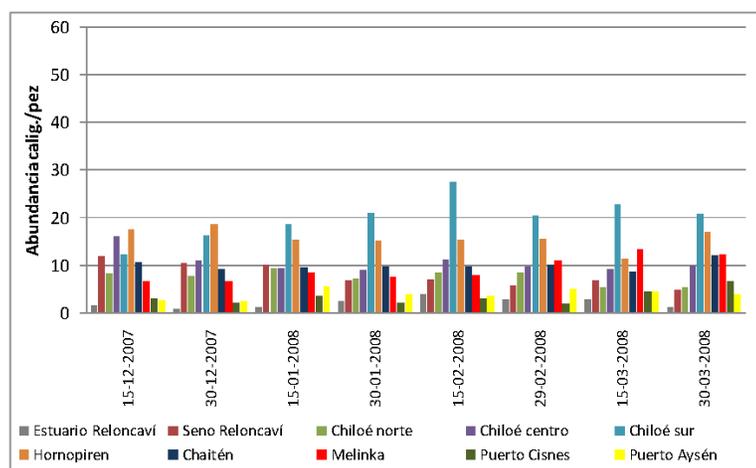


Figura 7 Abundancia promedio de Cálignos totales por quincenas, a nivel de zonas (diciembre de 2007 a marzo de 2008). (Fuente: Sernapesca 2007)

El informe de Resultados de diagnóstico anual general por jaula, de Caligidosis en Chile 2009, se elaboró en base a la información correspondiente a 2924 jaulas de 176

centros de cultivo ubicados en la X, XI, XII y XIV regiones (Tabla 4) proporcionada por 29 empresas productoras de salmónidos (41,1% de trucha arcoiris, 34,4% de salmón del Atlántico, 24,5% de salmón coho y 0,6% de salmón chinook) (Tabla 4) (Sernapesca, 2009).

Tabla 4 Distribución de los centros participantes en monitoreo 2009, por subzona y especie de cultivo.

n°subzona	n° total centros	N° total jaulas	n° centros salar	n° centros trucha	n° centros coho	n° centros chinook	n° centros cult. mixto
1	14	195	3	9			2
2	8	135		6	1	1	
3	3	49		1	1		1
6	4	38	4				
7	3	90			3		
9	8	111		7	1		
10	21	435	3	8	6		4
11	15	284		4	9		2
12	8	156	1		7		
16	2	39		2			
17	17	263	5	7	3		2
18	4	90	1	2	1		
19	6	87		6			
21	2	36	1	1			
22	10	131	9	1			
23	13	208	10		3		
24	1	16	1				
25	5	86	4	1			
26	1	18			1		
28	7	120	3	1	3		
29	1	15	1				
30	5	86	1	3	1		
31	1	32	1				
32	2	44		2			
33	5	62	1	3			1
XII región	7	75	6	1			
XIV región	2	23		2			
Total	176	2924	56	67	40	1	12

(Fuente: Diagnóstico General por Jaula Anual, Sernapesca, 2009)

Durante el monitoreo realizado se obtuvieron diferencias en los niveles de abundancia entre las diferentes áreas geográficas, mostrando una mayor abundancia en la X región con 4,9 Cáligus por pez, en tanto para la XI la abundancia fue 2,9 Cáligus pez, mientras que para la XII y XIV región, no se detectó la presencia de *C. rogercresseyii* (Sernapesca, 2009).

Respecto a los niveles de abundancia en las distintas especies cultivadas, se mantuvieron las tendencias de informes de años anteriores, siendo la trucha arcoiris y el salmón del Atlántico las especies más afectadas (Tabla 5).

Tabla 5 Resumen de abundancia de diferentes estadios de desarrollo de *C. rogercresseyi* en especies cultivadas.

Especie	Prom Juv	Prom HO	Prom AM	Prom Total
Chinook	0	0,0	0,0	0,0
Coho	0	0,0	0,0	0,5
Salar	1	1,1	1,1	3,3
Trucha	2	1,6	1,6	5,4

(Fuente: Sernapesca, 2009)

Este informe concluye que el Diagnóstico General por Jaula Anual constituye una buena herramienta de evaluación de la situación de Caligidosis a nivel nacional, donde se aprecia una disminución en los niveles de abundancia parasitaria respecto a informes anteriores, realizados durante el 2007 y 2008 y, además, que se observan diferencias significativas entre diversas áreas geográficas del país (Sernapesca, 2009).

1.4. Normativa Nacional e Internacional sobre enfermedades de Alto Riesgo y programas de muestreo

1.4.1. Políticas públicas para controlar los brotes

A partir del año 1998, las enfermedades infecciosas de salmónidos han sido registradas por el programa de vigilancia epidemiológica desarrollado por el Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca), institución que reúne la información mensual de las enfermedades de declaración obligatoria, la que es enviada por los laboratorios de diagnóstico reconocidos por este servicio.

En virtud de la gravedad de la situación provocada por la aparición y propagación de ISAV, el 27 de julio de 2007 el Servicio Nacional de Pesca, decreta la restricción de

movimiento de peces desde centros de cultivo de salmónidos de la zona de Chiloé central y mediante Resolución N°1670 de 06 de agosto de 2007, establece las medidas de contingencia ante el brote de anemia infecciosa del salmón.

Actualmente, existe un Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón, emitido en el marco del Comité Técnico del Reglamento Sanitario, mediante Resolución N°2638 de 08 de octubre de 2008, del Servicio Nacional de Pesca, de carácter obligatorio y que establece medidas de vigilancia permanente a todos los centros de cultivo de salmónidos con una frecuencia de muestreo de acuerdo a la zona y el riesgo de presentar el virus y desarrollar la enfermedad (zona infectada, zona de vigilancia y zona libre); asimismo, establece medidas de control con la finalidad de restringir la dispersión de la enfermedad y tender a su erradicación (eliminación de jaulas infectadas, restricción a movimientos, etc.). Además, el ámbito de aplicación de este Programa involucra actividades de transporte, transformación, centros de acopio, centros de matanza, centros de experimentación y laboratorios de diagnóstico, entre otras.

Del mismo modo, en Agosto del 2007 Sernapesca estableció el Programa de Vigilancia y Control de Caligidosis, el cual tiene dentro de sus principales objetivos determinar los niveles de infestación parasitaria en las áreas donde se realiza la producción de salmones en nuestro país y así generar las pautas necesarias para el control de esta enfermedad.

2. METODOLOGÍA

2.1. Objetivo 1: Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes como el virus ISA, *Piscirickettsia salmonis* u otros, en *Caligus spp.* y en moluscos bivalvos en zonas infectadas.

El cumplimiento de este objetivo fue planificado en dos etapas, las cuales incluyeron una revisión bibliográfica destinada a actualizar la información acerca de las enfermedades y patógenos que afectan a los salmones a nivel nacional e internacional y, por otro lado, el desarrollo de actividades dirigidas a la cuantificación de patógenos en organismos vectores y reservorios de la salmonicultura nacional, y el registro de parámetros ambientales de las zonas infectadas.

2.1.1. Revisión y actualización de la información de patógenos relevantes para la salmonicultura.

Se procedió a realizar una revisión bibliográfica destinada a actualizar el conocimiento de los patógenos de importancia para la salmonicultura a nivel nacional e internacional, para lo cual se consideró (i) Proyectos del Fondo de Investigación Pesquera (FIP), (ii) Publicaciones Científicas y (iii) Normativa Nacional e Internacional acerca de enfermedades de alto riesgo en la salmonicultura.

2.1.2. Diseño de un programa de muestreo para la detección y cuantificación de los patógenos relevantes en *Caligus spp.* y moluscos bivalvos

2.1.2.1. Determinación de las Zonas de Muestreo

Para definir las Zonas Geográficas que se utilizarían como marco de muestreo de los centros de cultivo infectados en las regiones en estudio, se procedió a consultar la información emanada del Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón (Resolución N°2638 del Servicio Nacional de Pesca), el cual

establece vigilancia activa en los centros de cultivos de salmones y otras especies hidrobiológicas susceptibles. Paralelamente, mediante carta formal (Anexo I), se solicitó al Servicio Nacional de Pesca información relativa a los siguientes aspectos:

- i) Listado de centros de cultivo en operación, que hubieran presentado virus ISA, incluyendo la identificación del titular, ubicación geográfica, dirección y teléfono, etc.
- ii) Datos históricos de brotes de ISA en el área en estudio.
- iii) Brotes actuales de enfermedades.
- iv) Carga individual promedio de Cáligus.
- v) Centros de cultivo de moluscos, según región, sector y comuna.

Si bien la información relativa a los centros de cultivo operativos y que han presentado virus ISA se encuentra disponible en la página web del Servicio, la correspondiente a su ubicación geográfica o identificación del titular no es accesible según lo dispuesto en el Art. 21 N°2 de la Ley 20.285, ya que su publicidad puede afectar los derechos de las personas o derechos de carácter comercial o económico. De acuerdo a lo anterior, y para el caso específico de los centros de cultivo de salmones, se procedió entonces a confeccionar un listado actualizado de los centros operativos que hubieran presentado ISA considerando como base el Listado de Centros Positivos PSEVC –ISA y sus diferentes categorías (Brote, sospechoso y en descanso) correspondiente a los periodos abril y julio de 2009.

Para determinar las áreas de interés, se utilizó las Zonas en Vigilancia para ISAV disponibles en el sitio web de Sernapesca. Esta información fue cruzada con la carga individual por centro de Caligidosis, según su ubicación en los mapas disponibles también en el sitio del Servicio y con la información contenida en el listado de centros de moluscos según región (Anexo II) proporcionado por el Servicio. La información referente a la ubicación geográfica de los centros de cultivos de salmones y moluscos se obtuvo a partir de Listado de Concesiones de la Subsecretaría de Pesca (2001), información que fue actualizada con apoyo de Informes de Declaración de Impacto Ambiental (DIA) (SEIA), informes sobre concesiones realizados por consultoras externas e informes de la Dirección

General del Territorio Marítimo y Marina Mercante, que se encuentran disponibles en internet.

Con la información estandarizada, se procedió a elaborar mapas que consideran los centros de cultivo de salmónes de acuerdo al Listado de Centros Positivos PSEVC – ISA, centros de cultivos de moluscos, Cáligus y las Zonas de Vigilancia para ISA de SERNAPESCA en las regiones X (Figura 8) y XI (Figura 9). En el caso de la XII Región, no fue posible realizar el cruce de la información descrita, debido a que no se detectó información, para dicha región, en los datos disponibles en el Servicio. Por tal razón, el mapa de georreferenciación que se presenta (Figura 10) incluye la escasa información disponible.

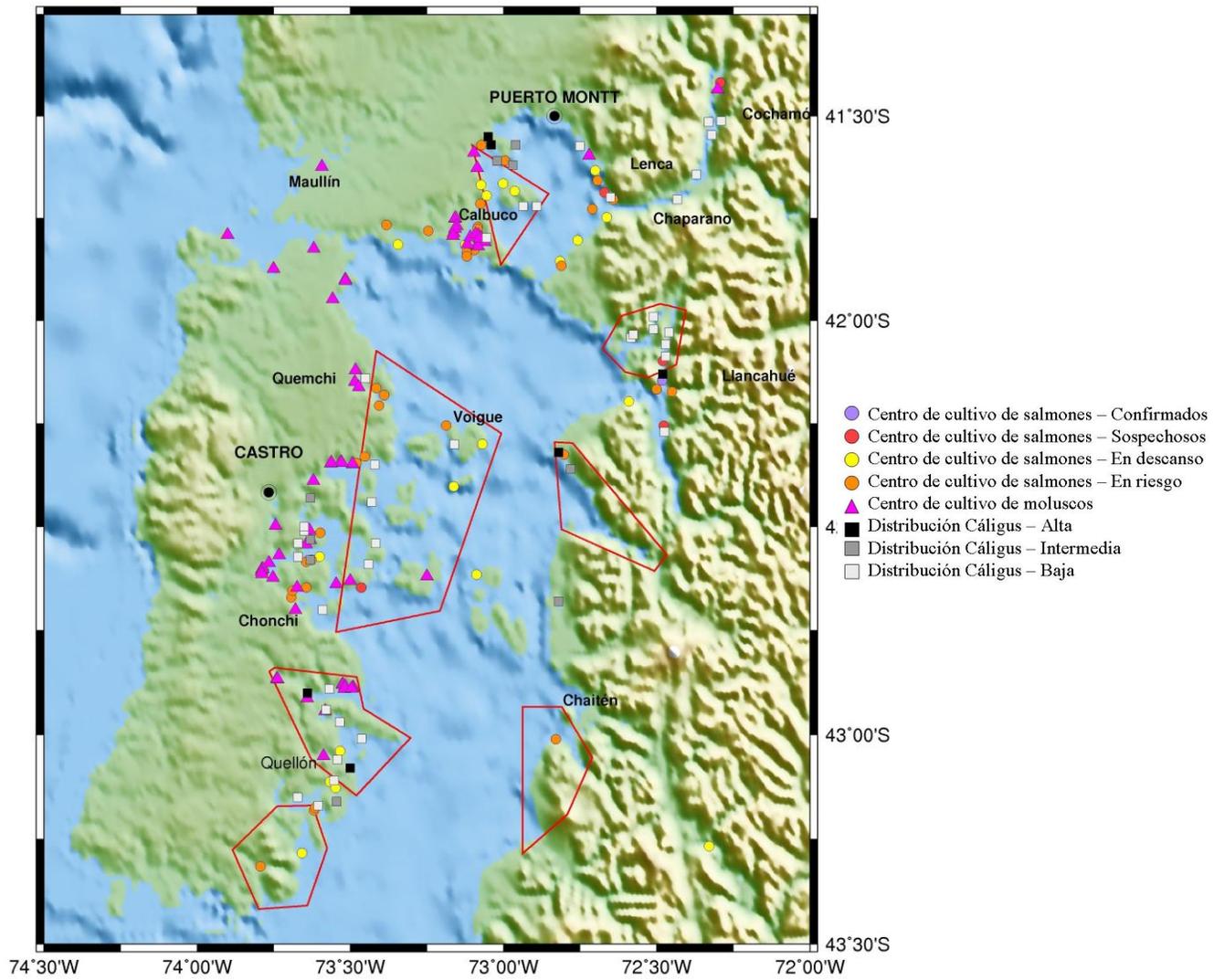


Figura 8 Mapa de Georreferenciación X Región, incluyendo las Zonas de vigilancia para ISA de Sernapesca 2009.

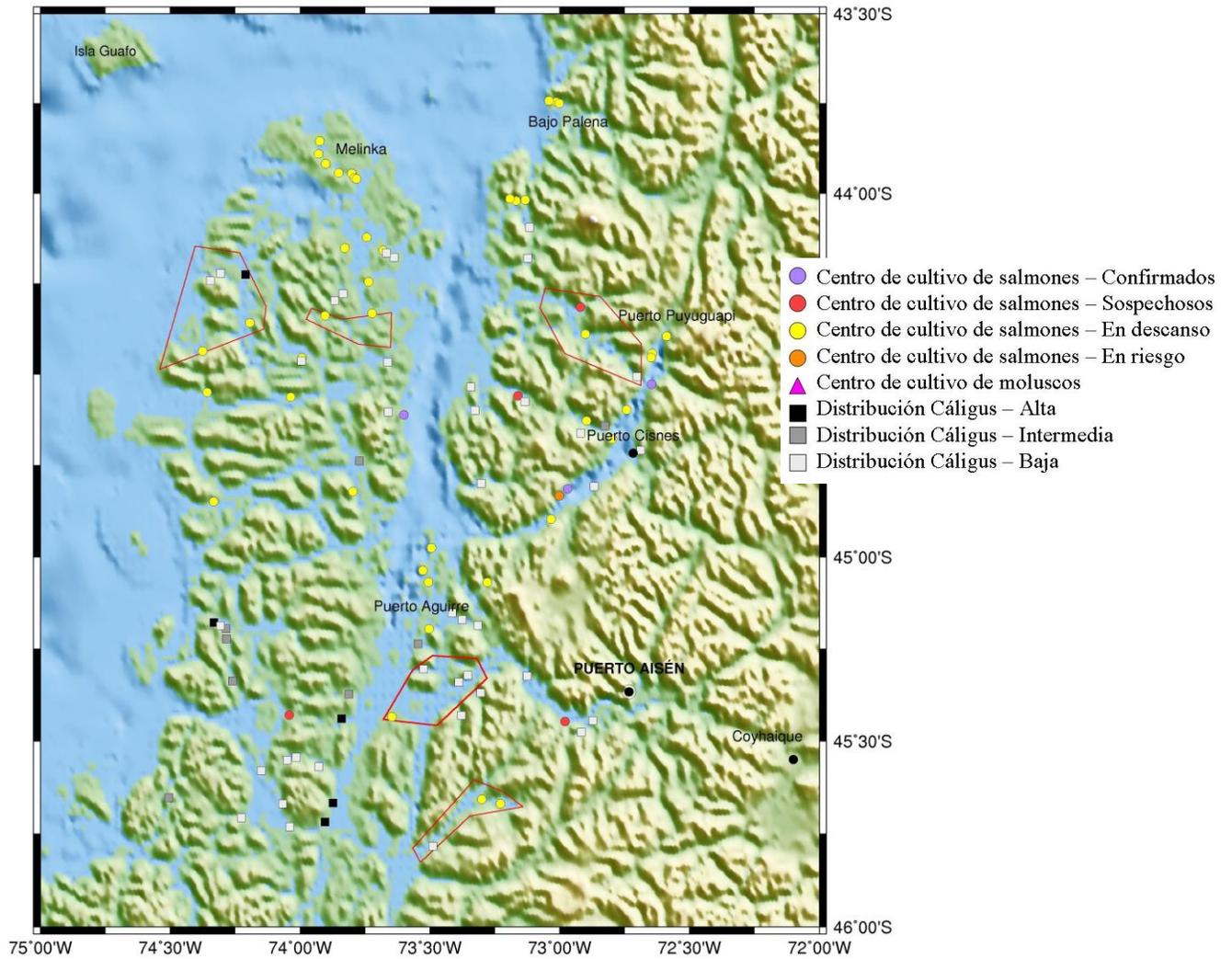


Figura 9 Mapa de georreferenciación XI Región, incluyendo las Zonas de vigilancia para ISA de Sernapesca 2009.

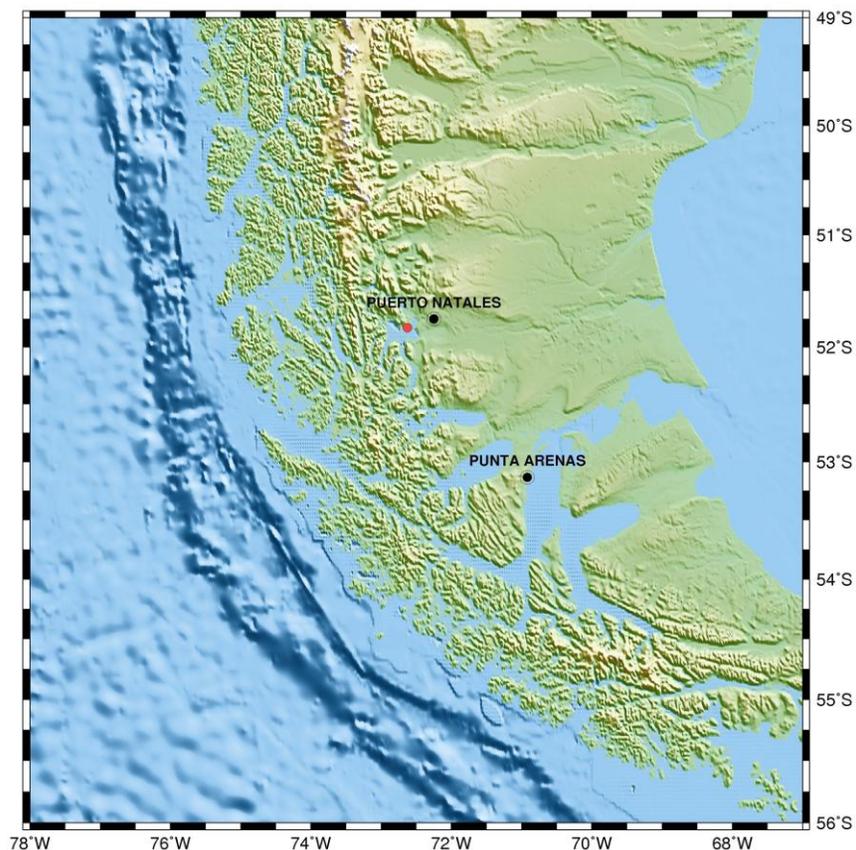


Figura 10 Mapa de georreferenciación centros de cultivos de salmones XII Región.

Considerando la distribución de los centros de cultivos infectados con ISA en la X y XI regiones (Figuras 8 y 9) y los antecedentes históricos de la información proporcionada por el PSEVC-ISA en relación a la existencia del virus en la XII Región, se procedió a subdividir el área de estudio en las siguientes 4 zonas:

- ZONA I Calbuco (X Región Continental)
- ZONA II Chiloé (X Región Insular)
- ZONA III Aysén (XI Región)
- ZONA IV Magallanes (XII Región)

2.1.2.2. Determinación de campañas de muestreos.

La frecuencia de obtención de las muestras de Cáligns y moluscos fue determinado en relación a los ciclos de los brotes de las enfermedades que fueron evaluadas, en base a la información entregada por Sernapesca en cuanto al mes del año en que se presentan, junto con la magnitud en términos de amplitud de centros afectados. Según esto, se determinó la realización de dos campañas de muestreo, la primera entre los meses de agosto a octubre del 2009, y la segunda entre mayo a junio del 2010.

2.1.2.3. Selección de centros de cultivo a muestrear

Dado que los centros positivos georreferenciados que permitieron definir las Zonas de muestreo, se identificaron en función de la información obtenida desde Sernapesca (PSEVC) en los meses de abril y julio de 2009 y considerando que esta característica es muy dinámica en el tiempo, para la elección de los centros a muestrear en las dos campañas de muestreo realizadas, se estimó necesario realizar previamente reuniones de coordinación con los profesionales del Servicio Nacional de Pesca, específicamente, aquellos pertenecientes a la Unidad de Acuicultura Nacional. Dicha actividad no sólo permitió actualizar la categorización de los centros, sino también coordinar el ingreso a los centros conjuntamente definidos para integrar la muestra, el cual está normalmente restringido debido a las exigentes medidas de bioseguridad impuestas por el Estado y los propios particulares. En algunos centros muestreados se contó con la presencia de uno de los funcionarios de la Unidad de Acuicultura del Servicio.

En la última reunión de coordinación de la primera campaña de muestreo (agosto del 2009), el Servicio informó que ningún centro de salmónes de la XII Región presentaba brote o sospecha de la presencia de virus ISA. Por este motivo, se mantuvo contacto con la Dirección Regional de Sernapesca, XII Región, para muestrear cualquier centro que eventualmente presentara alguna de estas condiciones. Sin embargo, hasta el término del periodo de muestreo, ninguno presentó dichas características.

Durante la coordinación de la segunda campaña, el Servicio informó que algunos de los centros en categoría sospechoso a ISA durante el mes de abril de 2010, ya habían realizado la eliminación de jaulas, por lo que sería necesario esperar el período de cosecha de los restantes para realizar los muestreos, con el consecuente retraso en la ejecución de la actividad. También informó que el centro de cultivo de la XII Región no registraba presencia de Cáligus, ya que se trataba de un centro ubicado en aguas semi-estuarinas, por lo que se autorizó solamente la obtención de moluscos bivalvos. Por otro lado, en la X Región, Sernapesca solicitó expresamente realizar el muestreo en la zona definida como 3A (Calbuco), área con altas concentraciones de Cáligus, sin presencia de ISA, pero de alto interés para la institución ya que representaría el área donde se originó la enfermedad.

2.1.2.3.1. Centros de Cultivo de Salmones

Considerando lo establecido en el punto 2.1.2.3. de este documento y la información proporcionada por Sernapesca respecto a la presencia del virus ISA y la cosecha de los centros de cultivo de salmones en ambos periodos de muestreo, se determinó muestrear centros ubicados en los sectores que se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6 Número de centros de cultivos de salmones muestreados, por zona y sector para ambas campañas de muestreo.

Campaña de muestreo	Zona	Sector	Nº Centros analizados
I	I	Loncochagua	1
		Quillaipe	1
		Pocoihuen Alto	1
		Canal Cholgo, Hornopirén	1
	II	Manao	1
		Puqueldón	1
		Camahue	1
		San Francisco	1
	III	Macetero	1
		Jacaff	1
II	I	Chidguapi, Calbuco	4
		Pilolcura, Calbuco	1

	III	Isla Mentirosa, Fiordo Cupquelán	3
		Isla Ballena, Fiordo Cupquelán	1
	IV	Paso Vattuone	1

2.1.2.3.2. Centros de Cultivo de Moluscos Bivalvos

De acuerdo a lo establecido en las respuestas a las observaciones planteadas por un evaluador a la Propuesta Técnica, se programó la realización de un muestreo de moluscos bivalvos desde centros de cultivo que se encontraran dentro de un radio inferior a los 5 kms. de los centros de cultivo de salmones muestreados.

Sin embargo, debido a que los centros de salmones que conformaron la muestra fueron determinados según lo recomendado por Sernapesca, sólo fue posible identificar la existencia de dos centros de moluscos bivalvos que cumplieran con esta característica en la X Región para ambas campañas (Tabla 7).

Tabla 7 Centros de cultivo de moluscos bivalvos muestreados, por zona y sector para ambas campañas de muestreo, X Región.

Campaña de muestreo	Zona	Sector	Nº Centros analizados
I	I	Bahía Quillaípe	1
	II	Puqueldón	1
II	I	Calbuco	2

2.1.2.4. Diseño de muestreos

2.1.2.4.1. Muestreo de Cáligns

Para establecer el rol del ectoparásito Cáligns en la transmisión y dispersión de enfermedades relevantes para la salmonicultura, en cada centro de cultivo de salmones muestreado, se procedió a tomar muestras de plancton y peces parasitados a fin de identificar en ellas la presencia de Cáligns en sus diferentes estados.

Los procedimientos utilizados en cada caso se describen a continuación.

➤ **Desde Plancton (columna de agua).**

En cada centro de cultivo de salmones muestreado, se realizó 3 capturas de plancton en la zona frontal de cada tren de jaulas, utilizando una red de zooplancton con un diámetro de boca de 45 cm, longitud de 3 m y tamaño de malla de 200 μm , con arrastres oblicuos desde una profundidad de 12 metros a favor de la corriente. Para la extracción de la muestra, se requirió el apoyo de una embarcación menor del centro de cultivo para desplazar la red de zooplancton.

En cada captura, el contenido del copo se subdividió en dos partes, cada una de las cuales se depositó en un tubo falcon de 50 ml con agua de mar. A cada tubo se le asignó un código y se rotuló con la fecha y hora de muestreo. Posteriormente, uno de estos tubos se envió al laboratorio contratado para la identificación de patógenos y el otro, al Laboratorio de Patologías Marinas de la PUCV para evaluar la composición del plancton. Para la conservación y transporte de los tubos hacia los laboratorios, se utilizó hieleras con temperaturas entre 4 °C y 8 °C.

➤ **Desde superficie de peces parasitados.**

En cada centro de cultivo de salmones, se muestrearon 2 jaulas. De cada una de ellas, se seleccionaron aleatoriamente 15 peces para extraer los Cáligus presentes en cada uno de ellos. Los peces seleccionados se anestesiaron con una solución de benzocaína al 20% con un tiempo máximo de inmersión de 10 minutos en recipientes plásticos de 20 lt. Para evitar daños en los peces, se solicitó que este procedimiento fuera efectuado por personal del centro de cultivo.

Posteriormente, de cada pez, se extrajo con pinzas los adultos móviles, hembras ovígeras y juveniles de Cáligus, que se encontraran en la zona del abdomen, aletas pectorales y la aleta caudal. Con los organismos extraídos, se formaron pools, los cuales fueron depositados en microtubos.

Finalmente, los parásitos que quedaban en el recipiente de plástico donde se anestesiaron los peces, se obtuvieron filtrando el agua (200 μm) y se depositaron en

microtubos. Los tubos con parásitos fueron rotulados y trasladados en hielera hasta el laboratorio de diagnóstico para la identificación y cuantificación de los 3 patógenos del estudio.

2.1.2.4.2. Muestreo de Moluscos bivalvos

Con el fin de establecer el rol de los moluscos bivalvos en la transmisión y dispersión de enfermedades relevantes para la salmonicultura, la toma de muestras de moluscos se llevó a cabo desde dos fuentes:

- ✚ Desde fouling en estructuras flotantes
- ✚ Desde Centro de Cultivos de Moluscos bivalvos

➤ **Desde fouling en estructuras flotantes**

En cada centro de cultivo de salmónido muestreado, se realizó una inspección visual de las estructuras flotantes y sumergidas, con el propósito de identificar aquellas que presentaban una alta densidad de moluscos adheridos. En cada uno de estos puntos de muestreo, se procedió a extraer muestras de las especies adheridas, para lo cual se empleó cuadrículas de 50x50 cm, dispuestas de manera continua a lo largo de una transecta de 2 m de longitud ubicada en lugares con presencia de fouling; tales como cabos, flotadores, etc. Esta actividad fue apoyada por un buzo del centro de cultivo.

De cada cuadrícula se extrajo las especies adheridas y se realizó un recuento, por especie, de los especímenes encontrados. Mediante este recuento se estableció la Importancia Relativa (IR) de cada especie, definida como el cociente entre el número de individuos de la especie y el número total de individuos encontrados, expresado en porcentaje, para que, a partir de este índice, mantener la representatividad de las principales especies presentes, en los pools de moluscos que serían enviados al laboratorio para análisis.

Sin embargo, del análisis de la composición del fouling se pudo determinar que en todos los centros en que fue posible extracción de fouling, solamente se presentaron especies de moluscos pertenecientes a los Mitílidos, mayoritariamente *Mytilus chilensis* y

una baja presencia de *Aulacomya ater*, por lo que los pooles fueron conformados sólo con esas especies.

Considerando lo anterior, en cada punto de muestreo se recolectaron Mitílidos, los cuales se agruparon en 15 pooles de 3 individuos. Cada pool fue colocado en una bolsa plástica estéril o tubos, rotulado con la fecha y hora de extracción, que se mantuvo en cadena de frío hasta su entrega al laboratorio, donde se realizaron los análisis para determinar la ausencia o presencia de los patógenos bajo estudio.

➤ **Desde Centros de Cultivo de Moluscos**

Según lo establecido anteriormente, los centros de cultivos de moluscos bivalvos muestreados debieron cumplir con la condición de estar dentro de un radio inferior a los 5 Km. desde alguno de los centros de salmones seleccionados en la muestra.

En la primera campaña sólo fue posible muestrear en dos centros de cultivo de moluscos que cumplían dicha condición. Ambos centros estaban ubicados en la X Región, uno en la Zona I y el otro en la Zona II. En la segunda campaña, las muestras se obtuvieron desde dos centros de cultivos de choritos, ambos de la Zona I de la X Región; por disposición de Sernapesca, no fue posible muestrear en la Zona II.

Desde cada uno de estos centros se obtuvo choritos con los que se formaron 15 pooles de 3 individuos cada uno, los que fueron colocados en bolsas plásticas estériles o tubos, rotulados y dispuestos en cajas con hielo para su traslado al laboratorio.

2.1.2.5. Técnicas de Análisis de las muestras

Independientemente de su origen, tanto las muestras de Cáligus como de moluscos bivalvos, obtenidas en cada uno de los períodos de muestreo, fueron sometidas a análisis de detección de los patógenos virus ISA, bacteria *Piscirickettsia salmonis* y ameba *Neoparamoeba perurans*. Las técnicas utilizadas se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8 Técnicas de Análisis, por patógeno de interés

OBJETIVO	PATÓGENO		
	SRS	ISAV	AMEBA
Detección	PCR	RT-PCR (Segmento. 8)	PCR
Viabilidad	CHSE-214 sin antibiótico	CHSE-214	Histología

2.1.2.5.1. Extracción de ácidos nucleicos.

De cada una de las muestras fue extraído el ADN total con el objeto de detectar material genético de los patógenos de interés usando tampón de lisis (Tris HCl 10mM, NaCl 150mM, EDTA 0,25M, SDS 0,4%, Proteinasa K 10mg/mL) y extracción de fenol-cloroformo (Sambrook *et al.*, 1989), con algunas modificaciones.

Para la extracción de RNA total fue usado Tiocianato de guanidina fenol (Trizol, Life Technologies), seguidos de Transcripción reversa usando la enzima M-MLV polimerasa reversa (Promega™) según protocolos indicados por el fabricante para obtención de cDNA del virus ISA.

2.1.2.5.2. PCR

Se ha realizado la Reacción en Cadena de la Polimerasa para detectar virus ISA, *P. salmonis* y *N. perurans*. En virus ISA, *P. salmonis* se usaron los partidores específicos y programas recomendados por la OIE, *N. perurans* fue extraído de literatura específica. Los partidores fueron elaborados por IDT (Integrated DNA Technologies) para la realización de esta investigación.

Tabla 9 Partidores específicos para ISAv y *P. salmonis*.

Patogeno	Partidor	Secuencia 5'-3'	Referencia
ISAv	Seg6U Seg6L	GGA-ATC-TAC-AAG-GTC-TGC-ATT-G CTT-CAA-AGG-TGT-CTG-ACA-CGT-A	www.oie.int
<i>P. salmonis</i>	EubA EubB PS2S PS2AS	AAG-GAG-GTG-ATC-CAN-CCR-CA AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG CTA-GGA-GAT-GAG-CCC-GCG-TTG GCT-ACA-CCT-GAA-ATT-CCA-CTT	www.oie.int

<i>N.perurans</i>	F R	ATCTTGACYGGTTCTTTTCGRGA ATAGGTCTGCTTATCACTYATTCT	Young <i>et al.</i> 2008
-------------------	--------	---	-----------------------------

Tabla 10 Protocolo de amplificación para virus ISA

ACCIÓN	TEMPERATURA	TIEMPO	CICLOS
Desnaturación	94°C	5 min	1
Amplificación	94°C	30 seg	35
Anillamiento	54°C	15 seg	
Extensión	72°C	30 seg	
Extensión	72°C	3 min	1

Tabla 11 Protocolo de amplificación para *P.salmonis*.

	Primers	Temperatura	Tiempo	Número de ciclos
1 ° PCR	EubA- EubB	94°C	5 min	1
		94 °C	1 min	35
		57 °C	1 min	
		72°C	1 min	
		72 °C	7 min	
2° PCR	PS2S-PS2AS	94 °C	5 min	1
		94 °C	1 min	35
		65 °C	1 min	
		72 °C	1 min	
		72 °C	7 min	1

Tabla 12 Protocolo de amplificación para *Neoparamoeba perurans*

ACCIÓN	TEMPERATURA	TIEMPO	CICLOS
Desnaturación	94°C	3 min	1
Amplificación	94°C	30 s	35
Anillamiento	57°C	30 s	
Extensión	72°C	30 s	
Extensión	72°C	10 min	1

2.1.2.6. Registro de parámetros ambientales de zonas infectadas

Para dar cumplimiento a esta actividad y tomando en cuenta los parámetros que inciden en la aparición de patologías según los antecedentes evaluados, se procedió a analizar los siguientes parámetros ambientales:

- Análisis de los registros satelitales de TSM y clorofila a en las regiones de muestreo.
- Mediciones *in situ* de temperatura de columna de agua, Salinidad, Oxígeno y Visibilidad durante campañas de muestreo.

2.1.2.6.1. Registros satelitales de TSM y clorofila a

Los datos para la elaboración de imágenes de temperatura superficial del mar y clorofila a , fueron procesados y provistos por NASA/Goddard Space Flight Center, la información está disponible gratuitamente en la página <http://oceancolor.gsfc.nasa.gov>.

La información puede ser descargada desde los siguientes niveles:

- Nivel L0_LAC: Nivel 0 de datos, sin procesar y datos de carga útil en resolución completa.
- L1_LAC: Los datos de nivel 1A son datos reconstruidos, sin procesar a resolución completa, con referencias temporales y anotados con información complementaria, como los coeficientes de calibración radiométrica y geométrica y los parámetros de georeferenciación.
- L2_LAC: El nivel 2 de datos consta de las variables geofísicas en la misma resolución que la fuente de datos de nivel 1. Esta información es entregada diariamente.
- L3_LAC: El nivel 3 de datos se compone de los datos acumulados de todos los productos de nivel 2, para el instrumento y la resolución se especifica, correspondiente a un período de un día, 8 días, un mes, o un año calendario. Los

datos se almacenan en una representación de una red global, en resoluciones de 4 y 0 km². Cada período de tiempo determinado tiene un conjunto de archivos donde se almacenan los datos para cada producto (clorofila *a* y SST).

En particular, fue utilizado el producto Nivel-3 de una resolución temporal de 8 días (*Level-3 binned-8 day composite*). El procesamiento de esta información fue procesada por NASA/Goddard Space Flight Center, entregando calibrados espectral y atmosféricamente los productos clorofila *a* y SST., mediante el software SEADAS (de libre disposición), el cual posee una serie de comandos que permiten realizar las correcciones ya señaladas.

Dado que la información se proporciona corregida, sólo se hace referencia a la temporalidad de los datos (ejemplo: A2010159185500.L2_LAC_OC).

Para efectos de corregir geoméricamente los datos, se utiliza el software ENVI 4.5 a través de su complemento “ENVI Plugin for Ocean Color (EPOC)”, el cual es una conversión de archivo HDF, de reproyección y georeferenciación para el conjunto de datos que se distribuye a través del sitio web OceanColor, siendo compatible para los cinco sensores: MODIS Aqua, Terra MODIS, SeaWiFS, CZCS y PTU.

Posteriormente para su representación gráfica e incorporación de datos vectoriales (línea de costa, contornos, toponimia), se exportaron las imágenes directamente desde ENVI a la plataforma de trabajo del software ARCGIS 9.2.

Para la primera campaña de muestreo, correspondiente al periodo entre el 28 de agosto y el 3 de septiembre del 2009 se procesó la imagen “A20092412009248_L3m_8D_SST_4” y para el periodo entre el 23 y 28 de septiembre del 2009 se trabajó con la imagen satelital “A20092652009272_L3m_8D_SST_4”. Para la segunda campaña de muestreo, correspondiente al periodo entre el 25 de mayo y el 8 de junio de 2010, se procesó la imagen A20101532010160.L3m_8D_SST_4.

El procesamiento de la información satelital se efectuó con datos tipo LCA (Cobertura de Área Local), con una resolución de 4 kilómetros, utilizando el software ENVI 4.5. Con este programa fue posible obtener las temperaturas superficiales promedio de los sectores muestreados. Posteriormente, para su representación gráfica e incorporación

de imágenes vectoriales (línea de costa, contornos, toponimia), se trabajó con el software ARCGIS 9.2.

2.1.2.6.2. Mediciones estacionales *in situ* de las variables ambientales

Para verificar la influencia de las variables ambientales identificadas en el análisis bibliográfico sobre la presencia y desarrollo de patógenos en salmones, moluscos bivalvos y Cálignos presentes en la X, XI y XII regiones y caracterizar *in situ* las condiciones físicas, químicas y biológicas del cuerpo de agua de los sitios de interés determinados en el punto 2.1.2.3. de este documento, se planteó la realización de muestreos estacionales de la columna de agua de cada sector.

De este modo, teniendo en cuenta la información disponible y la obtenida de la revisión bibliográfica, se procedió a muestrear las siguientes variables:

- Temperatura y salinidad de la columna de agua
- Oxígeno disuelto en la columna de agua
- MOP a través de Transparencia

Para efectos del estudio se consideró un total de cinco (5) estaciones de muestreo en el sector costero de cada sitio, distribuidas a lo largo de la línea de costa. El posicionamiento de cada estación se efectuó mediante la metodología descrita en el punto 2.1.2.1. y con el apoyo de cartografía oficial del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada (SHOA), mientras que la ubicación exacta de los puntos de muestreo en terreno se realizó mediante GPS (Garmin®, Etrex Venture; Datum WG584).

En cada sector se monitoreó un punto representativo de centros de cultivo ubicados en el área de interés. Cada muestreo o monitoreo se efectuó, dependiendo de las facilidades operacionales de cada punto, es decir, condiciones meteorológicas (viento, precipitaciones), condiciones oceanográficas (corrientes, oleaje, etc), disponibilidad de embarcaciones o buzos entre otras. Por tratarse de condiciones variadas, se empleó el criterio de realizar mediciones que pudieran ser tomadas en todas las zonas, estandarizando la profundidad hasta los 20 m. En el caso del segundo muestreo, las profundidades fueron menores debido

a que los muestreos se realizaron en lugares diferentes dentro de la misma zona de estudio, dependiendo de la autorización otorgada por Sernapesca regional, la cual en este caso fue más restrictiva en lugar y tiempo de muestreo.

Es necesario señalar que en estudios oceanográficos, el concepto de “estación de muestreo” está referido a un sector (circular), dentro del cual se procede a recolectar muestras y efectuar mediciones. Por las condiciones de fluido propias del ambiente acuático y las condiciones de operación de las embarcaciones (deriva), no es posible asegurar un punto específico de muestreo, sino más bien un punto con un radio de barrido (15 m app), en cuya área se realizaron las actividades de monitoreo.

En general, las faenas fueron realizadas con el apoyo de embarcaciones y de buzos locales. Se efectuaron mediciones de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en la columna de agua, empleando un CTDO, instrumento que realiza un muestreo continuo de la columna de agua y del cual se obtienen registros digitales de los parámetros mencionados. Este instrumento fue lanzado en cada una de las estaciones, registrando un perfil de cada variable en la columna de agua hasta 1 m del fondo. La determinación de la transparencia de la columna de agua, por otro lado, se realizó mediante disco Secchi.

2.2. Objetivo 2: Relacionar epidemiológicamente los brotes de virus ISA y SRS en salmones, con la presencia de copépodos y moluscos bivalvos.

Para dar cumplimiento a este objetivo, en primer lugar se realizó una recopilación de la información relativa a los patógenos de salmónidos y antecedentes ambientales de la zona de estudio, para luego realizar un análisis de la información ambiental obtenida durante el estudio v/s prevalencia de patógenos relevantes en las diferentes zonas y origen de las muestras (Cáligus/moluscos).

2.2.1. Revisión de información de Patógenos de salmónidos de la zona de estudio

Se realizó una revisión de la información relativa a las enfermedades y sus brotes relacionada a la presencia de Cáligns y moluscos bivalvos, así como información ambiental de la zona estudiada, utilizando palabras claves, términos tales como: indicadores epidemiológicos, vectores, bioacumuladores, reservorios, ectoparásitos y otros.

Asimismo, se procedió a recopilar, revisar y sintetizar la información existente respecto de la determinación de los posibles reservorios, en especial moluscos bivalvos y ectoparásitos de peces.

2.2.2. Análisis de la información ambiental obtenidas durante el estudio v/s prevalencia de ISAv y *P. salmonis* en las diferentes zonas y origen de las muestras (Cáligns/moluscos).

Se realizó un análisis descriptivo de la relación entre la información ambiental y las prevalencias detectadas en el estudio, además de análisis estadístico para comprobar la asociación entre estas variables. Con el fin de detectar el efecto de las zonas, épocas de muestreos y origen donde fue detectado cada patógeno (Cáligns o moluscos), se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de tres factores, utilizando el software estadístico Statistics and Statistical Graphics Software (SYSTAT) para Windows versión 12.0, con un criterio de decisión del *p-valor* menor a 0.05, donde las medias de los factores son significativamente diferentes. Además se determinó el grado de asociación entre las prevalencias de los patógenos y la variable ambiental TSM, mediante un análisis simple de correlación de Pearson.

2.3. Objetivo 3: Evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes, en la mantención del o de los patógenos en el ambiente y en la ocurrencia de enfermedades.

2.3.1. Realización del catastro de la presencia/ausencia de patógenos identificados como relevantes en zonas que históricamente han presentado brotes.

Para dimensionar la participación de los moluscos bivalvos en la mantención en el ambiente de los patógenos considerados como relevantes en el presente estudio (*ISA virus* y *P. salmonis*), en la propuesta técnica se planteó la realización de una experiencia que considerara como factor bajo estudio el tiempo transcurrido en que un centro de cultivo de salmónidos de una Zona infectada ha estado en reposo de cultivo. Básicamente, a través de esta experiencia se pretendía comparar la prevalencia de cada uno de los patógenos de interés para el presente estudio, en los moluscos bivalvos presentes en el fouling de centros en funcionamiento con los de centros declarados en descanso, ya sea recientemente o que hayan estado en reposo por un mayor tiempo.

De acuerdo a lo planteado anteriormente, en primer lugar, se requería identificar las Zonas que históricamente han presentado brotes de alguno de los patógenos identificado como relevante para el presente estudio. La Tabla 13 muestra los resultados de la búsqueda de información al respecto.

Tabla 13 Zonas que históricamente han presentado brotes de ISAv o SRS por Patógeno.

PATOLOGIA	ZONA	Referencia Bibliográfica
ISA	Chiloé	Kibenge, 2001
	Isla Lemuy, Chiloé	Sernapesca, 2007
	Puerto Montt	Kibenge <i>et al.</i> , 2009
	Seno Reloncaví	
	Guaitecas	
	Melinka	
	Pto. Cisnes	
	Chaitén	

PATOLOGIA	ZONA	Referencia Bibliográfica
	Aysén	
	Pto. Natales	
SRS	Canal Huito	Alvarado <i>et al.</i> , 1990
	Canal Caicaén	Fryer <i>et al.</i> , 1990
	Toda la Décima Región	

Posteriormente se debía identificar a los centros de cultivo de salmónidos existentes en dichas zonas y clasificarlos en grupos definidos en función del tiempo que estaban en descanso. Finalmente, se seleccionarían cuatro centros de cada grupo, los cuales definirían el sector desde donde se extraería el fouling de las estructuras flotantes, de acuerdo al procedimiento descrito en 2.1.2.3.2., que proporcionarían las muestras de moluscos bivalvos a analizar.

Sin embargo, por información proporcionada por Sernapesca, se tuvo conocimiento que en todos los lugares afectados por virus ISA que se declaran en descanso, se cosecha rápidamente la producción de manera de minimizar las pérdidas y se procede a una limpieza total del lugar, lo que incluye el retiro inmediato de todas las estructuras flotantes que contienen incrustaciones que supuestamente mantendrían el patógeno en el medio.

Debido a lo anterior, se estimó que no tenía sentido desarrollar la experiencia propuesta, ya que era evidente que, en los centros declarados en descanso, no se encontraría estructuras flotantes y, en consecuencia, no se podría obtener fouling desde donde extraer los moluscos bivalvos que proporcionarían la información respecto a la prevalencia de los patógenos.

Como una forma alternativa de obtener información respecto de la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes, se decidió realizar dos experimentos en ambiente de laboratorio, que permitieran estimar el tiempo que los moluscos de fouling, específicamente *Mytilus chilensis*, demorarían en eliminar los patógenos bajo estudio. Esta decisión consideró, además, que el conocer este período de tiempo, podría contribuir para ajustar una metodología de manejo post-brote que permita reiniciar los cultivos en las áreas previamente infectadas, en el menor tiempo posible sin peligro de reinfección.

2.3.2. Diseño de las experiencias.

Para cada experimento, se dispuso de una muestra de 445 ejemplares de *Mytilus chilensis*. La diferencia entre las dos experiencias realizadas estuvo determinada por las condiciones de entrada de los ejemplares bajo estudio. Para el Experimento 1, los individuos fueron recolectados en el mes de mayo, desde el fouling de un centro de cultivo de salmón de la Zona IV (Magallanes) que se encontraba positivo con ISAv. Para el desarrollo del Experimento 2, los individuos fueron extraídos en el mes de junio, desde el fouling de un centro de cultivo de salmón de la Zona III, cuyos ejemplares presentaban SRS e ISA cepa HPR0.

Una vez obtenidas las muestras, se transportaron hasta el Laboratorio de Patologías Marinas de la Escuela de Ciencias del Mar de la PUCV, lugar donde se dio inicio a cada experiencia, evaluando las condiciones de entrada de los ejemplares en relación a la prevalencia de las dos patologías bajo estudio: ISA y SRS. Para este efecto, en cada caso, se seleccionó, en forma aleatoria, 45 ejemplares, con los que se conformaron 15 pooles de tres individuos cada uno, a los que se les extrajo un trozo de glándula digestiva para análisis de detección y viabilidad (RT-PCR, PCR y cultivo celular) de los patógenos bajo estudio, constituyendo el tiempo cero para la experiencia. Los 400 ejemplares restantes de cada muestra, se distribuyeron en 4 estanques con agua de mar filtrada, procurando que cada uno de ellos conservara la estructura de edades de la muestra, a fin de considerar a estos estanques a manera de réplicas.

Desde el inicio de la experiencia, el día 28 de mayo del 2010, para el Experimento 1, y el día 2 de junio del 2010, para el Experimento 2, los moluscos permanecieron en dichos estanques de mantención durante el tiempo de la experiencia donde fueron seleccionados para el análisis de ausencia-presencia de virus ISA y *P. salmonis* en sus tejidos. En ambas experiencias, todos los estanques fueron controlados bajo las mismas condiciones:

- Cambios de agua una vez al día, a fin de controlar parámetros como temperatura, producción de TAN (Amonio Nitrogenado Total), pH, etc. que pudieran afectar la calidad del agua para el mantenimiento de los organismos hasta el fin de la experiencia.
- Diariamente se alimentó a los choritos con una dosis de 25 mL de microalgas *Tetraselmis suecica* por estanque.
- El agua de recambio y elementos desechables fueron desinfectados siguiendo los protocolos de bioseguridad para experiencias con microorganismos patógenos del laboratorio; los elementos desechables se esterilizan en autoclave, las herramientas se desinfectan con solución de cloro y para tratar el agua efluente, se emplea solución desinfectante Virkon © en dosis y duración recomendada por el fabricante (Dupont TM).

2.3.2.1. Experimento 1

Durante los cinco primeros días del desarrollo de esta experiencia, se seleccionaron al azar, tres veces al día, 2 choritos de cada estanque, a los cuales se les extrajo la glándula digestiva, para realizar las pruebas de detección y viabilidad de los patógenos buscados (ISAv y *P. salmonis*). Basado en antecedentes bibliográficos que indican que el ISAv no es detectado después de las 96 horas (Skar & Mortensen, 2007) a partir del quinto día (120 horas) se dio por finalizada la experiencia para detección de virus ISA. La experiencia se continuó desarrollando sólo para la detección de *P. salmonis*, disminuyendo la periodicidad de extracción, de tal forma que la selección de ejemplares para la obtención de tejidos, luego de los primeros cinco días, se realizó a los 8, 9 y 16 días desde el inicio de la experiencia.

2.3.2.2. Experimento 2

Durante los cinco primeros días del desarrollo de esta experiencia, al igual que en el experimento anterior, se seleccionaron al azar tres veces al día, 2 choritos de cada estanque a los cuales se les extrajo la glándula digestiva para realizar las pruebas de detección y viabilidad de los patógenos buscados (virus ISA y *P. salmonis*). A partir del quinto día de la

experiencia (120 horas), la periodicidad de la extracción fue disminuida, donde la selección de ejemplares para la obtención de tejidos para estas pruebas, se realizó a los 9, 24, 34, 48 y 66 días desde el inicio de la experiencia principalmente para hacer un seguimiento de *P. salmonis*, patógeno del cual no existen antecedentes previos en relación a la permanencia en el cuerpo de moluscos del medio.

2.3.2.3. Modelo de Regresión Logística

Cuando se desea explicar el comportamiento de una variable Y (denominada dependiente o de respuesta) en función de los valores de una o más variables explicativas (X_1, X_2, \dots, X_k), es habitual considerar un modelo de regresión lineal múltiple:

$$Y_i = \beta_1 X_{1i} + \beta_2 X_{2i} + \dots + \beta_k X_{ki} + e_i; \quad i = 1, 2, \dots, n.$$

Sin embargo, este modelo presenta problemas cuando la variable dependiente es categórica, en cuyo caso una alternativa adecuada es el uso de modelos de regresión no lineales. Si, en particular, la variable de respuesta es de tipo binaria (Verdadero-Falso, Ausencia-Presencia, Si-No, etc.) un modelo apropiado para su análisis es el de regresión logística.

$$\text{Logit}(\pi) = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + e$$

En este modelo

$$\text{Logit}(\pi) = \log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right)$$

$\pi = P(Y = 1)$, representa a la probabilidad de éxito del evento de interés.

En el contexto de esta investigación, se diseñaron experiencias cuyo objetivo es identificar el tiempo (expresado en días) en que la probabilidad de detectar la presencia del patógeno se estabiliza en algún valor cercano a 0, es decir, cuando el patógeno empieza a desaparecer del tejido de los choritos. De acuerdo a esto, la variable de respuesta (Y), que corresponde a la ausencia (codificada como 0) o presencia (representada por el valor 1) del

patógeno en la muestra, es de tipo binaria, y como existe sólo una variable explicativa (X), que corresponde al tiempo transcurrido desde el inicio de la experiencia, entonces un modelo adecuado para el análisis de información así recopilada es el de regresión logística para $k=1$.

2.4. Objetivo 4: Formular un sistema de monitoreo preventivo que funcione como alerta sanitaria.

A partir de la información originada de los monitoreos sanitarios vigentes y los resultados obtenidos en los puntos 3 y 4, se diseñará un sistema de monitoreo preventivo que considere las enfermedades más relevantes de la salmonicultura determinadas en este estudio.

2.4.1. Monitoreos activos

Según lo establecido en la Propuesta Técnica, para la formulación del sistema de monitoreo se procedió a realizar una revisión de los sistemas de monitoreo activos, para lo cual se analizó en primer lugar la información recopilada en el punto 3.1.1.3 de este documento relativo a la normativa vigente en relación a las enfermedades de alto riesgo, los monitoreos existentes en otros países y el Manual de técnicas de Diagnóstico de la OIE.

Con la información recopilada se procedió a construir una Tabla para comparar:

1. Metodologías de toma de muestras (número de muestras, número de réplicas)
2. Metodologías de transporte a laboratorio
3. Metodología de procesamiento de muestras
4. Técnicas de diagnóstico por patógeno
5. Periodicidad del monitoreo
6. Ruta de la información (organismo emisor y receptor, diseño de formulario, etc)

2.4.2. Propuesta de Vigilancia Sanitaria

A partir de la información emanada de los objetivos 1 y 3 del presente estudio relativa a:

1. Identificación y cuantificación de patógenos relevantes
2. Determinación del rol de Cáligus como vector o reservorio de patógenos relevantes
3. Determinación del rol de moluscos bivalvos como vector o reservorio de patógenos relevantes

En conjunto con los muestreos realizados, permitieron recopilar información y validación de los métodos utilizados, para la confección de un programa de vigilancia utilizado en el programa de monitoreo preventivo, el cual también fue discutido en el taller de difusión.

3. RESULTADOS

3.1. Objetivo 1: Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes como el virus ISA, *Piscirickettsia salmonis* u otros, en *Caligus spp.* y en moluscos bivalvos en zonas infectadas.

3.1.1. Revisión y actualización de la información de patógenos relevantes para la salmonicultura.

3.1.1.1. Proyectos FIP

Se procedió a revisar los informes finales de proyectos desarrollados a través del Fondo de Investigación Pesquera que incluyeran en sus objetivos la evaluación o revisión de las patologías de salmones y otras especies de peces, así como también programas de vigilancia de patologías. Los resúmenes de los proyectos analizados se presentan en el Anexo III.

➤ **Análisis de la Información revisada**

De la revisión realizada (Anexo III) es posible establecer que todos los proyectos desarrollados en relación al estado sanitario de los cultivos, tanto de peces como de moluscos, apuntan a mejorar las condiciones sanitarias, ya sea modificando las disposiciones legales para evitar la dispersión de posibles enfermedades, o por aumento del conocimiento de los agentes causales de las enfermedades en los organismos en cultivo y sus métodos de detección. También se identificaron estudios realizados para determinar las enfermedades de la fauna acompañante debido a su posible papel de vector, además del desarrollo de un programa de alerta temprana y detección de puntos críticos en la introducción de enfermedades a través de la importación de subproductos vivos y en la operación de embarcaciones como wellboat.

De los trabajos revisados, seis (6/9, 67%) apuntan fundamentalmente a la labor de prevención, destacándose el análisis de riesgos de entrada de enfermedades por importación de ovas y riesgos de dispersión por uso de embarcaciones. Dos de los estudios apuntan a la caracterización de los sistemas en uso (técnicas y tratamiento de efluentes); en ese mismo sentido, se circunscribe la caracterización de la acuicultura de pequeña escala. Las enfermedades de mayor relevancia mencionadas en los trabajos FIP revisados corresponden a SRS, IPN, Caligidosis e ISA.

3.1.1.2. Publicaciones Científicas

Para dar cumplimiento a lo establecido en la Propuesta Técnica, en primer lugar se procedió a la búsqueda de publicaciones de circulación internacional disponibles a través de buscadores proporcionados por el servicio de Biblioteca de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (Tabla 14).

Para recopilar información relativa a los patógenos de importancia a nivel nacional; se utilizaron palabras claves como: epidemiología, patologías, mortalidad, patógenos en salmones, nuevos patógenos, Anemia Infecciosa del Salmón, ISA, BKD, patógenos emergentes y Ameba, mientras que para ubicar información relativa a patologías en salmones a nivel internacional, se utilizaron palabras claves como: salmon pathologies, Infectious salmon Anemia, ISAV, Epizootic haematopoietic necrosis, Viral haemorrhagic septicaemia, Piscirickettsiosis, health status, fish virus y fish bacteria.

Tabla 14 Buscadores de Revistas Científicas disponibles en la Biblioteca de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Buscadores	Detalle
First Search OCLC	80 bases de datos referenciales. Abarca todas las áreas del conocimiento y almacena más de 250.000.000 registros.
SCIELO	Colección de revistas científicas de Latinoamérica y España (Proyecto Conicyt).
Inside British Library	Acceso a publicaciones periódicas y conferencias disponibles en bibliotecas británicas. Abarca todas las áreas del conocimiento.
Journal online	Base de datos que contiene una amplia gama de revistas científicas.

Buscadores	Detalle
PUBMED	Base de datos de revistas médicas (Acceso a técnicas de diagnóstico).
Science Direct de Elsevier	Base de Datos que contiene una amplia gama de literatura científica, técnica y médica.
ProQuest	Servicio online con acceso a miles de revistas y diarios.
Papers de Investigación	Servicio electrónico que contiene publicaciones en física, matemáticas, ciencias e informática, perteneciente a Cornell University.

Una vez ubicadas las publicaciones, se procedió a revisarlas y analizarlas. Con la información obtenida a partir de esta revisión, se construyó, para cada enfermedad o agente infeccioso, una tabla donde se identifica título, autor y año de la publicación, además de un resumen del artículo, las que son presentadas en el Anexo IV.

➤ **Análisis de la Información revisada sobre virus ISA**

De la literatura analizada (Tabla 36, Anexo IV) es posible observar que, desde la aparición del virus ISA en Noruega el año 1984, existe consenso en que se trata de un patógeno con graves consecuencias para la acuicultura. Hasta ahora, se ha logrado caracterizar el agente, y además incrementar los conocimientos del mismo.

Desde el comienzo en el estudio de la Anemia Infecciosa del Salmón se detectó la participación de los parásitos externos en la epidemiología de la enfermedad, estableciendo que el virus ISA se manifiesta como infección secundaria después que los ectoparásitos han quebrantado la barrera tegumentaria de la piel del salmón (Nylund *et al.*, 1994). La transmisión del virus ISA se puede dar por contacto directo entre un pez infectado y uno sano, vía ectoparásitos transferidos entre individuos o por contaminación de aguas infectadas con materiales orgánicos (Nylund *et al.*, 1994). En un primer momento, se observó que al inocular virus ISA proveniente de la mucosidad de la piel, heces y orina no causaba la enfermedad y el portal más probable de acceso para el virus en los peces sería a través de las branquias (Totland *et al.*, 1996); posteriormente, se probó que el virus es transmitido vía fecas, sangre y mucus obtenidos desde salmones infectados con virus ISA. Algunos trabajos se refieren al papel del piojo en la transmisión del virus, debido a que

estos parásitos generan estrés, debilitando el sistema inmunológico (Rolland & Nylund, 1998, Devold *et al.*, 2000). Entre los vectores involucrados en la transmisión del virus están los well-boats asociados con la transferencia de peces vivos para la smoltificación en agua de mar (Stagg *et al.*, 2001).

Se encontraron hatcheries infectados con virus ISA en Noruega, lo que sugiere que puede haber reservorios naturales del virus en agua dulce, y que este tipo de enfermedad podría ser transmitida desde un pez afectado a las ovas fertilizadas (Nylund *et al.*, 1999), pero en ensayos usando PCR, destinados a probar esta hipótesis, no se detectó la presencia del virus. Por ende se determinó que el virus ISA no se transmitía a las ovas (Melville & Griffiths, 1999).

La liberación de las partículas virales ocurre por gemación, existiendo una importante conexión entre el virus y la membrana plasmática de las células infectadas (Dannevig *et al.*, 1995). El virus ISA, es capaz de replicarse en tres tipos de células: las células endoteliales, células del endocardio y los leucocitos polimorfonucleados, siendo éstos las probables células blanco de la infección (Nylund *et al.*, 1996, Gattuso *et al.*, 2002).

La enfermedad tiene efectos sobre los niveles de glutatión en el hígado (Hjeltnes *et al.*, 1992), dificultando la respuesta inmunogénica del organismo. Por otro lado, se comprobó la respuesta inmune protectora contra ISAv, obteniendo el antisuero de peces recuperados de la enfermedad e inoculado en peces sanos que fueron desafiados con el virus ISA, demostrando que les confería una protección parcial (Falk & Dannevig, 1995).

Para establecer el posible origen de la infección, se tomaron muestras en peces silvestres, quedando en evidencia que los peces silvestres que presentaron el virus, se encontraban en cercanías de pisciculturas infectadas, no logrando asociar la enfermedad a peces silvestres (Raynard *et al.*, 2000).

Entre los avances para perfeccionar los métodos de diagnóstico se destaca la producción y caracterización de un anticuerpo monoclonal (MAb) contra el virus ISA con buena reactividad probablemente ante un epítipo conformacional, lo que lo hace apropiado para el desarrollo de pruebas de diagnóstico (Falk *et al.*, 1998). Asimismo, se han

desarrollado líneas celulares más adecuadas para cultivar el virus como TO (Wergeland & Jakobsen, 2001) y SHK (Dannevig *et al.*, 1995).

Entre las medidas de mitigación recomendadas está el minimizar el riesgo de la transmisión a través del agua de mar acortando el tiempo entre la detección del ISA y la eliminación de sitios positivos y trabajar a una distancia de 5 km como mínimo entre centros de cultivo (Jarp & Karlsen, 1997). También se han estado desarrollando métodos de diagnóstico más sensibles, tales como la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) (Bouchard *et al.*, 1999; Nylund *et al.*, 1999, Devold *et al.*, 2000, Ritchie *et al.*, 2001), ELISA el cual permitiría detectar la eficacia de las vacunas en los smolts (Kibenge *et al.*, 2002), además del método SYBR Green RT-PCR tiempo real, el cual permite resultados de mayor sensibilidad para la detección de las distintas cepas de ISAv (Munir, 2006).

➤ **Análisis de la Información revisada sobre SRS**

De la revisión realizada (Tabla 37, Anexo IV) es posible determinar que a partir del año 1992, cuando fue publicado el primer trabajo luego de detectar un nuevo patógeno que afectaba los salmones en cultivo, se ha producido numerosa información sobre *Piscirickettsia salmonis*. El patógeno se ha dispersado en varios países productores de salmones en cultivo. La bacteria suele encontrarse dentro de la membrana plasmática de las vacuolas de las células del huésped donde realiza su replicación. En los primeros años las publicaciones estuvieron enfocadas en el brote en Chile, hasta que estudios señalaron que el patógeno se encontraba también en otras latitudes. Se describió la epidemiología, patología y las características histopatológicas del brote de SRS en Noruega, se determinó también que el papel del piojo marino en la transmisión de esta enfermedad era mínimo (Olsen *et al.*, 1997). Se observó que el organismo rickettsial podía infectar una amplia variedad de células (Almendras & Fuentealba, 1997), afectar un amplio rango de hospederos y amplio rango geográfico tanto en agua dulce como en agua de mar (Fryer & Mauel, 1997).

Se estimó el grado de virulencia de las cepas aisladas; en orden decreciente se puede señalar la de Chile (LF-89), British Columbia, Canadá (ATL-4-91) y Noruega (NOR-92),

(House *et al.*, 1999). Investigando la puerta de entrada para el patógeno *P. salmonis* por medio de infecciones experimentales, se observó que esta bacteria podía penetrar el epitelio branquial y que la vía oral tiene poca importancia por el pH que inactivarían la bacteria (Smith *et al.*, 1999). Del análisis genético de diferentes aislados tanto de agua dulce como marina y diferentes lugares de origen, se puede apreciar una homogeneidad genética entre si, evidenciando además que la cepa LF-89 presentaba un alto porcentaje de mortalidad, siendo identificada como la más virulenta (Heath *et al.*, 2000). La transmisión del agente es probablemente vía vertical y algunos de los peces eliminaban la bacteria vía fecas actuando como portadores asintomáticos de *P. salmonis* (Larenas *et al.*, 2005).

En cuanto a los métodos de diagnóstico, fue desarrollado un test de ELISA para tejidos de peces, el que podría reemplazar la inmunofluorescencia como técnica padrón (Aguayo *et al.*, 2002). Asimismo, se utilizó una secuencia genética del patógeno a modo de vacuna. Ésta “vacuna experimental” presentaba protección para los peces ya que los niveles de mortalidad fueron bajos, la carga bacteriana disminuyó y se encontró la presencia de inmunoglobulina M (IgM) anti *P. salmonis* (Miquel *et al.*, 2003).

➤ **Análisis de la Información revisada sobre Caligus spp.**

De la revisión realizada (Tabla 38, Anexo IV) es posible observar que en el 2004, Stewart *et al.*, analizaron la literatura descrita hasta entonces relacionada con el impacto parasítico de los copépodos en la acuicultura marina, determinando que causan un alto impacto especialmente por el estrés que provocan en los peces en cultivo, los que son atacados por variadas enfermedades secundarias como la necrosis pancreática, la enfermedad bacterial del riñón y la septicemia rickettsial, dada las menores defensas derivadas por el estrés. Cáligus provoca altas mortalidades en salmónidos de cultivo y afecta de manera negativa el crecimiento, fecundidad y supervivencia de los peces silvestres.

De la recopilación de trabajos nacionales acerca de copépodos o parásitos externos en cultivos de peces se puede ver, en líneas generales, que la especie más afectada es trucha (*O. mykiss*), el parásito más abundante es *Caligus rogercresseyi* y el tratamiento aceptado

para éste es benzoato emamectina. Estudios realizados en las especies nativas que se encuentran cercanas a las balsas jaulas, para ver su papel como posibles reservorios de estos parásitos, indicaron que las especies que se encontraban con más frecuencia alrededor de las balsas jaulas eran *Eleginops maclovinus* (róbalo) y *Odontesthes regia* (pejerrey de mar), las cuales eran parasitadas por hasta cuatro ectoparásitos diferentes, entre ellos Cáligus y *Lepeophtheirus* (Carvajal *et al.*, 1998) estas especies serían la principal fuente de transmisión de Cáligus en los salmones (Sepúlveda *et al.*, 2004, Bravo *et al.*, 2006).

En los primeros estudios acerca de copépodos o parásitos externos en cultivos de peces en el país, se identificaron las especies que se encuentran corrientemente en los salmones de cultivo, incluyendo a *Caligus spp.* y *Ceratothoa gaudichaudi* entre otros. Se analiza también la susceptibilidad de las distintas especies de peces en cultivo a Cáligus, encontrándose en mayor cantidad en trucha arcoiris mientras que salmón coho y Atlántico fueron más resistentes a este parásito (González *et al.*, 1997, González *et al.*, 2000). Las estaciones donde se presentaban los niveles fuertes de infección eran verano, otoño y primavera. Se determinó el ciclo de vida del parásito infectando con hembras ovígeras a trucha arcoiris mantenidas bajo condiciones de laboratorio. Se identificaron ocho estados en el ciclo de vida de *C. rogercresseyi*, los cuales fueron: 2 nauplius, 1 copepodito, 4 chalimus y 1 adulto. Los tres primeros estados son planctónicos mientras que los otros 5 son parasíticos (González y Carvajal, 2003).

En cuanto a los métodos de mitigación de la parasitosis, se trató de encontrar posibles especies para un control biológico del parásito Cáligus, siendo hasta ahora descartadas algunas especies como el gusano *Udonella sp.* (Monogenea), el cual sería simplemente un comensal de Cáligus (Carvajal *et al.*, 2001, Marín *et al.*, 2002). Asimismo se evaluó la sensibilidad de *Caligus rogercresseyi* al benzoato emamectina, el cual es utilizado como control de éstos en los centros de cultivo marinos, encontrándose una pérdida aparente de la sensibilidad de estos parásitos al benzoato emamectina, que podría ser debido al constante uso de este químico para control del piojo durante periodos prolongados creando resistencia al mismo (Bravo *et al.*, 2008).

Se concluyó que la presencia de *C. rogercresseyi* está influenciada por los gradientes de salinidad, detectando que por debajo de 15‰ reduce la incubación y

desarrollo de los nauplius. La salinidad es el principal parámetro que influye en la prevalencia y abundancia de *C. rogercresseyi*. La temperatura también afecta la abundancia de Cálignos ya que disminuye en los meses de invierno (Bravo *et al.*, 2008, Bravo *et al.*, 2009).

➤ **Análisis de la Información revisada sobre *N. perurans***

De la revisión bibliográfica realizada (Tabla 39, Anexo IV) fue posible concluir que se detectó por primera vez una enfermedad causada por ameba causante de enfermedad en peces en España, específicamente *Paramoeba sp.* en turbot, (Dyková *et al.*, 1998); posteriormente fue detectada una nueva especie de ameba que afecta peces de cultivo (*Salmo salar*) en Australia, la que fue identificada como *Neoparamoeba perurans*. A partir de entonces se ha generado una serie de artículos destinados a caracterizar el agente patógeno de los salmones en Australia, así como la caracterización de la enfermedad de acuerdo al tipo de lesiones y su distribución en los peces afectados. Se encontró que en la región dorsal de los filamentos branquiales, la severidad patológica de las lesiones era mayor, en relación a las encontradas en la parte ventral de estos filamentos. También se describió la histopatología de la enfermedad de la ameba en las branquias.

Posteriormente, se han realizado estudios epidemiológicos de la enfermedad, destacándose que el incremento de las lesiones coincide con la interrupción haloclina e incremento en la temperatura del agua en las balsas jaulas (Adams & Nowak, 2003). Las lesiones comienzan a aparecer doce horas después de la exposición al patógeno. Se evaluó el efecto de tratamientos con baños de agua dulce, concluyendo que la reinfección era evidente dos semanas después del baño, la patogénesis durante este periodo fue idéntica a la patogénesis de la infección inicial. (Adams & Nowak, 2004b).

Del mismo modo se intentó encontrar los reservorios naturales de la ameba, buscando en la fauna silvestre que rodea las balsas jaulas y además en los sedimentos marinos. *N. perurans* fue detectada en todos los sitios y en 50% de todas las muestras de sedimento tomadas. En la fauna acompañante se encontró una serie de parásitos como tricodina, tremátodos, metacercaria entre otros, mientras que en los salmones (*Salmo salar*)

muestreados durante el mismo periodo desde los centros de cultivo, las branquias sólo se vieron afectadas por la ameba y otros isópodos (Nowak *et al.*, 2004).

Se evaluaron métodos de diagnóstico para detectar *N. perurans* destacando la técnica PCR por ser altamente sensible y específica (Young *et al.*, 2008).

➤ **Conclusiones de la revisión bibliográfica**

En general y como resultado del análisis de la literatura, se advierte una abundancia de estudios del virus ISA en relación a los otros patógenos, probablemente debido al impacto que ha tenido esta enfermedad en cultivos de salmones, lo que ha obligado a examinar las técnicas de trabajo para el diagnóstico y a profundizar en las buenas prácticas de manejo, ya que los tratamientos y vacunas no otorgan la seguridad deseada y acarrear un gasto elevado en la producción, por ésto, la labor preventiva se hace fundamental. La presencia de Cáligus en los cultivos está probablemente relacionada a la dispersión de ISA, patógeno que es favorecido por el deterioro en el sistema inmunológico debido al estrés generado por los ectoparásitos.

El patógeno de más reciente aparición en cultivos de salmones es la ameba, la cual comenzó a causar mortalidades en Australia en la década del 2000 y ha sido encontrada recientemente en los cultivos en Chile. Se está estudiando su real importancia en el estado sanitario de los salmónidos cultivados en el país.

Respecto a *P. salmonis*, el grueso de los estudios se produjo entre los años 1997 y 2002, observando una disminución en los últimos años. Una de las razones podría ser atribuida a la aparición de la anemia infecciosa, la cual restó atención y recursos para el estudio de otros patógenos, ya que por ser una enfermedad viral presenta mayores riesgos para la samonicultura.

3.1.1.3. Revisión de la normativa nacional e internacional acerca de enfermedades de alto riesgo en la salmonicultura

Para realizar el análisis comparativo entre la normativa e institucionalidad nacional e internacional en lo referente a las enfermedades de alto riesgo en la salmonicultura, se procedió a revisar las páginas Web, informes técnicos y literatura especializada. De dicha revisión se logró, en una primera etapa, identificar aquellos países productores de salmón en el mundo; la cual dio como resultado un total de 12 países: Australia, Canadá, Las Islas Faroe, Francia, Irlanda, Islandia, Noruega, Escocia, Estados Unidos, Japón, Nueva Zelanda y Chile. Además, se consideró la información científica disponible y accesible mediante códigos de conducta, informes técnicos y otras publicaciones especializadas de organizaciones internacionales líderes en el manejo de patógenos en el mundo, como por ejemplo la OIE, FAO e ICES, con énfasis en tratados internacionales o regionales, así como en las legislaciones y regulaciones de los distintos países.

Para el análisis comparativo se construyó matrices con descriptores que permiten la caracterización de la institucionalidad y legislación, los cuales se utilizan como variables de análisis de las similitudes o diferencias entre la situación nacional y la experiencia internacional.

De este modo, se utilizan los siguientes descriptores:

- (i) **Objetivo:** se refiere a la función que cumple la institución o legislación respecto a las enfermedades de alto riesgo.
- (ii) **Ambito:** corresponde al espacio de acción en el que la institución o legislación se mueve respecto a dichas enfermedades.
- (iii) **Atribución:** corresponde a la facultad o poder de la institución o legislación respecto de su accionar en relación a las enfermedades de alto riesgo.
- (iv) **Estructura:** corresponde a la estructura formal que se ha dado a la instancia o mecanismo en la institución o legislación para su actuar.
- (v) **Funcionamiento:** corresponde a una descripción del proceso general de funcionamiento de la instancia o mecanismo en la institucionalidad o legislación en el ejercicio de su rol en relación a las enfermedades de alto riesgo.

Las líneas centrales de este análisis se sistematizan en tablas (Anexos V y VI) y a partir de éstas se realiza una síntesis analítica.

3.1.1.3.1. Marco Institucional.

- **Comparación entre países**

Dada la escasa información disponible relacionada con países como Japón, Escocia y Las Islas Faroe, resultó difícil su inclusión en el análisis, por tal motivo, se procedió a considerar sólo 8 de los 12 países descritos en el punto 3.1.1.3. de este documento. La información obtenida de la comparación de las distintas variables de la institucionalidad son presentadas en Tabla 41, Anexo V.

Al realizar un análisis de la información obtenida, permite determinar que el **Objetivo** que cumplen las instituciones en los diferentes países está principalmente enfocado a establecer los requisitos y procedimientos para el desarrollo de la actividad pesquera y acuícola. En algunos países las instituciones que norman y las que fiscalizan corresponden a ministerios específicos apoyados por agencias gubernamentales con tareas específicas en el tema de la sanidad animal. Este es el caso de Estados Unidos y Noruega, donde el Ministerio de Pesquerías o la APHIS tienen un rol fundamental durante todo el proceso. En otros casos dichas instituciones dependen o fueron creadas a partir de un ministerio relacionado con el área pesquera. En Chile, tanto la entidad que norma como la que fiscaliza están relacionadas con el Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; en Estados Unidos el Servicio Nacional de Pesquerías de NOAA depende del Ministerio de Comercio y el MAF Biosecurity de Nueva Zelanda depende del Ministerio de Agricultura, Pesquerías y Bosques. Por otro lado, el resto de los países presenta departamentos o ministerios independientes, que actúan como autoridad máxima o único responsable de las decisiones y normativas asociadas al tema sanitario, quienes son generalmente apoyados por comités especializados o autoridades regionales convocados para tales casos.

En todos los países, las instituciones se preocupan de velar por el desarrollo sustentable de la actividad, prevenir el ingreso de patógenos a través de la importación, implementar normas, políticas y procedimientos, el seguimiento o control de enfermedades

y conservar y proteger el medioambiente. Al momento de considerar el seguimiento o control de alguna enfermedad, tanto en Chile como en Noruega, Estados Unidos, Canadá y Nueva Zelanda es posible identificar la institución que tiene esta tarea claramente asignada, en tanto que en el resto de los países analizados estaría a cargo de comités especialmente creados para tales casos.

En cuanto al **ámbito de acción** es posible observar que la institución a cargo de normar, se encarga principalmente de regular los procedimientos y requisitos para mantener la sustentabilidad de la actividad y del desarrollo de investigaciones en relación a protección de la salud de las especies y del medioambiente. Las entidades fiscalizadoras, por otro lado, se preocupan de las inspecciones, certificaciones y aseguramiento del bienestar de las especies, la población y el medioambiente.

De la revisión de las **Atribuciones en relación a la sanidad pesquera y/o acuícola** es posible determinar que en todos los países las instituciones se encargan del desarrollo de estrategias o planes destinados a mantener, manejar o verificar las condiciones sanitarias de los animales acuáticos, desarrollando además normativas, leyes, reglamentos o programas específicos de enfermedades de peces.

Finalmente, en el caso de la **estructura y funcionamiento** se puede determinar que el número de instituciones involucradas varía entre 2 y 5, su funcionamiento es principalmente secuencial en el proceso de vigilancia o control de enfermedades de especies acuáticas. En la mayoría de los casos, las decisiones o procesos asociados a este tema es apoyado por comités, o instituciones regionales o provinciales.

- **Comparación entre organizaciones internacionales**

Dentro de las organizaciones se incluyó a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) organización directamente relacionada con el área de la sanidad animal y otras que no participan directamente del tema, pero representan instituciones con las que Chile participa en forma activa (Anexo V).

La información presentada en la Tabla 42, Anexo V, permite establecer que en términos de los **Objetivos**, la OIE se encarga principalmente de reunir información respecto de las enfermedades y proponer métodos de diagnóstico y prevención para sus

países miembros y asociados. Las otras dos organizaciones, en cambio, no incluyen a las enfermedades animales como un problema específico, sino más bien tratan el tema ante la iniciativa de alguno de sus miembros y a través de grupos de trabajo o documentos oficiales. Ambas instituciones consideran como base las directrices emanadas de la OIE.

En cuanto a los **ámbitos de acción**, todas las organizaciones proporcionan asesoramiento técnico a sus países asociados, lo que es apoyado con la elaboración de documentos de referencia. Sin embargo, sólo la OIE entrega referencias veterinarias y medidas sanitarias y fitosanitarias.

Respecto a las **atribuciones en relación a la sanidad pesquera y/o acuícola**, la OIE entrega a sus miembros directrices y pautas para el diagnóstico y vigilancia de enfermedades de organismos acuáticos (Código Sanitario para Animales Acuáticos y Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos), además incluye comisiones y equipos de trabajo permanentes en el tema. Por el contrario, FAO y APEC no trabajan continuamente en el tema y entregan algunas pautas básicas a través de algunos documentos.

La **estructura y funcionamiento** de estas organizaciones está basada en el trabajo de departamentos, comisiones o equipos, en los cuales se tratan áreas de distinta índole, con labores específicas en algunos temas en particular. Las organizaciones están encabezadas por una comisión o grupo superior que se encarga de supervisar el trabajo de las comisiones, comités, equipos, etc. Normalmente, dichos grupos superiores están conformados por representantes de los países miembros elegidos en sesiones de la organización.

3.1.1.3.2. Marco Legal

Para comparar los países seleccionados en términos de su legislación y regulaciones aplicables a la sanidad pesquera y/o acuícola, se procedió a considerar las siguientes variables: Objetivos y Ambito, Mecanismos e instrumentos, e Instituciones. (Anexo VI).

De la información analizada respecto a los **Objetivos y ámbitos**, es posible establecer que las leyes y reglamentos de los países analizados establecen el rol de las instituciones involucradas, principalmente las que dependen directamente de ministerios o

agencias gubernamentales. Además, se definen los procedimientos a seguir para minimizar el riesgo de introducción o diseminación de enfermedades de animales acuáticos.

En lo relativo a los **mecanismos e instrumentos**, en todos los países las leyes o normas entregan pautas y procedimientos para la inspección, monitoreo o vigilancia y/o erradicación de enfermedades u organismos indeseados.

Las **Instituciones** que se encargan de los temas de seguridad de los organismos acuáticos, corresponden a ministerios o agencias gubernamentales afines al tema, apoyadas en la mayoría de los casos por otros ministerios, agencias o servicios y autoridades provinciales y regionales que dependen de éstos. Los organismos que se encargan de estos temas aparecen explícitamente señalados en la normativa.

3.1.2. Ejecución de campañas de muestreos para la detección y cuantificación de los patógenos relevantes en *Caligus spp.* y moluscos bivalvos.

Por las razones expuestas en el punto 2.1.2.1. y a los constantes cierres de puertos, la primera campaña se extendió desde el 26 de agosto al 2 de octubre del 2009, mientras que la segunda se efectuó entre el 25 de mayo y el 8 de junio del 2010.

Las Tablas 15 y 16 resumen los resultados obtenidos en la primera y segunda campaña de muestreo, respectivamente, además de la Zona, Sector, Empresa, Tipo de muestra, Fecha, especie de salmónidos en cultivo y su categoría para ISAv y presencia de SRS en el momento en que se realizó el muestreo.

Tabla 15 Resumen Primera Campaña de Muestreo.

ZONA	SECTOR	Especie en Cultivo	TIPO DE MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	Categoría para ISA	SRS
I	Loncochalgua	<i>S. salar</i>	Cáligus (plancton)	26-08-2009	Sospechoso	*
			Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)	27-08-2009		
	Quillaipe		Cáligus (plancton)	31-08-2009	Sospechoso	*
			Moluscos (fouling)			

	Pocoihuen Alto		Cáligus (plancton)	01-09-2009	Sospechoso	*	
			Moluscos (fouling)				
	San Francisco			<i>Caligus</i> (plancton)	23-09-2009	Sospechoso	*
				Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)			
	Marisur			Cáligus (plancton)	24-09-2009	Sospechoso	Positivo
Canal Cholgo, Hornopirén		Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)					
Bahía Quillaie	<i>Mytilus chilensis</i>	Moluscos (centro de cultivo)	30-09-2009				
II	Manao	<i>S. salar</i>	Cáligus (plancton)	02-09-2009	Sospechoso	*	
			Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)				
	Puqueldón		Cáligus (plancton)	03-09-2009	Sospechoso	*	
			Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)				
	Camahué		Cáligus (plancton)	03-09-2009	Sospechoso	*	
Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)							
Puqueldón	<i>Mytilus chilensis</i>	Moluscos (centro de cultivo)	02-10-2009				
III	Macetero	<i>O. mykiss</i>	<i>Caligus</i> (plancton)	28-09-2009	Libre	Positivo	
			Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)				
	Jacaff		Cáligus (plancton)	29-09-2009	Libre	Positivo	
			Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)				

*Sin informar

Tabla 16 Resumen Segunda Campaña de Muestreo.

ZONA	SECTOR	Especie en cultivo	TIPO DE MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	Categoría para ISA	SRS
I	Calbuco (Chidguapi 2)	<i>S. salar</i>	Cáligus (plancton) Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling) Organos de Peces	02-06-2010	Saliente Descanso	Positivo
	Calbuco (Chidguapi 3)	<i>O. mykiss</i>	Cáligus (plancton) Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling) Organos de Peces	04-06-2010		*
	Calbuco (Chidguapi 4)		Cáligus (plancton) Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)	05-06-2010		*
	Calbuco (Chidguapi 5)		Cáligus (plancton) Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling) Organos de Peces	07-06-2010		Positivo
	Calbuco (Pilolcura)		Cáligus (plancton) Cáligus (desde peces) Moluscos (fouling)	08-06-2010		Positivo
	Calbuco Chidguapi		<i>Mytilus chilensis</i>	Moluscos (centro de cultivo)		02-06-2010
Moluscos (centro de cultivo)		04-06-2010				
III	Fiordo Cupquellan (Isla Mentirosa 1)	<i>S. salar</i>	Cáligus (plancton) Moluscos (fouling) Órganos de peces	29-05-2010	Sospechoso HPRO	Positivo
	Fiordo Cupquellan (Isla Mentirosa 2)		Cáligus (plancton) Moluscos (fouling) Órganos de peces	29-05-2010		Positivo
	Fiordo Cupquellan (Isla mntirosa 3)		Cáligus (plancton) Moluscos (fouling) Órganos de peces	29-05-2010		Positivo
	Fiordo Cupquellan (Isla Ballena)		Cáligus plancton) Moluscos (fouling) Órganos de peces	30-05-2010		Positivo
IV	Paso Vattuone	<i>S. salar</i>	Moluscos (fouling)	25-05-2010	Sospechoso	*

*Sin informar

3.1.2.1. Análisis de Cáligus

Durante el primer muestreo, 7 de los 10 centros de cultivo salmones se encontraban en la categoría de sospechosos para virus ISA y en el segundo muestreo, de los 10 centros de salmones sólo uno estaba en esta categoría, aunque en la zona en donde no se presenta el Cáligus (ver Tabla 20). De todos los Cáligus obtenidos de los peces provenientes de centros sospechosos de virus ISA, se detectó presencia del virus en los copépodos en el 29% (2/7) de los centros del primer muestreo con una prevalencia de 16% (17/105) respecto del total de los pools analizados. En el segundo muestreo no se detectaron Cáligus positivos debido principalmente a que ninguno de los centros se encontraban en la categoría de sospechoso para este patógeno, y en el único centro sospechoso no se observaron copépodos en los peces. En el caso de *P. salmonis* en Cáligus, en el primer muestreo en ningún centro de la zona I y zona III se presentaron casos positivos, en tanto que en la zona II dos centros de 4 muestreados presentaron el patógeno bacteriano en una prevalencia de 8,3% respecto al total de los pools de esa zona. En tanto, durante el segundo muestreo en la zona I se encontraron dos centros positivos de los 4 muestreados con una prevalencia de 43% respecto al total de pools de esa zona, por otro lado en la zona III sólo se obtuvo el ectoparásito desde un centro, el que mostró dos pools positivos para *P. salmonis* de 10 analizados, en tanto que el resto de los centros no mostraron presencia del ectoparásito (Tabla 17).

3.1.2.2. Análisis de Plancton

Durante el primer muestreo se obtuvo un mayor número de muestras debido a la mayor abundancia de plancton, por tratarse de la estación de primavera y porque la mayor parte de los centros muestreados correspondieron a las zonas I y II (de menor latitud). El segundo muestreo se realizó en invierno y la mitad de los centros muestreados pertenecían a las zonas más australes (III y IV), lo que explica la escasez de biomasa planctónica, por lo tanto la cantidad de plancton obtenido fue insuficiente para realizar todos los análisis requeridos. En ninguna de las muestras obtenidas en ambos muestreos se registraron casos

positivos para presencia de ISAv en plancton. En el caso de presencia de la bacteria *P. salmonis* todas las muestras del primer muestreo resultaron negativas, en cambio en el segundo muestreo se registran casos positivos en tres centros de la zona I y en uno de los dos centros en los que se pudo obtener muestras de la zona III (Tabla 17).

En ambas campañas de muestreo, no se observan los estadíos tempranos de *C. rogercreseyii* y las muestras de plancton de las zonas muestreadas en ambas ocasiones estaban constituidas principalmente por microalgas, copépodos, cnidarios y larvas de distintos invertebrados. En anexo VII se presenta el análisis de la composición del plancton para cada una de las zonas estudiadas en ambas campañas de muestreo.

3.1.2.3. Análisis de Fouling

En el caso del virus ISA los resultados indican que en el primer muestreo (agosto-octubre 2009) donde todos los centros de cultivo mantenían *S. salar*, los moluscos que se encontraban en las estructuras de los centros de cultivo no presentaron el virus en ninguna de las tres zonas estudiadas, en cambio en el segundo muestreo (mayo-junio 2010) solamente 2 centros en la zona III se presentan casos positivos para el virus, éstos donde la prevalencia es alrededor del 12% respecto al total de pools analizados de esa zona, ambos centros se encontraban con la cepa no patogénica del virus según datos de Sernapesca. En relación con la presencia de la bacteria *P. salmonis* en los mitilidos del fouling, ésta no se detectó en ningún centro proveniente de la primera campaña de muestreo habiéndose analizado 150 pools del molusco. En tanto en la segunda campaña de muestreo en el mismo número de pools se detectó la bacteria en 75 de ellos (50%) distribuidos en las tres zonas muestreadas en esa oportunidad, solamente un centro de la zona III no mostró presencia de la bacteria (Tabla 17).

3.1.2.4. Centros de cultivo de moluscos

Durante la primera campaña de muestreo se muestrearon dos centros de cultivo de *Mytilus chilensis* que se encontraban en las proximidades de centros de *S. salar* sospechosos de virus ISA, uno de la zona I y otro de la zona II. Las muestras analizadas no presentaron evidencias de contener la bacteria *P. salmonis* ni el virus ISA en sus tejidos. En cambio, en la segunda campaña de muestreo, los dos centros de cultivo de *M. chilensis* muestreados pertenecían a la zona I, ya que no se encontró centros de cultivo de este molusco en las proximidades de los otros centros de salmónidos muestreados. No se detectó la presencia del virus ISA en los dos centros de mitilidos muestreados en esta oportunidad, aunque se destaca la presencia de la bacteria *P. salmonis* en el 83% de los pools analizados (Tabla 18).

Tabla 17 Número de casos positivos para ISA y SRS en muestras de plancton, Cáligus y moluscos del fouling en las 3 zonas respecto del número de pools en ambos muestreos.

MUESTREO	ZONA	SECTOR	ISA			SRS		
			Plancton	Cáligus	Fouling	Plancton	Cáligus	Fouling
1° Agosto- Octubre 2009	I	Loncochagua	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
		Quillaipe	0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15
		Pocoihuen Alto	0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15
		Marisur, Canal Cholgo						
		Hornopiren	0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15
	II	Manao	0/3	5/15	0/15	0/3	0/15	0/15
		Puqueldón	0/6	0/15	0/15	0/6	4/15	0/15
		Camahué	0/6	12/15	0/15	0/6	1/15	0/15
		San Francisco	0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15
	III	Macetero	0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15
Jacaff		0/3	0/15	0/15	0/3	0/15	0/15	
2° Mayo-Junio 2010	I	Calbuco (Chidguapi2)	0/1	0/7	0/15	0/1	0/9	13/15
		Calbuco (Chidguapi 3)	0/2	0/8	0/15	0/2	11/15	9/15
		Calbuco (Chidguapi 4)	0/1	0/13	0/15	1/1	7/15	12/15
		Calbuco (Chidguapi 5)	0/2	0/4	0/15	1/2	0/7	13/15
		Calbuco (Pilolcura)	0/2	0/7	0/15	1/2	0/7	5/15
	III	Fiordo Cupquelan (Isla Mentirosa 1)	SP	SC	2/15	0/1	SC	0/15
		Fiordo Cupquelan (Isla Mentirosa 2)	SP	SC	5/15	1/1	SC	1/15

		Fiordo Cupquelan (Isla mntirosa 3)	SP	SC	0/15	SP	2/10	10/15
		Fiordo Cupquelan (Isla Ballena)	SP	SC	0/15	SP	SC	6/15
	IV	Paso Vatuone	SP	SC	0/15	SP	SC	6/15

SC; sin presencia o insuficientes *Cáligus* en peces
 SP; sin plancton

Tabla 18 Número de casos positivos de ISA y SRS en *Mytilus chilensis* de cultivo por zona durante el primer y segundo muestreo respecto del número pooles.

MUESTREO	ZONA	SECTOR	ISA	SRS
1° Agosto-Octubre 2009	I	Bahía Quillaípe	0/15	0/15
	II	Puqueldón	0/15	0/15
2° Mayo-Junio 2010	I	Calbuco	0/15	15/15
			0/15	10/15

3.1.2.5. Registros satelitales de TSM y clorofila α

3.1.2.5.1. Primera Campaña de Muestreo

Las TSM registradas en los diferentes sectores no presentaron grandes variaciones espaciales, con valores entre de 8,9 °C y 12,03 °C en Loncochalgua y Jacaff-Macetero, respectivamente. Los sectores de Jacaff y Macetero se consideraron como un solo punto de trabajo para los mapas satelitales, dada la cercanía entre éstos. En relación a clorofila α , sólo fue posible obtener imágenes satelitales de los sectores de Manao, Puqueldón y Quillaípe, dadas las condiciones de nubosidad costera presente en el periodo de muestreo, presentando valores que variaron entre 0,5 y 1,10 mg/m³.

En Anexo VIII se encuentran el detalle de la información satelital obtenida durante la primera campaña de muestreo. En la tabla 19 se presenta un resumen de las variables TSM y Clorofila α por sector analizado.

Tabla 19 Temperatura promedio superficial del mar satelital y valores de clorofila α satelitales en la Primera campaña de muestreo entre agosto-septiembre 2009.

Sector	TSM (°C)	Clorofila α (mg/m ³)
Pocoihuen Alto	9,13	-
Camahué	9,89	-
Puqueldón	9,9	0,5
Manao	10,54	1,10
Loncochagua	8,9	-
Quillaipe	10,85	0,54
San Francisco-Marisur	12,03	-
Jacaff-Macetero	10,15	-

3.1.2.5.2. Segunda Campaña de Muestreo

En la segunda campaña de muestreo realizada en junio del 2010, debido a las altas condiciones de nubosidad, no fue posible obtener imagenes satelitales de todas las zonas en estudio. La tabla 20 muestra los registros obtenidos en la zona de Calbuco, mientras que el detalle puede ser observado en el Anexo VIII.

Tabla 20 Temperatura promedio superficial del mar satelital y valores de clorofila α satelitales en la segunda campaña de muestreo en junio del 2010.

Sector	TSM (°C)	Clorofila α (mg/m ³)
Calbuco	10,66	2,49*
Cupquelan	-	-
Paso Vatuone	-	-

*Promedio mensual.

3.1.2.6. Mediciones estacionales *in situ* de las variables ambientales

A continuación, se presentan resultados de monitoreos de características oceanográficas de algunos sectores representativos de la problemática que se está abordando.

3.1.2.6.1. Primera Campaña de Muestreo

Las mediciones *in situ* de las variables ambientales se realizaron en conjunto con la primera campaña de muestreo de especies descrito en el punto 2.1.2.6.2. de este documento. Se realizó un análisis de la información obtenida correspondiente a la temperatura, salinidad y concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, entre la superficie y el fondo de cada estación (CTDO). Los monitoreos se realizaron en los sectores Quillaipe, Hornopirén y Loncolchagua, correspondientes a la zona I, Región de los Lagos Continental (Figura 11), y en los sectores de Puqueldón y Camahué, de la zona II, Región de los Lagos Insular (Figura 12). Debido a problemas operacionales, no fue posible monitorear la zona III.

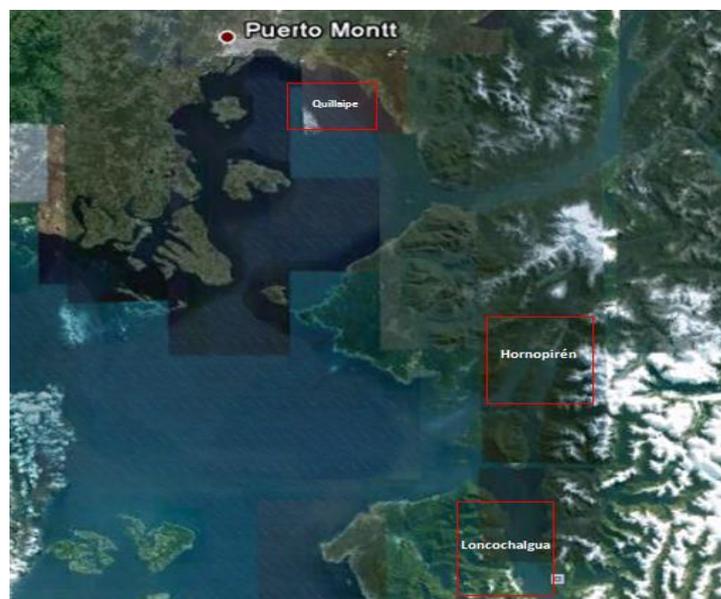


Figura 11 Detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Zona I, Región de los Lagos Continental.



Figura 12 Detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Zona II, Región de Los Lagos Insular.

Los resultados de las variables oceanográficas obtenidas durante la primera campaña de muestreo en las zonas I y II, correspondiente a la Región de los Lagos Continental e insular respectivamente, se presentan en las Tablas 21 y 22.

➤ **Zona I:**

Tabla 21 Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos Continental.

Sector	Profundidad	Temperatura	Salinidad	Oxígeno	
	m	°C	psu	mg/l	Saturación (%)
Quillaipe	0	10,4	28,6	7,6	83
	10	11,25	32	5,8	67
	20	11,23	32,8	4,5	52
Hornopirén	1,1	8,1	27,6	9	83
	11	7,7	28,3	9,1	80
	16	7,7	28,8	9,3	83
	22	7,9	29,3	9,4	86
Loncochalgua	1	8,01	14,19	10,27	94
	5	9,96	29,27	7,96	85

	10	10,16	30,41	7,36	79
	15	10,19	30,57	8,21	89
	20	10,25	30,76	8,17	89

Cada sector de muestreo fue monitoreado hasta los 20-22 m de profundidad. Los resultados indicaron que la temperatura superficial del agua se presentó más cálida en el Sector de Quillaipe (10,4 °C), que en los otros sectores monitoreados, Hornopirén y Loncochagua, con 8,1 °C y 8,01 °C, respectivamente, manteniendo este comportamiento en toda la columna de agua. Se observó además, en los sectores de Quillaipe y Loncochagua un aumento de la temperatura con la profundidad, un proceso anómalo producto principalmente de la baja insolación presente durante la época fría del año.

En cuanto a la salinidad observada, esta presentó variaciones importantes tanto horizontal como verticalmente, donde las salinidades superficiales fluctuaron entre 14,19 psu (Loncochagua) y 28,6 psu (Quillaipe), mientras que en la columna de agua, se detectaron diferencias de hasta 16 psu entre superficie y 10 m de profundidad (Loncochagua), producto principalmente de la influencia de aguas continentales.

La concentración de oxígeno disuelto en superficie, fluctuó entre 7,6 y 10,27 mg/l observándose los menores valores en Quillaipe, consecuente con las mayores temperaturas registradas. Quillaipe además, es el sector que presenta la mayor disminución de los niveles de oxígeno con la profundidad, alcanzando los 4,5 mg/l a los 20 m. El resto de sectores monitoreados presentaron valores relativamente homogéneos con valores sobre 7,4 mg/l y 79% de saturación.

➤ Zona II

En la siguiente tabla, se encuentran tabulados los resultados obtenidos en los monitoreos efectuados en sectores de la Zona II correspondiente a la Región de los Lagos Insular.

Tabla 22 Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos Insular.

Sector	Profundidad	Temperatura	Salinidad	Oxígeno	
	m	°C	psu	mg/l	Saturación (%)
Puqueldón	0	9,8	29,9	7,9	84
	5	9,8	30,1	7,7	83
	10	9,8	30,1	7,7	82
	15	9,8	30,1	7,8	83
	20	9,8	30,1	7,8	84
Camahué	1	10,5	32,7	9	99
	5	10,3	32,7	8,9	97
	10	10,3	32,7	8,7	95
	15	10,2	32,7	8,5	94
	20	10,2	32,7	8,4	92

Los monitoreos realizados en cada sector de esta zona se efectuaron hasta los 20 m de profundidad. Los resultados indicaron que la temperatura superficial se mostró relativamente homogénea, fluctuando entre 9,8 °C y 10,5 °C, en Puqueldón y Camahué, respectivamente. Además se detectó una leve variación vertical de 10,5 a 10,2 °C en Camahué, mientras que en Puqueldón se mantuvo constante en toda la columna de agua.

En cuanto a la salinidad observada, éstas fluctuaron entre los 29,9 y 32,7 psu en Puqueldón y Camahué, respectivamente. En relación a los registros en profundidad, éstos se presentaron prácticamente homogéneos, con valores que variaron entre los 29,9 y 30,1 psu (Puqueldón).

La concentración de oxígeno disuelto en superficie, mostró diferencias leves, con valores entre 7,9 y 9 mg/l en los sectores Puqueldón y Camahué, respectivamente, mientras que los niveles de oxígeno en la columna de agua, se mantuvieron relativamente constantes con valores de saturación por sobre un 82%.

3.1.2.6.2. Segunda Campaña de Muestreo

La caracterización de las condiciones físicas y químicas del agua en las áreas de interés, se efectuó en tres sectores costeros correspondientes cada uno a las 3 regiones

extremas de Chile. El primero corresponde al sector del Canal Chidguapi y Bahía Pilolcura en la Región de Los Lagos Continental (Figura 13), un segundo sector, corresponde al Estero Cupquelan de la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (Figura 14) y finalmente se monitoreó el área denominada Paso Vattuone de la Región de Magallanes y la Antártica Chilena (Figura 15).



Figura 13 Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Los Lagos Continental (Zona I).

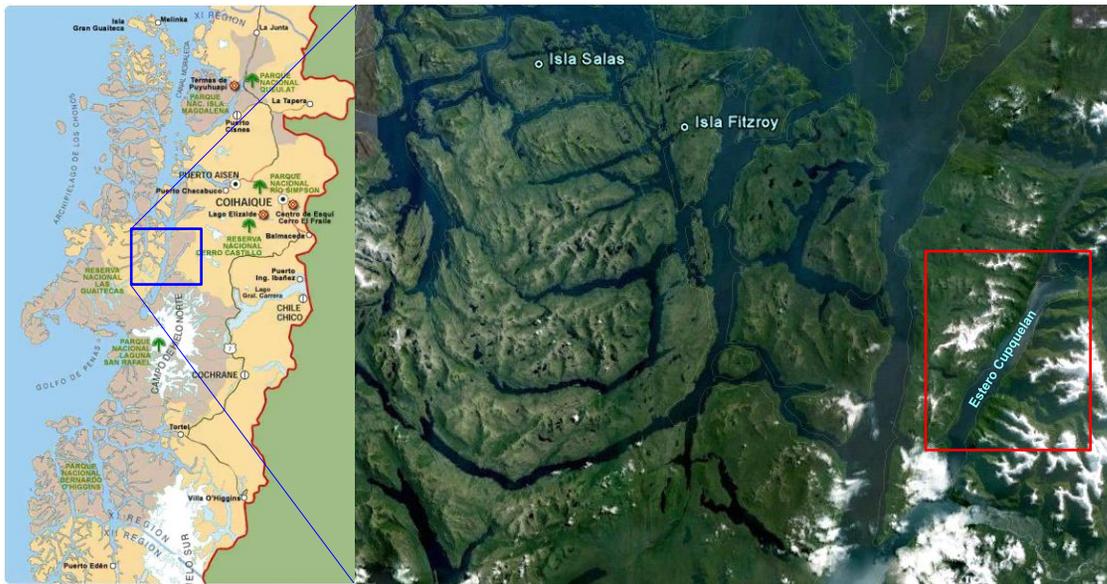


Figura 14 Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (Zona III).



Figura 15 Ubicación general y detalle geográfico del área de estudio correspondiente a la Región de Magallanes y la Antártica Chilena (Zona IV).

Los resultados se presentan en tablas para cada sector monitoreado.

➤ **Zona I**

Un resumen de las variables ambientales registradas en cada uno de los sectores de cultivo se presenta en la Tabla 23.

Tabla 23 Valores de variables oceanográficas en Región de Los Lagos.

Sector	Fecha	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (psu)	Oxígeno (mg/l)	Visibilidad (m)
Calbuco (Chidguapi 2)	01/06/10 AM	Superficie	10,6	NR	8,7	10,8
	01/06/10 PM	Superficie	10,6	NR	8,1	13,5
	02/06/10 AM	Superficie	10,7	NR	8,3	10,8
Calbuco (Chidguapi 4)	07-06-2010	Superficie	10,9	20	8,7	16,2
Calbuco (Chidguapi 5)	01-06-2010	Superficie	10,8	NR	5,7	16,2
	02-06-2010	Superficie	10,8	NR	6,1	14,6
	03-06-2010	Superficie	10,8	NR	6,3	15,7
	04-06-2010	Superficie	10,8	NR	6,2	16,2
	05-06-2010	Superficie	10,8	NR	6,1	17
	06-06-2010	Superficie	10,8	NR	6,1	16,7
Calbuco (Pilolcura)	08-06-2010	1	11,1	NR	8,5	4,5
		3	10,8	NR	8,4	
		5	10,8	NR	8,2	
		7	10,8	NR	7,7	
		10	10,9	NR	6,7	

* NR: no registrada

Los resultados indicaron que para el sector monitoreado, ubicado al SE de la localidad de Calbuco y en las zonas costeras de la Isla Chidguapi (Figura 13), las temperaturas superficiales se presentaron uniformes espacial y temporalmente en la ribera NE de la isla, variando entre 10,6 y 10,9 °C, no percibiéndose mayores diferencias entre sectores. Por otra parte, el sector ubicado en la ribera SW de isla Chidguapi (Pilolcura)

mostró una temperatura levemente mayor, con un valor de 11,1 °C, registro que decreció débilmente con la profundidad.

En cuanto a la salinidad, esta variable presentó problemas que se observaron en el post-proceso de la información recolectada, no obteniéndose valores fiables. Lo anterior podría estar relacionado con el tiempo necesario para la estabilización del sensor del multiparámetro, ya que debido a las desfavorables condiciones de navegación, no se pudo dedicar el tiempo indicado para dicho proceso.

Los valores de oxígeno disuelto en la capa superficial fluctuaron entre 5,7 y 8,7 mg/l, observándose los menores valores en Calbuco (Chidguapi 5), sector en el que la concentración de oxígeno fue aumentando con el tiempo hasta valores de 6,3 mg/l, aumento provocado por el aumento de la intensidad del viento que intensifica el intercambio océano-atmósfera. El resto de sectores monitoreados presentaron valores relativamente homogéneos con valores sobre 8 mg/l. En el punto ubicado cerca de Calbuco (Pilolcura), se observó una disminución del oxígeno con la profundidad, desde de 8,5 mg/l en la superficie hasta 6,7 mg/l a 10 m de profundidad.

Por otra parte, los registros de disco de Secchi indicaron para los sectores del NE de la isla, capas fóticas de 10,8 a 16,2 m de profundidad, valores que variaron durante el día y diariamente, ésto observado en Calbuco (Chidguapi 2), donde la profundidad de incidencia de luz fue mayor en la tarde (13,5 m) por sobre lo observado en las primeras horas de la mañana (10,8 m), producto de la intensidad de luz natural presente al momento de la observación. En el sector de Calbuco (Pilolcura), se observó una capa fótica somera (4,5 m), motivado por la presencia de abundante nubosidad, por lo que la luz se vió notablemente limitada, lo que sumado a la presencia de abundante material particulado en el cuerpo de agua, determinó una baja penetración de la luz.

➤ **Zona III**

En la Tabla 24, se encuentran tabulados los resultados obtenidos en los monitoreos efectuados en centros de cultivo ubicados en el Fiordo Cupuelan.

Por motivos operativos, en la estación Isla Mentirosa 1, sólo se efectuaron mediciones superficiales de las variables ambientales. Pero en cambio, se realizó un

seguimiento diario durante 6 días consecutivos. Las restantes estaciones se monitorearon hasta los 10 m de profundidad. Los resultados indicaron para la temperatura superficial, que ésta se mostró relativamente homogénea, fluctuando entre 8,4 (Isla Mentirosa 3) y 9,72 °C (Isla Mentirosa 1). Se detectó una débil variación diaria en Isla Mentirosa 1, presentándose un mínimo el 30 de mayo (8,87 °C). Por otra parte, en Isla Mentirosa 3 e Isla Ballena se observó una inversión térmica, es decir un aumento de la temperatura con la profundidad, un proceso anómalo producto de las bajas temperaturas ambientales y baja insolación presente durante la época fría del año.

Tabla 24 Valores de variables oceanográficas en Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.

Sector	Fecha	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (psu)	Oxígeno (mg/l)	Visibilidad (m)
Fiordo Cupquelan (Isla Mentirosa 1)	26/05/10	Superficie	9,72	18	7,6	10,8
	27/05/10	Superficie	9,8	17	8,5	13
	28/05/10	Superficie	9,48	19	7,8	12,2
	29/05/10	Superficie	9,7	17	8	10,8
	30/05/10	Superficie	8,87	17	7,8	13,8
	31/05/10	Superficie	9,24	18	8,8	13,5
Fiordo Cupquelan (Isla Mentirosa 2)	01/06/10	1	NR	19	NR	8,1
		5	NR	22	NR	
		10	NR	25	NR	
Fiordo Cupquelan (Isla Mentirosa 3)	01/06/10	1	8,4	15	7,0	4,6
		5	8,7	18	6,8	
		10	8,7	22	6,7	
Fiordo Cupquelan (Isla Ballena)	03/06/10	1	9	22	9,0	4,9
		5	10,1	22	7,4	
		10	10,4	23	7,0	

En cuanto a la salinidad observada, ésta presentó variaciones importantes espacial (horizontal y vertical) y temporalmente (diaria). En lo que se refiere a las variaciones

espaciales, las salinidades superficiales fluctuaron entre 15 psu (Isla Mentirosa 3) y 22 psu (Isla Ballena), mientras que en la vertical, se detectaron diferencias de hasta 7 psu entre superficie y 10 m de profundidad (Isla Mentirosa 3). La variación diaria observada en Isla Mentirosa 1, también fue de importancia, con un mínimo de 17 psu. Estas diferencias, notables para esta variable, serían producto del ingreso de aguas salobres, transportando y “renovando” esta característica de acuerdo a la hora del muestreo, ya que el principal forzante en la zona sur de Chile, es la marea, la que presenta 2 altas y 2 bajas diariamente, con fluctuaciones de hasta 7 m en algunas localidades, por lo que hay agua permanente, ingresando y saliendo, lo que implica diferencias importantes dependiendo del período de marea presente durante el registro de la variable.

La concentración de oxígeno disuelto en superficie, mostró diferencias leves, con valores entre 7 y 9 mg/l en las estaciones Isla Mentirosa 3 e Isla Ballena, respectivamente. En Isla Mentirosa 1, se registraron variaciones diarias de hasta 1 mg/l, producto de la agitación de la columna de agua provocada por el efecto friccional del viento. En la columna de agua se denotó la disminución de la concentración de oxígeno con la profundidad llegando a 6,7 mg/l en Isla Mentirosa 3.

En cuanto a la visibilidad, ésta se presentó con mayor incidencia en Isla Mentirosa 1, variando entre 10,8 y 13,8 m de profundidad de capa fótica. Esta profundidad se vio disminuida en las restantes estaciones, con un mínimo de 4,6 m en Isla Mentirosa 3. Esta disminución se debió a la disminución de la luz natural por la presencia de nubosidad durante los días de observación, además del material particulado presente en los sectores de interés.

➤ **Zona IV**

La Tabla 25 presenta los resultados de mediciones efectuadas al SW de Puerto Natales en el sector de Paso Vattuone.

Tabla 25 Valores de variables oceanográficas en Región de Magallanes y la Antártica Chilena.

Sector	Fecha	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (psu)	Oxígeno (mg/l)	Transparencia (m)
Paso Vattuone	08/06/10	Superficie	6,7	20	NR	2,7

En el sector monitoreado, debido a motivos operacionales, sólo se efectuaron registros superficiales de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto. Los resultados indicaron que la temperatura superficial fue baja (6,7 °C), valor normal para el período del año del muestreo, en el que las temperaturas ambientales son bajas y existe poca insolación.

La salinidad observada fue de 20 psu mientras que la visibilidad, en términos de luz incidente, se observó débil, con una penetración de 2,7 m de profundidad, ésto producto de la poca luz natural presente durante la observación y la alta concentración de material particulado.

3.2. Objetivo 2: Relacionar epidemiológicamente los brotes de virus ISA y otros patógenos relevantes en salmones con la presencia de copépodos y moluscos bivalvos.

3.2.1. Patógenos de salmónidos en la zona de estudio

La información recopilada relativa a este punto y relacionada con los ectoparásitos de peces se incluye en la Tabla 1 de este documento.

Por otro lado, la información recopilada producto de la revisión bibliográfica relativa a moluscos bivalvos como posibles reservorios o vectores y su análisis, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 26 Publicaciones internacionales sobre moluscos bivalvos como reservorios de agentes patógenos.

Nombre publicación	Autor	Resumen	Año
Fate of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in experimentally challenged blue mussels <i>Mytilus edulis</i>	Cecilie K. Skår, Stein Mortensen	Desarrollo de un sistema de bioacumulación experimental para que el mitílido pueda acumular el virus durante el proceso de filtración normal, para así analizar el rol potencial de la especie como vector de ISAV. Los resultados indicaron que ISAV se inactiva rápidamente en los mitílidos, por lo que éstos no serían reservorios probables o vectores del virus.	2007
Detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) from the environment in the vicinity of IPNV-infected Atlantic salmon farms in Scotland	A Gregory, L A Munro, I S Wallace, N Bain and R S Raynard	Estudio sobre el aislamiento de IPNV desde mitílidos, sedimento y aguas superficiales que rodean los centros de cultivo de salmones infectados. Se comprobó que la prevalencia de IPNV en los mitílidos disminuye una vez que el brote decae, lo que indica que son una fuente poco probable de infección en los centros.	2007
Possible vector species and live stages of susceptible species not transmitting disease as regards certain fish diseases.	Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare	Opinión científica sobre especies que actúan como probables vectores y las etapas de vida de las especies de vida en las que no se transmiten las enfermedades. El estudio incluye enfermedades que afectan 3 grupos de animales acuáticos: moluscos, crustáceos y peces. Las conclusiones se centran principalmente en las enfermedades de peces.	2007
Diversity of Infectious Pancreatic Necrosis Virus Strains Isolated from Fish, Shellfish, and Other Reservoirs in Northwestern Spain	J. M. Cutrin,* J. G. Oliveira, J. L. Barja, y C. P. Dopazo	Comparación entre 231 cepas de birnavirus aisladas desde peces, moluscos y otros reservorios durante un estudio realizado en Galicia.	2000
Marine Bivalve Mollusks as Reservoirs of Viral Finfish Pathogens: Significance to Marine and Anadromous Finfish Aquaculture	T. R. Meyers	Estudio sobre virus de peces detectados en tejidos de moluscos y otros que tienen el potencial de presentarse en estas especies. Se establece que los moluscos podrían actuar como reservorios de los virus que afectan a las especies de salmones.	1984
Experimental Pathogenicity of <i>Aeromonas</i> spp. for the Zebra Mussel, <i>Dreissena polymorpha</i>	James S. Maki, Gayatri Patel, Ralph Mitchell	Ejecución de experimentos para determinar si las <i>Aeromonas</i> resultaban patógenas para <i>Dreissena polymorpha</i> . La información sugiere que este mitílido puede actuar como reservorio de la bacteria en los ambientes de agua dulce.	1998
Passage of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) through invertebrates in an aquatic food chain	Stein H. Mortensen	Re-aislamiento de IPNV desde partículas que contenían fecas y pseudofecas del pectínido <i>Pecten maximus</i>	1993
Indigenous bacteria in hemolymph	Olafsen, Jan	Estudio sobre <i>Crassostrea gigas</i> y <i>Modiolus</i>	1993

Nombre publicación	Autor	Resumen	Año
and tissues of marine bivalves at low temperatures	A., Mikkelsen, Helene V., Giaever, Hanne M., Hansen, Geir Hovik	<i>modiolus</i> para determinar la presencia de bacterias. Se observó una gran invasión de bacterias en la hemolinfa y tejidos, los cuales aumentaban a los 4 °C. Se plantea que los bivalvos pueden actuar como reservorios de patógenos de peces a bajas temperaturas.	

De la información analizada es posible establecer que las publicaciones relativas a los moluscos bivalvos como vectores o reservorios de patógenos de alto riesgo, no son numerosas, más aún en el caso del virus ISA. Aparentemente no existen estudios que establezcan el rol de estas especies como vectores o reservorios. Lo anterior se basa en que todos los estudios analizados plantean que los moluscos bivalvos no actúan como vectores de los patógenos de peces, aunque en dos de ellos se indica que sí pueden actuar como reservorios, aunque la prevalencia en los mitilidos disminuye una vez que la infección en los peces decae.

3.2.1.1. Relación patógenos ambiente

Dentro de los antecedentes ambientales y biológicos de la revisión bibliográfica de Cálígus realizada en punto 3.1.1.2. (Tabla 38, Anexo IV) de este documento, se observa que diversos autores sugieren como factores que influyen en la dinámica de infestación por *Caligus* en los peces, tienen relación con las siguientes características ambientales:

- Velocidad del viento
- Profundidad de agua
- Régimen de mareas
- Patrones de circulación de agua
- Temperatura y salinidad

Según Bravo *et al.*, (2009) además de la temperatura que tiene influencia sobre el ciclo de vida de estos parásitos, la salinidad es el principal parámetro que influye en la supervivencia, prevalencia y abundancia, demostrando que en agua dulce los parásitos mueren en 30 minutos.

En los antecedentes recopilados de la enfermedad provocada por virus ISA (Tabla 36, Anexo IV, punto 3.1.1.2.) se menciona que los factores que influyen en la virulencia del virus se encuentran: el estrés causado por la maduración sexual de los peces y la presencia de Cáligus, (Devold, *et al.*, 2000), la baja oxigenación del agua, sedimentos anóxicos del sitio de cultivo y ubicación del centro en profundidades menores a 50 metros. Entre los factores que influyen en la transmisión del virus en los peces se mencionan:

- Presencia de *Caligus rogercresseyi*
- Altas densidades de peces en los cultivos
- Elevado número de balsas por centro
- Escasa rotación y descanso de los sitios

Respecto a la partícula viral Falk *et al.*, (1997) indica que es difícil estimar exactamente cuanto tiempo puede permanecer infeccioso el virus en el medio natural, porque muchos factores pueden influenciar su supervivencia, como la presencia de partículas o sustancias que puedan unirse o inactivarlo, la radiación con luz UV y la temperatura. Los aislados del ISAv (en cultivos celulares) pueden sobrevivir semanas a temperatura baja, pero la capacidad infectiva se pierde en 30 minutos a 56°C (Falk *et al.*, 1997 y Torgersen, 1998).

No obstante lo anterior, la información publicada referente a la influencia de los factores ambientales en la aparición de los brotes de la enfermedad en los peces es escasa.

En cuanto a los factores que influyen en la aparición de la enfermedad SRS provocada por la bacteria *P. salmonis*, en la revisión realizada (Tabla 37, Anexo IV, punto 3.1.1.2.), se encontraron trabajos que relacionan la enfermedad bacteriana con fluctuaciones de la temperatura que ocurrieron en otoño del año 1989, coincidentes con bloom de algas no tóxicas que se presentaron en marzo del mismo año, pero a pesar que las temperaturas se estabilizaron en 12,5 °C y el bloom de algas desapareció, las mortalidades continuaron con máximos, que ocurrieron en mayo a junio del mismo año (hasta un 60% de mortalidad en los centros afectados), disminuyendo posteriormente a niveles normales desde julio a agosto del año siguiente cuando se presentaron nuevamente (Branson y Nieto 1991). Por

otro lado Cvitanich *et al.* (1991) informa que las epizootias ocurren desde abril hasta agosto después de 10 a 12 semanas de la introducción de los smolt en agua de mar y que los brotes comienzan nuevamente desde octubre hasta diciembre.

3.2.2. Antecedentes ambientales en zonas de cultivo de salmones.

Para lograr visualizar la TSM de las áreas de estudio, se procedió a obtener los datos históricos disponibles en el Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile. Se consideró el periodo entre el año 2007 y 2010, debido a que son los años donde la patología ISAv se presenta en los centros de cultivo y los peces presentan las mayores cargas parasitarias por *Caligus spp.*. No fue posible obtener datos de TSM de la Región de Magallanes, ya que sólo se encuentran disponibles hasta el año 2005. En la figura 16 se observa la evolución de los promedios mensuales de temperatura (TSM) entre 2007 y 2010 en Puerto Montt (Región de Los Lagos) y en Puerto Chacabuco (Región de Aysén).

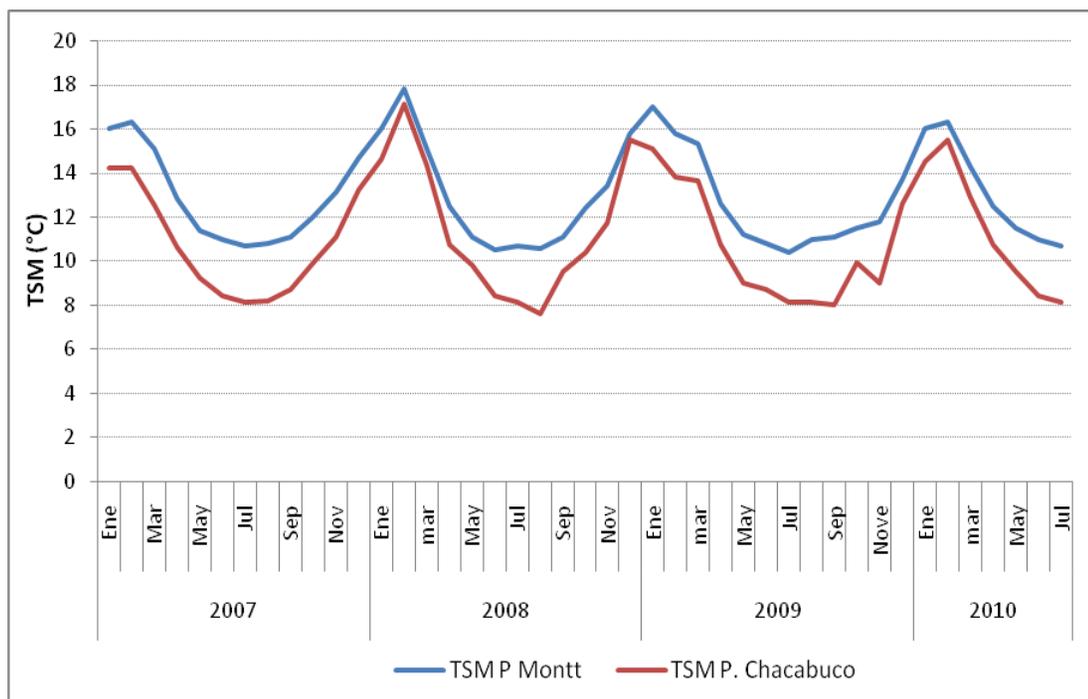


Figura 16 Temperatura superficial del mar en Puerto Montt y Puerto Chacabuco del año 2007 al 2010.

Se observa que la tendencia anual de la temperatura superficial del mar es similar en ambas regiones manteniendo una diferencia de -2°C aproximadamente en la región más austral respecto a Los Lagos.

En la figura 17 se presenta el comportamiento de los centros de cultivo de salmones respecto al virus ISA (positivos y en brote) en relación con la temperatura superficial del mar en la región de Los Lagos entre 2007 y 2010.

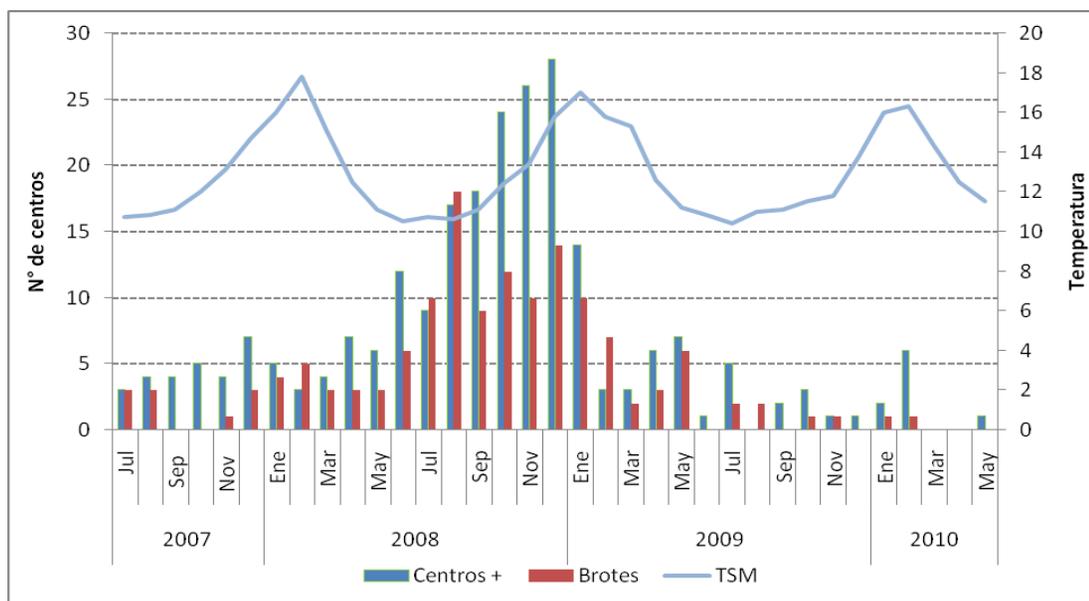


Figura 17 Centros positivos (+) y Brotes de ISA versus temperatura superficial del mar en los diferentes meses del año 2007, 2008, 2009 y 2010 en la región de Los Lagos (Adaptado de exposición Taller FIP 2008-66 de Gallardo, 2010).

Se observa que la evolución de los promedios mensuales de la temperatura (TSM) entre los años 2007 a 2010 es similar dentro de un ciclo anual, con máximos en el mes de enero y las mínimas en julio. En tanto que la presencia del virus ISA se observa que entre 2008 y 2009 se presentan la mayor cantidad de centros positivos (sospechosos y en brote) manteniendo un comportamiento anual de mayor proporción en los meses de primavera, aunque con una marcada tendencia a disminuir a partir del año 2009.

Al realizar un análisis de correlación de Pearson, se detectó que no existe un grado de asociación entre las temperaturas superficiales del mar y los brotes de ISA en el tiempo

($p=0,707$; $r=0,066$). A su vez tampoco se encontró asociación entre las TSM y los centros positivos de ISAv ($p=0,747$; $r=0,056$), por lo que las curvas epidemiológicas respecto a este patógeno no estarían siendo explicadas por esta variable.

Por otro lado la abundancia de *Cáligus* en la región de Los Lagos se presenta con máximos en los meses de mayor temperatura superficial, con una tendencia a disminuir a partir de septiembre de 2007, presentando máximos anuales progresivamente menores hacia el año 2010. En la figura 18 se presenta el comportamiento de la abundancia de *Cáligus* en relación con la temperatura superficial del mar en la región de Los Lagos.

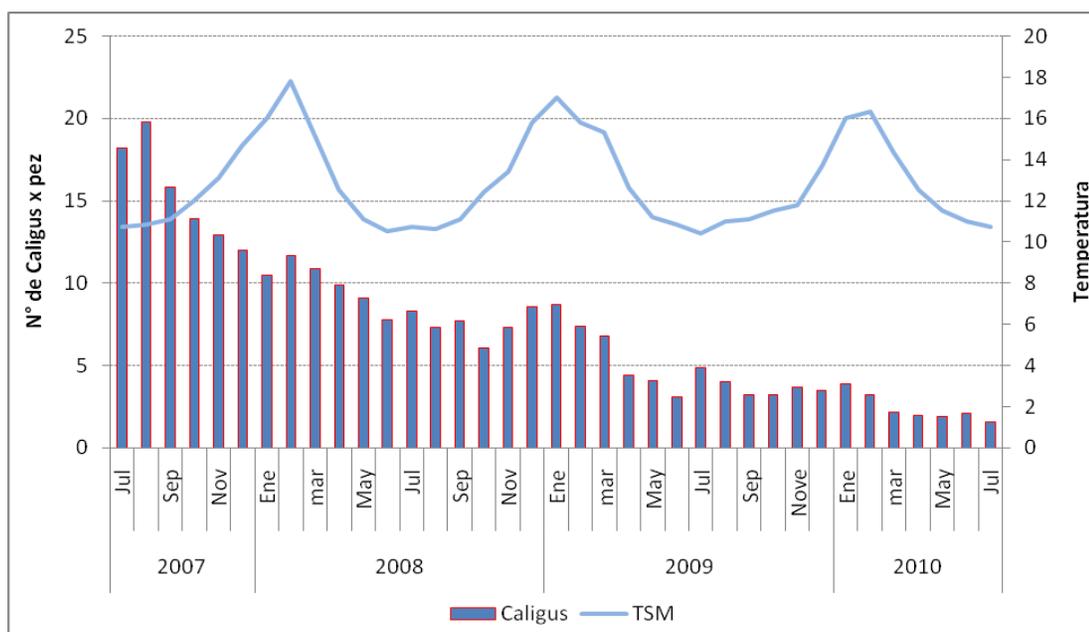


Figura 18 Cargas de *Cáligus* versus temperatura superficial del mar en los diferentes meses del año 2007, 2008, 2009 y 2010 (Adaptado de exposición Taller FIP 2008-66 de Gallardo, 2010).

Sin embargo los análisis de correlación entre las TSM y la carga de *Cáligus* por pez, arrojó que no existe un grado de asociación entre las TSM y el número de *Cáligus* a través del tiempo ($p=0,747$; $r=0,055$), por lo que las curvas epidemiológicas de estas patologías, no estarían siendo explicadas por esta variable ambiental.

Respecto a *P. salmonis* no fue posible disponer de información oficial, como en los dos casos anteriores porque no se cuenta con un programa de vigilancia de esta patología y

el programa de vigilancia activa para las EAR provee sólo de información consolidada sólo de tres años: 2004, 2005 y 2006.

3.2.3. Análisis de la información ambiental obtenida durante el estudio v/s prevalencia de ISAv y *P. salmonis* en las diferentes zonas y origen de la muestra (Cáligus/moluscos).

La prevalencia de cada patógeno de las enfermedades estudiadas, corresponde a la razón entre el número de especímenes infectados (copépodos o moluscos), dividido por el número de especímenes analizados, expresada en porcentaje. Las Tablas siguientes resumen la prevalencia obtenida a partir de los análisis PCR realizados para la detección de ISAv y *P. salmonis*. La Tabla 27 se refiere a los resultados obtenidos a partir de las muestras de plancton, Cáligus y moluscos de fouling, mientras que la Tabla 28, corresponde a los resultados obtenidos desde muestras de *Mytilus chilensis* de centros de cultivos dentro de un área menor a 5 Km de las zonas de engorda de salmón.

Tabla 27 Prevalencia (%) de patógenos de interés en muestras de Plancton, Cáligus y Moluscos Bivalvos del fouling de las balsas jaulas, por sector de cada centro de cultivo de salmónidos.

Muestreo	Zona	Sector	Plancton		Cáligus		Fouling	
			ISA	SRS	ISA	SRS	ISA	SRS
1° agosto-octubre 2009	I	Loncochagua	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		Quillaípe	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		Pocoihuen	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		Hornopirén	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	II	Manao	0%	0%	33%	0%	0%	0%
		Puqueldón	0%	0%	0%	27%	0%	0%
		Camahué	0%	0%	80%	7%	0%	0%
		San Francisco	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	III	Jacaff	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		Macetero	0%	0%	0%	0%	0%	0%

2° mayo-junio 2010	I	Calbuco (Chidguapi2)	0%	0%	0%	0%	0%	87%
		Calbuco (Chidguapi 3)	0%	0%	0%	73%	0%	60%
		Calbuco (Chidguapi 4)	0%	100%	0%	47%	0%	80%
		Calbuco (Chidguapi 5)	0%	50%	0%	0%	0%	87%
		Calbuco (Pilolcura)	0%	50%	0%	0%	0%	33%
	III	Cupquelán (Isla Mentirosa 1)	-	0%	-	-	13%	0%
		Cupquelán (Isla Mentirosa 2)	-	100%	-	-	33%	7%
		Cupquelán (Isla Mentirosa 3)	-	-	-	20%	0%	67%
		Cupquelán (Isla Ballena)	-	-	-	-	0%	40%
	IV	Paso Vattuone	-	-	-	-	0%	40%

Tabla 28 Prevalencia (%) de Patógenos de Interés en muestras de *Mytilus chilensis* de cultivo en áreas cercanas a centros de salmones.

Muestreo	Zona	Sector	Moluscos de Cultivo	
			ISA	SRS
1° agosto-octubre 2009	I	Quillaipe	0%	0%
	II	Puqueldon	0%	0%
2° mayo-junio 2010	I	Calbuco	0%	100%
		Calbuco	0%	67%

3.2.3.1. Relación de la Prevalencia con parámetros ambientales.

Con el fin de detectar posibles relaciones entre la prevalencia con la temperatura *in situ* medida a 4 metros de profundidad en cada centro muestreado (Ver puntos 3.1.2.5 y 3.1.2.6), se realizó un análisis de asociación, para lo cual se construyeron gráficos con el fin de visualizar el comportamiento de la prevalencias de cada patógeno con la variable ambiental, calculando un coeficiente de correlación a partir de los valores observados.

En el caso de la prevalencia de ISAv y *P. salmonis* en plancton, no se detectaron casos positivos durante la primera campaña de muestreo, en cambio durante la segunda campaña, sólo se detectó la presencia de *P. salmonis* en muestras obtenidas en las dos zonas en que se obtuvo plancton (Los Lagos y Aysén). En este caso, no se realizó el

análisis de correlación con la TSM de los centros muestreados debido al bajo número de muestras obtenidas.

En relación con la prevalencia de los patógenos ISAv y *P. salmonis* detectados en Cáligus, se observa que en la primera campaña de muestreo se presentaron los dos patógenos, con una prevalencia mayor del virus ISA, en tanto en la segunda campaña sólo se presentó *P. salmonis* asociado al parásito. Al graficar la temperatura (TSM) medida en cada centro en el momento en que se obtuvieron las muestras, se observó que la mayor prevalencia (80%) de ISAv se presentó en la zona II (Chiloé) en primavera del 2009 cuando la TSM se encontraba en 10,8 °C y la prevalencia menor (33%) a final del invierno, cuando la TMS se encontraba en los 10 °C, en tanto la mayor prevalencia (22%) de *P. salmonis* se presenta en agosto cuando la TSM es cercana a los 9,8 °C y la menor prevalencia (7%) en primavera con TSM cercana a los 10,8 °C. En el segundo período de muestreo (2010) sólo se detectó *P. salmonis* con una prevalencia de 74 y 47% con TSM cercana a los 11 °C en la zona I (Calbuco) y la menor prevalencia (20%) se detectó en la zona III (Aysén) cuando la TSM es cercana a los 8,5 °C (Figura 19).

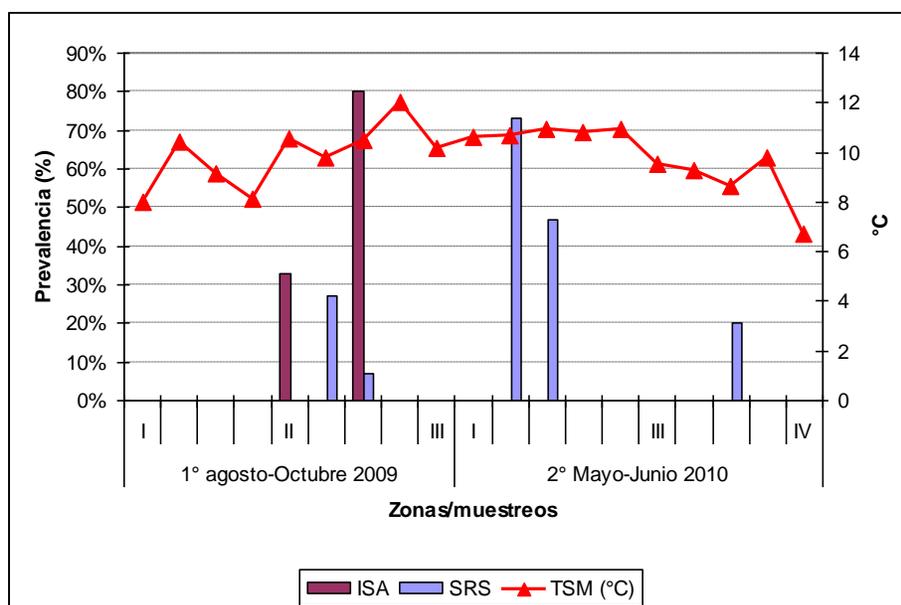


Figura 19 Prevalencia (%) de ISAv y *P. salmonis* detectado en *Caligus spp.* Vs. Temperatura Superficial del Mar (TSM), por zona y fecha de muestreo.

Por otra parte, el análisis de prevalencia de los patógenos detectados en los moluscos bivalvos del **fouling**, se observa que en la primera campaña de muestreo no se encontró ningún caso positivo (ISAv y *P. salmonis*) en los moluscos muestreados. No obstante durante el segundo período se detectaron patógenos en las tres zonas analizadas, aunque *P. salmonis* se presenta con mayor frecuencia y prevalencia que ISAv. La bacteria patógena presenta las mayores prevalencias en la zona I (Calbuco) con valores entre 60 y 87% a TSM cercanas a 10,8 °C, mientras que el virus ISAv, está presente sólo en la zona III con una prevalencia máxima de 33% a TSM cercanas a los 10 °C, en tanto en la zona III también se presenta la bacteria patógena con una prevalencia máxima de 67% a una TSM de 9 °C en tanto la mínima prevalencia (7%) se presenta cuando la TSM es cercana a los 9,2 °C. La TSM más baja 6,4 °C se presenta en la zona IV (Magallanes) donde la prevalencia de *P. salmonis* es de 40%. (Figura 20).

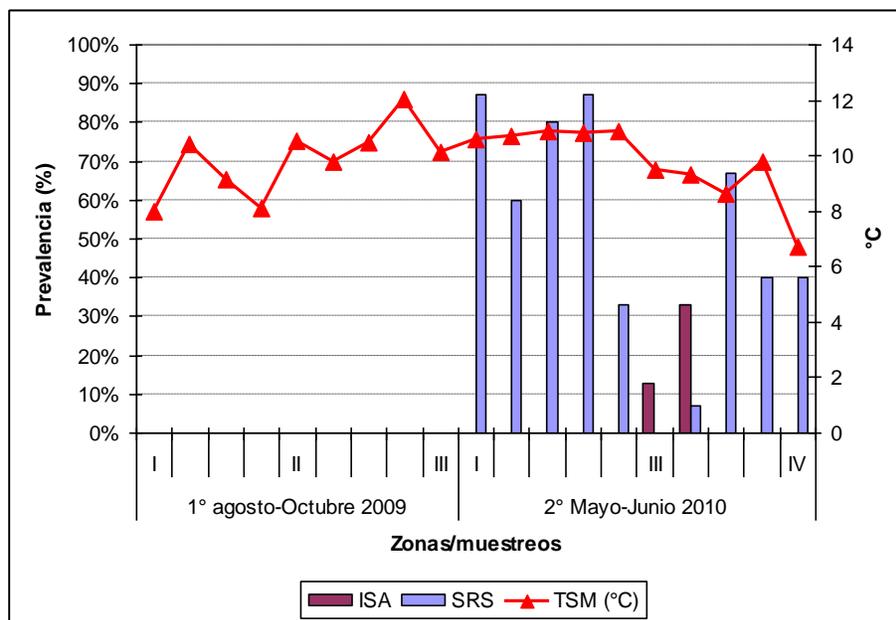


Figura 20 Prevalencia (%) de ISAv y *P. salmonis* detectado en Moluscos de Fouling Vs. Temperatura Superficial del Mar (TSM), por zona y fecha de muestreo.

Del análisis de la presencia de virus ISA en copépodos y en moluscos en los diferentes muestreos y zonas, se detectó que no existen diferencias significativas en las

prevalencias detectadas del patógeno ISAv, entre los muestreos realizados ($p=0,335$), entre zonas muestreadas ($p=0,140$), ni entre los posibles vectores/reservorios (Cáligus/moluscos) donde fue detectado ($p=0,325$). Mientras que con el patógeno bacteriano *P. salmonis*, al realizar el mismo análisis, se detectó que existen diferencias entre ambos muestreos ($p=0,000$), probablemente porque no se analizaron los mismos centros de cultivo, existiendo diferencias en la condición sanitaria respecto a este patógeno. Además no se detectan diferencias entre zonas ($p=0,819$), ni entre vectores/reservorios (Cáligus/moluscos) del patógeno ($p=0,354$).

Por otro lado, a partir de un análisis de correlación, se detectó que no existe un grado de asociación tanto, en las prevalencias de ISAv ($p= 0,860$; $r= 0,025$), como de la bacteria *P. salmonis* ($p= 0,270$; $r= 0,153$), con las Temperaturas Superficiales del Mar de cada sector de muestreo, por lo que esta variable ambiental no tendría un grado de participación en la presencia de patógenos relevantes en moluscos bivalvos ni Cáligus.

En relación a la visibilidad, que fue medida en cada uno de los centros muestreados, podría esperarse que tuviera una participación al favorecer de alguna manera la presencia de los patógenos estudiados, pero al realizar un análisis de correlación entre la presencia del patógeno *P. salmonis* y la visibilidad de cada sector de muestreo, se detectó que no existe un grado de asociación entre ambos ($p=0,427$; $r=0,174$), por lo que esta variable no estaría determinando la presencia del patógeno tanto en moluscos como en Cáligus.

Además se detectó que no existe un grado de asociación en la presencia de ambos patógenos ($p=0,416$; $r=-0,116$).

Estos resultados estarían señalando que:

- Las variables ambientales TSM y visibilidad (m) no tendrían una participación en la presencia de los patógenos
- No existe asociación entre ambos patógenos

- Tanto las zonas como las especies “vector/reservorio” (Cáligus/moluscos) estudiadas no serían indicadores epidemiológicos de los patógenos ISAv ni de *P. salmonis*.

Por otra parte, se debe señalar que en el presente estudio no se encontró una correlación entre los datos históricos ni de la observación *in situ* de la T°, con las prevalencias detectadas para los agentes estudiados.

Finalmente, debido a que no existe una base de datos sistematizada de factores ambientales que permita relacionar la variabilidad de éstos con la de los brotes de los agentes estudiados, no se ha podido establecer indicadores epidemiológicos claros. Por el momento, la tendencia decreciente de los brotes de ISAv y la abundancia del Cáligus en los peces, sólo se puede atribuir a aspectos relacionados con el manejo de los cultivos.

3.3. Objetivo 3: Evaluar la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y otros patógenos relevantes en la mantención de él o los patógenos en el ambiente y la ocurrencia de las enfermedades.

3.3.1. Experimento 1

Los resultados de la experiencia 1 en cuanto a la participación de los moluscos bivalvos como bioacumuladores del virus ISA y *P. salmonis*, se muestran en la tabla 29 y figura 21.

Tabla 29 Prevalencias de virus ISA y *P. salmonis* en *Mytilus chilensis* provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.

DIAS	PREVALENCIA	
	<i>P. salmonis</i>	virus ISA
0	40,00%	0,00%
1	0,00%	16,67%
2	91,67%	0,00%

3	45,45%	0,00%
4	25,00%	0,00%
5	44,44%	0,00% ^(*)
8	66,67%	-
9	50,00%	-
16	33,33%	-

(*) Fin de la experiencia

La figura 21 permite observar que el comportamiento de la prevalencia del virus ISA que alcanzó un 16,7% al primer día de experimentación, se estabilizó en un 0% a contar del segundo día. Esta situación difiere bastante en relación a la prevalencia de *P. salmonis* que muestra un comportamiento muy variable los primeros días, presentando un valor mínimo del 0% el día 1 y un valor máximo de más del 90% el día 2 (Tabla 29). También se puede apreciar que hacia al término de la experiencia, a pesar que los valores de la prevalencia se hacen más estables, la Tabla 29 indica un valor del 33,3% al día 16.

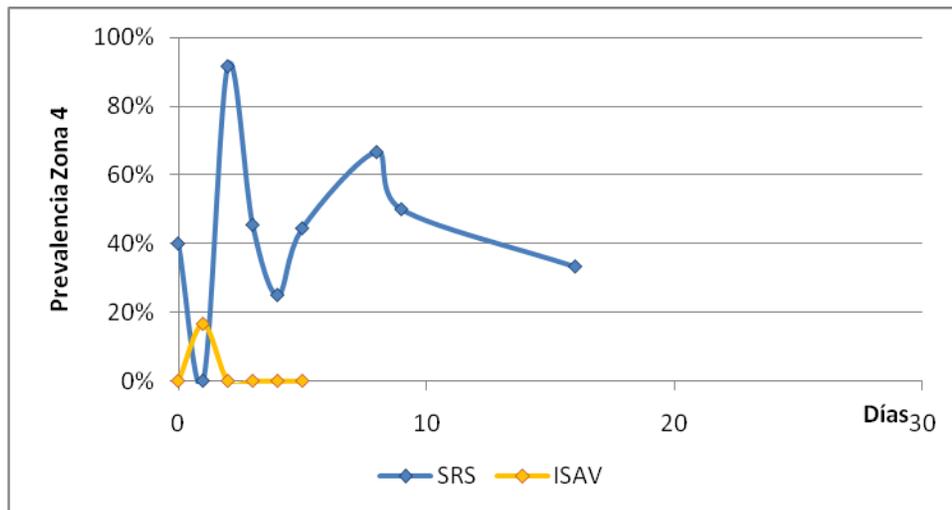


Figura 21 Prevalencias de virus ISA y *P. salmonis* en *Mytilus chilensis* provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.

3.3.2. Experimento 2

Los resultados obtenidos en cuanto a las prevalencias de los patógenos ISA y *P. salmonis* en el experimento 2, se muestran en la tabla 30 y figura 22.

Tabla 30 Prevalencias de virus ISA y *P. salmonis* en *Mytilus chilensis* provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona IV.

DIAS	PREVALENCIA	
	<i>P.salmonis</i>	virus ISA
0	60,00%	0,00%
1	33,33%	0,00%
2	83,33%	0,00%
3	66,67%	0,00%
4	41,67%	0,00%
5	66,67%	0,00 ^(*) %
24	25,00%	
34	25,00%	-
48	25,00%	-
56	25,00%	-
66	25,00%	-

^(*) Fin de la experiencia

La figura 22 permite observar que desde el inicio de la experiencia (día 0), no se detectó virus ISA en los tejidos de las muestras. No ocurre lo mismo con la prevalencia de *P. salmonis* que, aunque al igual que en la experiencia 1 muestra un comportamiento variable los primeros días, sus valores extremos se encuentran en un rango menor: valor mínimo del 33,3% el día 1 y un máximo de 83,3% el día 2. También se puede apreciar que a partir del día 24 y hasta el término de la experiencia, los valores de la prevalencia se estabilizan en un 25% (Tabla 30).

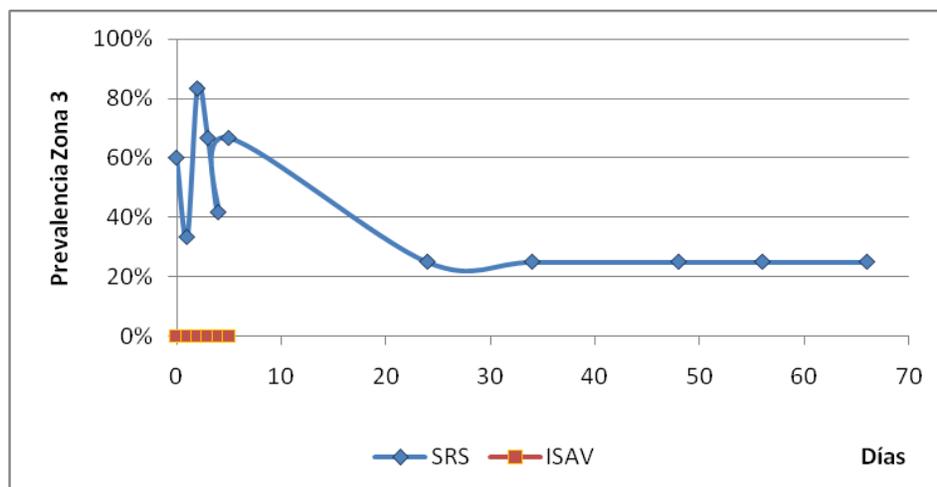


Figura 22 Prevalencias de virus ISA y *P.salmonis* en *Mytilus chilensis* provenientes de fouling de centros de cultivo de salmones. Zona III.

3.3.3. Modelo de Regresión Logística

Debido a que la situación experimental cumple con los supuestos para un análisis a través de una regresión logística, se realizó dicho análisis tanto para la información de la prevalencia de *P. salmonis* como de ISAV.

Los resultados proporcionados por el software SPSS para el ajuste de la prevalencia de *P. salmonis*, a través de un modelo logístico, muestran que la variable tiempo presenta un efecto significativo ($p < 0,05$) para las dos Zonas (Tabla 31). Sin embargo, en ambos casos su coeficiente de determinación R^2 , indicador del porcentaje de la variabilidad total de los datos que es explicada por el modelo, es muy bajo. Esta falta de ajuste se puede visualizar también a través de la figura 23, para el caso de la Zona III y figura 24, para la Zona IV. Las figuras permiten comparar el comportamiento de los datos observados y de los ajustados por el modelo.

Tabla 31 Coeficiente de Determinación (R^2 de Nagelkerke) de los Modelos de Regresión logística para la Prevalencia de *P. salmonis*.

	Zona III		Zona IV	
	Parámetro	Significancia (valor p)	Parámetro	Significancia (valor p)
Tiempo	0,029	0,026 (*)	-0,035	0,48 (*)
R^2 de Nagelkerke	9,4%		1,1%	

(*) significativo al 5%

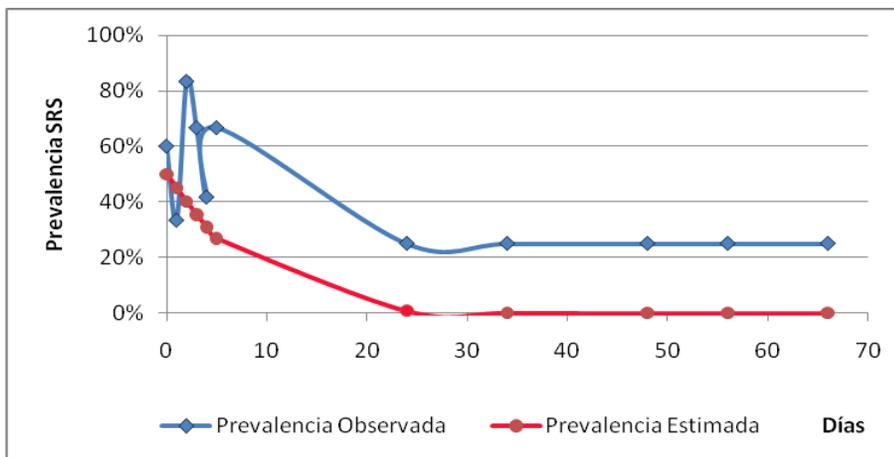


Figura 23 Prevalencia (%) observada y estimada de *P. salmonis* en *Mytilus chilensis* Zona III.

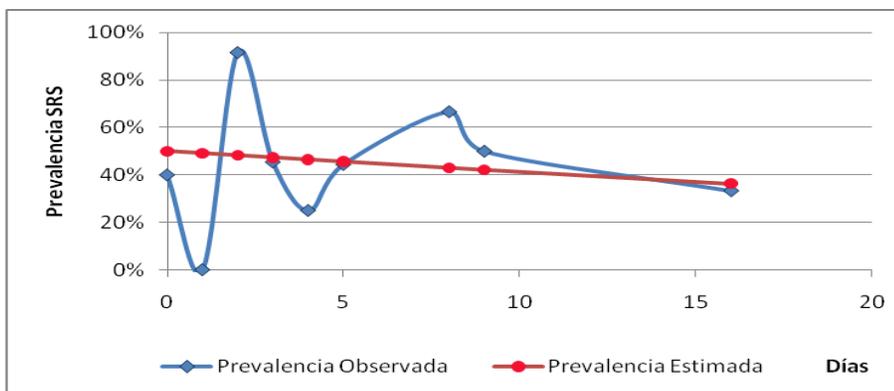


Figura 24 Prevalencia (%) observada y estimada de *P. salmonis* en *Mytilus chilensis* Zona IV.

En el caso de la prevalencia de virus ISA, dado que en la Zona III ningún centro presentó resultados positivos a la enfermedad, sólo fue posible analizar la información obtenida en la Zona IV. En este caso el resultado del análisis muestra que la variable tiempo presenta un efecto significativo ($p < 0,05$) y que el modelo ajusta bien a los datos ($R^2 = 86,1\%$) (Tabla 32). Lo anterior se puede visualizar también a través de la figura 25.

Tabla 32 Coeficiente de Determinación (R^2 de Nagelkerke) del Modelo de Regresión Logística para la Prevalencia de virus ISA. Zona III.

Zona III		
	Parámetro	Significancia (valor p)
Tiempo	0,029	0,0028 (*)
R^2 de Nagelkerke	86,1 %	

(*) significativo al 5%

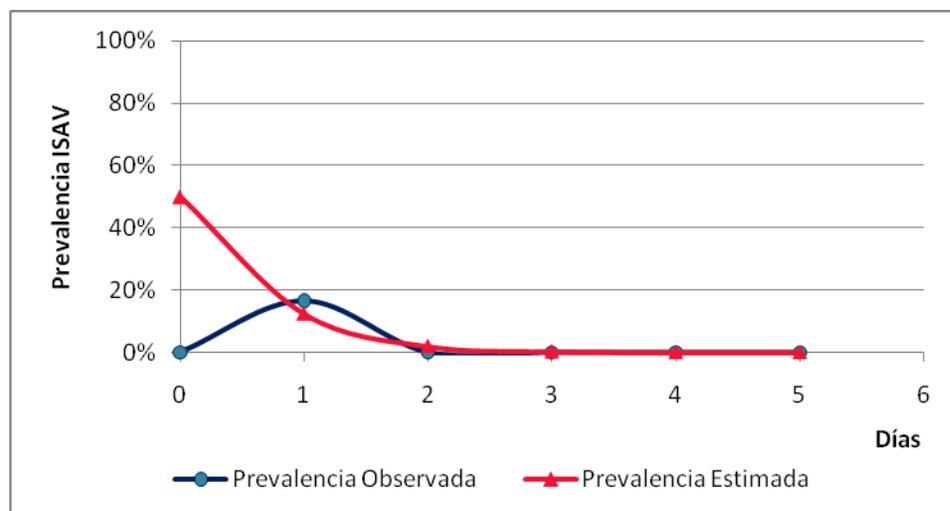


Figura 25 Prevalencia (%) observada y estimada de virus ISA en *Mytilus chilensis* Zona IV.

De acuerdo a los resultados, se aprecia una falta de ajuste por el desfase entre los datos observados y el modelo (Figura 25), esta discrepancia podría estar reflejando el papel de *M. chilensis* en el ciclo del patógeno que sería el de un reservorio para *P. salmonis*. Por

otro lado, la estabilidad del modelo se alcanza en el período comprendido entre el quinto y el décimo cuarto día de muestreo. Para tener una mejor ajuste deben ser disminuidos los períodos entre cada toma de muestra en ese intervalo de tiempo.

En relación al virus ISA, los resultados permiten observar una rápida estabilidad alcanzada en los primeros días, ya que la curva tiende a cero a partir del segundo día de muestreo, indicando que los moluscos no están contribuyendo a la permanencia del patógeno en el ambiente.

Los resultados de estas dos experiencias indican que el agente ISAv no sobrevive más de 24 h. En cambio el agente bacteriano *P. salmonis* permanece detectable por un plazo superior a los 60 días.

3.4. Objetivo 4: Formular un sistema de monitoreo preventivo que funcione como alerta sanitaria.

3.4.1. Monitoreos activos

Los resultados de este análisis incluyen un análisis de los monitoreos activos para ISA, SRS y Cáligus realizados en países como Estados Unidos, Chile y Canadá e instituciones como la OIE y se presentan en la Tabla 33. Sólo se consideran estos países e instituciones dado el carácter comparativo del análisis, ya que revestían las mayores diferencias en las distintas categorías definidas.

Tabla 33 Tabla comparación monitoreos activos para ISA, SRS y Cáligus, por programa o normativa e institución.

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
Sernapesca (Chile)	PSEVA para EAR en peces de cultivo	Centros agua dulce (con reproductores) 60 ejemplares	Dos muestreos anuales para confirmar la ausencia de EAR Lista 1 y evaluar la condición respecto de EAR Lista 2. Visitas sanitarias anuales cada un mínimo de 4 meses (uno al menos cuando el agua esté por debajo de los 14°C).	En condiciones que garanticen su integridad, embalados en recipientes sólidos, perfectamente sellados, cajas o contenedores protectores sólidos y perfectamente cerrados, sustancia absorbente suficiente y etiquetados (código centro, fecha muestreo y números o códigos que identifiquen los grupos muestreados). Se deberá agregar suficiente hielo o bloques de enfriamiento para garantizar la refrigeración durante el traslado a laboratorio para cuidar la T°, evitando la congelación. Los peces enteros deben enviarse en bolsas de plástico refrigeradas.	Necropsia y análisis virales y bacterianos (de acuerdo a lo establecido por la OIE) ISA: IFAT y PCR	Los Laboratorios de diagnóstico deben emitir un informe (INF/PSEV) con los resultados, en original y una copia: el primero para el centro y la copia para el lab. El Lab. debe informar los resultados al Servicio bajo el formato del PSG Registro de Datos y Entrega de Información de laboratorios.
		Centros marinos: Con reproductores: 60 ejemplares Sin reproductores o con peces planos: 30 ejemplares				
	Programa Sanitario Específico de Vigilancia y	Todos los centros de salmónidos o sp. susceptibles: • 30 peces centros	Trimestral		RT-PCR Disposiciones y protocolos establecidos por la OIE	

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
	Control de la Anemia Infecciosa del Salmón	marinos		El transporte de material patológico y material de alto riesgo deberá realizarse en condiciones que garanticen su integridad, embalados de modo de evitar cualquier contaminación exterior, en recipientes sólidos, sellados, cajas o contenedores protectores sólidos cerrados y etiquetados, siguiendo además lo establecido por la OIE..		<p>El titular del centro de cultivo deberá notificar obligatoriamente al Servicio, dentro de las 48 horas siguientes, la sospecha fundada de la presencia del virus o aparición de un brote, a partir de un informe médico veterinario o del resultado positivo de un laboratorio de diagnóstico.</p> <p>Un Laboratorio de diagnóstico que sospeche la ocurrencia o realice el diagnóstico de ISA, en base a exámenes clínicos o resultados de laboratorio, deberá notificar al Servicio dentro de las 24 hrs siguientes.</p>
		• 150 centros lacustres o estuarinos				
		• 60 pisciculturas				
		Centros sospechosos: 3 peces todas las jaulas (mínimo 30 peces por centro).	Plazo máximo de 7 días			
		Centros sospechosos con jaulas no positivas a ISA: 30 peces por centro y especie.	Cada 15 días			
		Centros en riesgo: 30 peces por especie	Cada 21 días			
	Centros en vigilancia: 30 peces por centro y especie	Cada 30 días				
Programa de monitoreo quincenal Programa Sanitario específico de vigilancia y control de Caligidosis	Centros de cultivos de salmónidos de agua de mar y salobre	Cada 15 días durante el ciclo reproductivo, sin importar la carga parasitaria.	Quincenal	No compete	<p>Contabilizar: Número de Chalimus o juveniles (JV) Número de adultos móviles (AM) Total de hembras ovígeras (HO)</p>	<p>Proceso realizado con personal de Sernapesca, quien deja una copia del informe en el centro y la copia se va al Servicio.</p>
	Centros de cultivo de una sola especie: 10 peces por jaula					

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
		a partir de 4 jaulas (dos al azar, dos índice) Centros de cultivo de más de una especie. 10 peces por jaula al azar (dos jaulas al azar y dos índice por especie cultivada)				
APHIS (USA)	Infectious Salmon Anemia Program Standards	10 peces moribundos por sitio	<p>ISAV: Inspecciones visuales semanales de todas las jaulas en un sitio. Una inspección de vigilancia mensual realizada por el veterinario acreditado para ese sitio en particular, la cual debe coincidir con las actividades de buceo para retirar mortalidades..</p> <p>Mensual: Programa ISA para sitios categoría 1 (presumiblemente negativo). Dos veces por semana: Programa ISA para sitios categoría 2 (sospechoso) y 3 (infectados).</p>	De acuerdo a lo establecido por la OIE	<p>ISAV: RT-PCR: un pool por pez. Tejido: 0.25 cm³ de riñón en un tubo de 2 ml. IFAT: un pool por pez. Tejido: impresiones de 2.3 mid-riñón en portaobjeto. Virología: un pool por pez/jaula (hasta 5 peces por pool). Tejido: riñón, bazo, corazón en PBS.</p>	<p>Veterinarios acreditados: deberán reportar cualquier caso sospechoso o confirmado de ISA dentro de las primeras 24 horas de haber recibido los resultados o diagnóstico positivo. Deben enviar las muestras de diagnóstico de ISA a un Laboratorio acreditado. Deben utilizar el formulario USDA APHIS Specimen Submission Form u otro formulario aprobado por el ISA Program Veterinarian. Laboratorios Acreditados: deben reportar los resultados de las pruebas de vigilancia dal veterinario del Programa ISA y el veterinario acreditado dentro de las dos semanas de haber recibido las muestras. Luego de completar el informe, el Laboratorio tiene 24 horas para informar al veterinario del ISA Program, el</p>

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
						Commissioner de Maine DMR y el veterinario acreditado. En caso de requerir cultivo viral, el informe final de los resultados del cultivo viral deberán ser enviado al veterinario del Programa ISA dentro de los 30 días posteriores de recibida la muestra por un laboratorio acreditado por la USDA APHIS.
		Cáligus: Tratamiento rutinario.	Dos veces a la semana cuando las T° del agua superen los 8°C y una vez al mes cuando se encuentren entre los 6°C y 8°C.	No indica	No indica	Los centros bajo tratamiento contra el Cáligus no pueden ser cosechados sin mandato de la FDA.
OIE	Manual de Técnicas de Diagnóstico para animales Acuáticos	Diagnóstico de una enfermedad: 10 peces moribundos o 10 peces que manifiesten los signos de la enfermedad. Peces con apariencia clínica normal: número de ejemplares estadísticamente significativo, para lograr un nivel de confianza del 95% (Ej.:	Determinación del estado sanitario de un área: dos veces al año, durante dos años. Mantenimiento del estado sanitario: dos veces al año	Peces envasados por separado, en contenedores cerrados asépticos y refrigerados o en hielo. Cada muestra debe ser etiquetada con el lugar, tiempo, fecha, especie, número de muestras recogidas, estado (muerto o moribundo), nombre y datos de contacto de quien tomó la muestra.	SRS: <ul style="list-style-type: none"> • Tinción Giemsa • Prueba de anticuerpo fluorescente de frotis de tejido • Histología • Inmunohistoquímica de sección de tejido • Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ISA: <ul style="list-style-type: none"> • Patología (macroscópica e histológica). • IFAT en frotis renales • Inmunohistoquímica • RT-PCR • Cultivo celular • Serología 	La OIE conforme a sus estatutos considera un derecho el comunicarse con la autoridad veterinaria de sus países miembros. 1. Las autoridades veterinarias deben enviar a la OIE en un plazo de 24 horas una notificación ante: la aparición de una de las enfermedades de la OIE, cuando éstas se consideraban libres de dicha enfermedad; ante cualquier hallazgo relativo a una de las enfermedades del listado si ésta se registra en una nueva especie huésped;

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
		tamaño del lote 50; tamaño muestra a prevalencia del 2%: 50).				<p>la aparición de una enfermedad del listado causada por una nueva cepa del agente patógeno; cualquier hallazgo de una enfermedad emergente que no figure en la lista de enfermedades de la OIE.</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. un informe semanal consecutivo a la notificación enviada anteriormente con información adicional sobre la evolución de la situación notificada. Esto continuará hasta que la enfermedad haya sido erradicada o estabilizada. 3. un informe semestral sobre la ausencia o aparición y evolución de las enfermedades del listado, así como los hallazgos relacionados a las enfermedades que no aparecen en el listado. 4. un cuestionario anual con información relevante para el resto de los países. <p>La oficina central envía a todas las autoridades veterinarias interesadas todas las notificaciones recibidas. Además, notificará a los miembros por medio de informaciones sanitarias, de</p>

Institución	Documento o Norma	Toma de Muestras	Periodicidad de Muestreo	Transporte Laboratorio	Técnica de Diagnóstico por patógeno	Ruta información
						cualquier acontecimiento de importancia epidemiológica excepcional señalado por un miembro.
Ministry of Agriculture and Lands, Canadá	Lice Monitoring Programme	20 peces desde 3 jaulas (una de referencia y 2 aleatorias)	quincenal	No aplica	No indica	Todos los centros de cultivo deben enviar al BCMAL informes mensuales de la carga de Cáligus por subzona. Si las concentraciones alcanzan el límite permitido se aumenta la frecuencia de muestreo.

3.4.2. Propuesta de Vigilancia Sanitaria para *P. salmonis*.

La identificación de patógenos relevantes y su prevalencia, además del esclarecimiento del rol que juega Cáligus y los moluscos bivalvos como vectores o reservorios de patógenos relevantes nos permite señalar que:

- Cáligus es un vector mecánico circunstancial para los patógenos, que se limita a la transmisión horizontal de virus ISA entre los peces de cultivo de un mismo sector. El mismo papel cumpliría con *P. salmonis* en sectores donde está presente la bacteria.
- Ni Cáligus ni los moluscos bivalvos actuarían como vectores o reservorios de *Neoparamoeba perurans* en las zonas y periodo estudiado.
- Los moluscos provenientes del fouling y centros de cultivo de *Mytilus chilensis* demostraron mantener al agente bacteriano *P. salmonis* al menos 60 días después de su mantención en ambiente libre de peces.

El Programa de Vigilancia Activa sobre los patógenos de alto riesgo mantiene control sobre las enfermedades incluidas en la Resolución Exenta N°2352 (**Lista 1 y Lista 2**), dentro de las cuales se incluye las tres enfermedades abordadas en este estudio. Sin embargo, los programas específicos de vigilancia sólo incluyen medidas de control para la Anemia Infecciosa del Salmón y la Caligidosis, a través de la **Resol. N° 2638/2008**: que establece Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control (PEVC) de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) y la **Resolución N°2.117/2008** que aprueba el Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis, programas que hasta el momento han resultado exitosos para disminuir la presencia de dichas condiciones

En el caso de Cáligus y de acuerdo a lo establecido en este estudio, se estima que los programas que están vigentes para estos agentes son adecuados y se ha probado que están funcionando a juzgar por las información dada por el Director de Sernapesca quien afirma que desde 2007, fecha en que se comenzó a aplicar el Programa de Vigilancia y Control Oficial de la Caligidosis, las cargas parasitarias promedio han experimentado una notoria

tendencia hacia la disminución, de 19 parásitos por pez en julio 2007 a 2,4 en julio de 2010 en la región de Los Lagos, y de 4,5 a 2,8 parásitos por pez para los mismos periodos en Aysén (Inostroza, 2010).

En relación al virus ISA, ante el brote iniciado en 2007, Sernapesca implementó un plan de contingencia obligatorio para frenar la expansión del virus hacia otros centros de cultivo, cuyas medidas fueron:

- La eliminación o cosecha de las jaulas con animales afectados por ISA
- Delimitación de zonas de cuarentena y vigilancia
- Restricción de movimientos de la zona afectada
- Estrictas medidas de bioseguridad
- Condiciones de cosecha y proceso especiales para centros ubicados en las zonas bajo cuarentena y vigilancia
- Establecimiento de barrera sanitaria para las regiones XI y XII
- Monitoreo y vigilancia permanente de los centros de las zonas afectadas y otros relacionados con el brote
- Prohibición de usar wellboats abiertos para el traslado de peces
- Estrictas medidas de control en la eliminación de peces infectados.

Los resultados de este estudio permitieron determinar que el patógeno más relevante por su permanencia en el ambiente es *P. salmonis*, al cual debería enfocarse una propuesta de detección temprana, centrada en los organismos que participan como reservorio del agente, en este caso los mitílidos del fouling de las balsas jaulas y de otras estructuras del centro del cultivo como pasillos, flotadores, pontones, etc.

Considerando dichos resultados, se presenta la propuesta de un programa de monitoreo preventivo para la detección temprana de *P. salmonis*, dirigido a *Mytilus chilensis*, organismo que se muestra como bioacumulador de esta bacteria.

3.4.2.1. Programa Monitoreo Preventivo

➤ Evaluación inicial de la situación:

Al igual que los programas de monitoreo de Cáligus, este plan sería realizado en un principio para evaluar la situación de los centros de cultivo respecto a la bacteria *P. salmonis*, considerando:

- Parámetros ambientales
- Áreas de cultivo de salmones
- Especies afectadas
- Moluscos del fouling asociados a estructuras como cabos, pasillos, flotadores
- Distancia al centro de cultivo de *M. chilensis* más próximo

Después del primer año se podrán realizar los ajustes necesarios para decidir acerca de la periodicidad del muestreo y las medidas de control en las diferentes áreas de cultivo o en especies de salmónidos.

Si se toma en cuenta que las empresas cultivadoras de salmones están frecuentemente entregando información a Sernapesca referente a los Reglamentos: Ambiental y Sanitario (D.S. 329 y 319/2001 del MINECOM) relativo a: estado sanitario de la población en cultivo y las condiciones aeróbicas del fondo marino, además de informar sobre los monitoreos periódicos de virus ISA, se espera que para minimizar el manejo de los peces un nuevo programa de monitoreo, en este caso de una bacteria patógena, debiera ser complementario con el de virus ISA.

➤ Frecuencia del muestro

En el numeral 8.3.1. de la Resolución N° 2638 de 08.oct.2008, del Programa sanitario específico para el virus ISA señala que todo centro de cultivo de especies salmónidas deberán ser muestreadas y analizadas trimestralmente para el virus ISA, cuyas muestras provendrán de peces orillados y/o de la mortalidad fresca del día. En el caso de *P. salmonis* se considera adecuado realizar muestreos en forma trimestral en los centros de

cultivo (análisis complementarios a los muestreos que se realizan para virus ISA) y considerando que se trata de una bacteria que está asociada a los moluscos, se deberán muestrear bivalvos constituyentes del fouling en todas las estructuras flotantes del centro.

➤ **Tamaño y obtención de la muestra**

Al igual que para los muestreos del programa de vigilancia de las EAR, el tamaño de la muestra de peces debiera ser de 60 individuos de una misma especie. Del mismo modo, se requieren 60 bivalvos del fouling siguiendo los métodos de muestreo señalados por el manual OIE para diagnóstico o vigilancia. Los métodos de diagnóstico para *P. salmonis* se encuentran estandarizados internacionalmente, en el Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animal (OIE, 2003).

Para maximizar las posibilidades de detección de la bacteria en los moluscos del fouling, se requiere que los 60 individuos se obtengan de al menos tres lugares del centro en donde se encuentren los bivalvos, seleccionando en cada oportunidad los individuos de mayor tamaño que se encuentren presentes como fouling. Esto último tomando en cuenta que los mitílidos acumulan la bacteria y mientras más tiempo permanecen relacionados con los peces enfermos, mayor es la probabilidad de encontrar *P. salmonis*. Bajo este supuesto las semillas de mitílidos no debieran ser consideradas. Se sugiere analizar bajo las siguientes especificaciones:

- 1 a \leq 2 cm se analiza el individuo completo sin valvas
- $>$ 2 cm se analiza la glándula digestiva

➤ **Técnica de análisis**

La muestra requerida para análisis en el caso de los moluscos, debiera ser la glándula digestiva, evitando la contaminación cruzada con el exterior. Para evitar dicha situación, se deben realizar lavados con una solución estéril al tejido una vez extraídas las valvas. Como la glándula digestiva es un órgano que contiene numerosos microorganismos,

las pruebas de viabilidad son dificultosas, motivo por el cual se deben preferir los métodos de crecimiento en agar específico para *P. salmonis* y su correspondiente aislación y pruebas confirmatorias posteriores. Para el caso de los peces, los laboratorios acreditados cuentan con los protocolos estandarizados para diagnosticar la bacteria.

➤ **Evaluación**

Al final del primer año de aplicar el programa de monitoreo de *P. salmonis*, se podrá obtener una Base de Datos de la situación de los centros en relación a la bacteria patógena los que permitiría generar los mapas sinópticos respecto a la distribución de los casos de *P. salmonis* en los peces en las zonas de cultivo. Además, se conocerá la asociación que existe con los moluscos del fouling. Se espera obtener información relativa a:

- Caracterizar y cuantificar la población afectada (especie susceptible, especie afectada)
- Zonas de cultivo de mayor prevalencia
- Épocas de mayor prevalencia o mayor presencia de brotes
- Proporción de moluscos del fouling que presenta *P. salmonis* por centro, por zona y especie de cultivo
- Centros de moluscos que se encuentran a una distancia de 500 metros o inferior.

La información generada permitirá establecer los procedimientos para un programa de vigilancia específico para el control del patógeno *P. salmonis* tendiente a disminuir la prevalencia de la bacteria en las zonas de cultivo de los salmónidos.

Si se toma en cuenta los actuales sistemas de zonificación y producción programada en las agrupaciones de concesiones, esta enfermedad podría ser controlada de la misma forma que se opera actualmente con las otras dos enfermedades ya mencionadas, considerando periodos de tratamientos y las medidas preventivas de brotes sugeridas a continuación.

➤ **Medidas preventivas de brotes**

De acuerdo a los resultados de este estudio FIP, se considera necesario realizar las siguientes acciones tendientes a disminuir la prevalencia de la bacteria en las zonas de cultivo de salmones:

- Retirar los moluscos de las estructuras de los centros de cultivo en forma periódica.
- Aumentar la distancia que separa el centro de cultivo de salmones de los centros de cultivo de bivalvos.
- Utilizar materiales que minimicen la aparición de fouling en las estructuras.

Acciones que pueden ser perfeccionadas después del período de evaluación y aplicación de los mapas sinópticos.

4. TALLER DE DIFUSIÓN

4.1. Objetivos y Programa

El Taller “*Moluscos bivalvos y copépodos parásitos como posibles vectores de enfermedades de Alto Riesgo en salmones*” tuvo como objetivo dar a conocer los resultados obtenidos durante la realización de este estudio y generar una discusión acerca del rol que jugarían el Cáligus y los moluscos bivalvos que conviven con los salmónidos en cultivo como bioacumuladores y/o posibles reservorios de los agentes de enfermedades estudiados en este proyecto, así como analizar la normativa vigente en relación con el monitoreo de las enfermedades de alto riesgo (EAR) y el alcance de ésta frente al posible rol de Cáligus como vector de ISAv, y discutir los protocolos propuestos por este estudio para ser utilizados en el Programa de Monitoreo Preventivo.

Para cumplir con este objetivo se trabajó en dos etapas: la primera en la que se realizaron exposiciones de los componentes del equipo de trabajo y los especialistas invitados, y la segunda que consistió en un panel de expertos para discutir el programa de vigilancia. El programa detallado de esta actividad se presenta en el Anexo IX.

4.2. Fecha y Lugar de realización

El Taller de Difusión se llevó a cabo los días 19 y 20 de agosto de 2010, en la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y contó con la participación de investigadores especialistas, nacionales y extranjeros, personal de Sernapesca y Subsecretaría de Pesca, Consultores, Asociaciones de cultivadores de moluscos, tesisistas y personal de empresas relacionadas al tema.

4.3. Invitados y Participantes

Para las presentaciones y el panel de expertos se seleccionó investigadores y profesionales de acuerdo a su experiencia en los diversos temas que confluyen en la problemática de las patologías estudiadas en el proyecto. Es así como se puede destacar al Dr. Fred Kibenge, del Laboratorio de Referencia de la OIE para ISAv en Canadá; Dr.

Marcos Godoy de Aquagestion quien ha trabajado en virus ISA en Chile y cuenta con publicaciones en el tema; la Dra. Sandra Bravo de la Universidad Austral de Chile con vasta experiencia en Cáligus y en patologías de salmones; Dr. Pedro Smith investigador de la Universidad de Chile con experiencia en *Piscirickettsia salmonis*; Dra. Gloria Arenas investigadora del Grupo Marcadores Inmunitarios GIM de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, quien trabaja en péptidos antimicrobianos endógenos presentes en el sistema inmunológico de bivalvos, moduladores de la función de vectores virales en moluscos; Dra. María Isabel Toledo de la Escuela de Ciencias del Mar de la PUCV, por sus estudios en la formulación de dietas para el control de enfermedades de salmónidos; Dr. Felipe Hurtado, por sus estudios en tecnología de mallas de aleación de cobre para la reducción de fouling aplicadas a los sistemas marinos de confinamiento de salmones; Dra. Alicia Gallardo, Jefa Departamento de Acuicultura de Sernapesca quien expuso sobre los programas de vigilancia y monitoreo vigentes para controlar las enfermedades presentes en la acuicultura en Chile y al Sr. Eugenio Yokota empresario y Presidente de la Asociación de Mitilicultores de Calbuco.

En relación con la asistencia al Taller, se contó con una audiencia de 38 participantes, los cuales incluyeron investigadores de centros de estudio, personal del sector institucional, laboratorios de servicio, personal de consultoras, representantes de asociaciones gremiales, representantes de empresas de cultivo y tesis de doctorado. La Tabla 34 presenta el listado de asistentes al taller, indicando la institución de procedencia.

Tabla 34 Asistentes al Taller “Moluscos bivalvos y copépodos parásitos como posibles vectores de enfermedades de Alto Riesgo en salmones”

Nombre	Institución
Gloria Arenas	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec
Sandra Bravo	Universidad Austral de Chile
Fred Kibenge	Lab.Referencia ISAv, Canadá
Pedro Smith	U. de Chile C s.Veterinarias
Carolina Fernandez	SERNAPESCA
Claudia Tapia	Pinturas Ceresita (Antifouling)
Eugenio Yokota	Asoc. Mitilicultores, Calbuco
Alicia Gallardo	SERNAPESCA Dpto.Sanidad Pesq.
Hilda Castro	Asoc. Mitilicultores de Chile
Paola Arroyo	DIRECTEMAR

Nombre	Institución
Patricio Mandujano	CENTROVET
Mario Caruffo M.	CENTROVET
Víctor Hugo Gutiérrez	Consultor PRINAL
Felix Godoy	UACH, CIEN Austral
Roberto Mosquera	CMChiloé
Roberto Segura	CMChiloé
Gabriel Dazarola	PUCV ECM
Daniela Gomez	Doctorado en Biotecnología
Dagoberto Sepúlveda	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec
Andrea Peña	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec
Alicia Millón	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec
Angélica Araya	PUCV, ECM: LEDA
Byron Morales	Bilogo PUCV,
Claudia Palacios	PUCV
Constanza Cárdenas	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec
Cristóbal Salinas	PUCV, Tesista Ing. Acuicultura
Luis Pichott de la Fuente	FUNDACIÓN CHILE
Guillermo Rodríguez	Periodista de AQUA
Joan Salas	UCN Doctorado en Acuicultura
Jose Rengel	UCN Doctorado en Acuicultura
Marco Antoni Yevenes	LAB. TECMA
Débora Torrealba	PUCV, ECM: LEDA
Dannia Jimenes	PUCV Lab. Genet. e Inmunol Molec.
Marisela Carmona	Doctorado en Acuicultura
Paula Santana	PUCV Doctorado en Acuicultura
Roxana González	PUCV Doctorado en Biotecnología
Carlos Baez	APROPECH
Alvaro Labra	SERNAPESCA
Horst Pollak	APROPECH

4.4. Resumen ejecutivo

El taller se dá inicio a las 09:15 AM el día 19 de Agosto del 2010, con las palabras de bienvenida del Director de la Escuela de Ciencias del Mar de la PUCV, para continuar con la presentación del marco del proyecto, a cargo de la Ingeniero Pesquero, Mariel Campalans B., Jefa de Proyecto, quien expuso principalmente los objetivos y la metodología de éste.

Debido a la ausencia del Dr. Marcos Godoy, quien por razones de tiempo no pudo ser reemplazado, se solicitó al Dr. Kibenge que continuara con el taller, quien expuso sobre las interacciones virus-huésped en la anemia infecciosa del salmón, un orthomyxovirus de peces, describiendo el virus chileno como no cultivable, no patogénico y que no causa

infecciones, detectable sólo por medio de RT-PCR, que cuando resulta positivo, además de signología y mortalidades asociadas, involucra decretar el despoblamiento por brote.

A continuación, la Dra. Sandra Bravo, abordó el tema del Cáligus, comentando las implicancias que tiene este parásito en las enfermedades de alto riesgo que afectan a los salmónidos en Chile, sugiriendo que este organismo, por el estrés que produce, más bien predispone a los peces a ser infectados con agentes de enfermedades de alto riesgo (EAR), argumentando, que los mecanismos de infección de virus y bacterias septicémicas son a través de las branquias y tracto digestivo, ruta principal en el caso de *P. salmonis*, y que en el caso de virus ISA, la ruta de infección es vía oral por ingesta de mucus o fecas por la piel o las branquias.

A mediodía la Dra. Gloria Arenas expuso sobre los péptidos antimicrobianos en bivalvos marinos, indicando que éstos tienen sólo un tipo de sistema inmunitario innato y que los principales receptores en células inmunitarias son los péptidos antimicrobianos, los cuales son cationes (iones +) con aminoácidos orientados en dos caras hidrofóbica e hidrofílica. Su aplicación se traduciría en una alternativa a los antibióticos clásicos teniendo, además, un efecto antiviral. En cuanto a los mitílidos como vectores pasivos, mencionó que mediante una experiencia realizada, detectó virus ISA en *Mytilus edulis* en una alta concentración (80%) a las dos horas postdesafío, la que sin embargo, fue disminuyendo en muestras de hepatopancreas tomadas a las 9, 48 y 72 horas, desapareciendo totalmente a los 4 días. Se sugiere por ende, que los choritos no son reservorio del virus ISA y que los péptidos antimicrobianos tienen mucho que ver en esta cualidad.

El segundo ciclo de la tarde, fue iniciado por la Dra. Jacqueline Campalans, investigadora del equipo de trabajo del proyecto, quien dió a conocer los resultados del proyecto en lo que se refiere a los análisis de las muestras obtenidas según el plan de muestreo propuesto. Bajo estos resultados, la Dra. indicó que los Moluscos Bivalvos eliminan o destruyen rápidamente el virus ISA capturado desde el ambiente y al parecer participarían en la mantención de *P. salmonis*. Además se expuso que los copépodos del tipo Cáligus, capturados desde peces infestados, pueden mantener detectable al virus ISA y la bacteria *P. salmonis* inmediatamente después del muestreo, y que aunque no se registran

estadios tempranos de Cáligus en las muestras de Plancton analizadas, sí se detecta *P. salmonis* en baja prevalencia.

A continuación, la Dra. Alicia Gallardo, jefa del departamento de Acuicultura de Sernapesca, expuso sobre los programas de vigilancia y monitoreo vigentes para controlar las enfermedades presentes en la acuicultura en Chile, mediante una cronología de hechos. Así en el Plan de contingencia se ha considerado, el screening mediante PCR en tiempo real, la restricción de movimientos y chequeos previos obligatorios en todo Chile, lo mismo para ovas recibidas desde países proveedores, uso de vacunas, etc. Además se refirió a las 9 vacunas registradas para ISA_v, la agrupación de concesiones para salmonicultura en barrios o áreas de manejo sanitario, la zonificación y exigencias de densidad, el RESA, la Mesa del Salmón que ha contribuido a establecer los puntos críticos y proponer medidas de control, certificación ambiental INFA, entre otros temas referentes a medidas de manejo para virus ISA. Su presentación también cubrió el hecho que junto con la aparición del primer virus HPRO en 2009 se incorpora la *Sonda Taíman*, la cual mejoró la sensibilidad diagnóstica. La Dra. Gallardo concluyó indicando que se requiere actualizar los programas específicos de vigilancia y control que permitan conocer más sobre el patógeno y su epidemiología, detectar oportunamente los casos positivos, eliminar rápidamente los enfermos y proteger los negativos.

Luego, el Dr. Kibenge, trató sobre el tema del cultivo de salmón en un ambiente viral, donde plantea la constante interacción del ambiente (agua dulce o mar), con los patógenos virales y el hospedador, donde las altas densidades de cultivo, así como el escape de peces enfermos, introducción de especies, etc. favorece el desarrollo del patógeno y propagación de la enfermedad. Además concluyó que la acuicultura depende de las medidas de bioseguridad, vigilancia y diagnóstico, así como las estrategias de prevención, especialmente las vacunas, tanto para peces de cultivo como silvestres, ya que éstos en algunos casos desempeñan un papel importante en la re-infestación del patógeno.

Con relación a aportes desde el punto de vista de la tecnología de los equipos y estructuras para el confinamiento de peces, el Dr. Felipe Hurtado presentó el nuevo concepto de mallas con aleación de cobre que presentan la propiedad de evitar el establecimiento de fouling, para lo cual se apoyó con un video demostrativo del Consorcio

Ecosea Framing S.A., afirmando que las mortalidades por enfermedad se reducen en más de un 70%.

Al final del día, la Dra. M. Isabel Toledo presentó un estudio de reemplazo de aceites de pescado por una mezcla de aceites vegetales en la capacidad de respuesta inmune en salmón atlántico, de acuerdo a las nuevas tendencias en la formulación de alimentos para la etapa de agua dulce, donde concluye, que el reemplazo no afecta la resistencia al patógeno *P. salmonis*.

Durante la mañana del día 19 de Agosto, se realizó una reunión que consistió en presentar el diseño del programa a proponer, tarea efectuada por la Jefa de Proyecto, generando una discusión de acuerdo a los resultados obtenidos en este proyecto y otros estudios, que permitió estructurar el programa de monitoreo, recibiendo los aportes realizados por los participantes en el taller. Las conclusiones fueron que, en vista de los resultados del estudio, no es necesario modificar los programas ya existentes para la vigilancia de Cáligus y el virus ISA, siendo necesario incorporar monitoreos destinados a evaluar el impacto de la *Piscirickettsia salmonis* para obtener los mapas sinópticos, y en base a éstos, diseñar una estrategia de vigilancia y control que necesariamente involucre al fouling.

5. MANUSCRITO EN INGLÉS

Según lo establecido en el punto 2.5. de la Propuesta Técnica, se presenta la versión preliminar de la publicación internacional que incluye los principales resultados de este estudio, junto con su análisis y discusión (Ver Anexo X), con el nombre de:

“Significance of bivalves and the ectoparasite Caligus in the transmission of ISA and SRS in salmon farming in Chile”

Luego de someterlo a una etapa de adecuación lingüística, se realizarán los contactos pertinentes para presentarlo a una revista de difusión internacional.

6. DISCUSIÓN

Los avances en las tecnologías aplicadas a la acuicultura han permitido un aumento en los volúmenes de producción, a través de la diversificación de sus actividades con nuevos sistemas de producción y con el cultivo de nuevas especies. Sin embargo el control de los costos de producción se ha convertido en un problema fundamental para la viabilidad económica de las empresas dedicadas a esta actividad. Las enfermedades se presentan a menudo como un factor limitante que puede influir en la rentabilidad de las empresas, por lo tanto el conocimiento de la epidemiología de las enfermedades en una población es la clave para su control y para el diseño de medidas y programas de manejo que se deben implementar para combatirlas.

Se requiere generar o ampliar los conocimientos sobre el comportamiento de los patógenos mismos y sus mecanismos de transmisión, lo que incluye algunos elementos del ambiente, para introducir las medidas adecuadas dirigidas a la solución del problema en las poblaciones afectadas.

El presente estudio se orienta a la determinación de los posibles vectores o reservorios de cada uno de los patógenos considerados más importantes para la acuicultura en Chile, ya que este aspecto fundamental, aun no ha sido determinado con evidencia empírica. El esclarecimiento del rol que desempeñan los organismos estudiados en la transmisión y dispersión de agentes patógenos como virus ISA y *P. salmonis* contribuirá a definir políticas de control de estas patologías posibilitando la interrupción de las posibles vías de transmisión.

Considerando que un vector es una especie no susceptible que es capaz de dispersar un patógeno aumentando la infección en huéspedes susceptibles (Berthe & Alfonso, 2009), se asumió que un posible vector de los patógenos de impacto en los cultivos de salmones, podrían ser los copépodos parásitos, específicamente *Caligus rogercresseyi* porque es el principal ectoparásito identificado entre los peces de cultivo y los peces silvestres (Bravo, 1986; Carvajal *et al.*, 1998; Carvajal *et al.*, 2001; Bravo, 2003; Boxshall & Bravo, 2000; González *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 2004).

Por otra parte se sabe que los moluscos filtradores actúan como reservorios de ciertas enfermedades de peces ya que a través de las branquias cubiertas de mucus y cilios, que además de cumplir con la función respiratoria, retienen las partículas en suspensión, entre ellas, bacterias, virus y protistas planctónicos (Di Girolamo *et al.*, 1977). Estos microorganismos que son retenidos en el tracto digestivo o en el aparato filtrador suelen no ser nocivos para el molusco pero algunas veces amenazan la salud de otros organismos cuando se trata de bacterias patógenas, virus animales o biotoxinas producidas por dinoflagelados. Como los moluscos tienen un elevado ritmo de bombeo que se ha estimado entre 0,5 y 4 litros por hora (según tamaño de los moluscos y condiciones ambientales), ésto los hace verdaderos concentradores biológicos. Con estos antecedentes se decidió tomar al bivalvo filtrador *Mytilus chilensis* como posible reservorio de los patógenos de ISA y *P. salmonis* por tratarse de una de las especies más abundantes en el medio natural en la zona de cultivo de salmones en el país, ya sea porque es cultivada o porque forma parte de la fauna incrustante (fouling) de redes y estructuras flotantes en la zona.

Cáligus

Los resultados de la presencia del virus ISA en el ectoparásito *C. rogercresseyi* estarían señalando que el papel del copépodo como vector del virus en salmones es moderado, ya que la mayoría de los copépodos analizados (80%) se encontrarían libres del virus cuando están parasitando una jaula infectada. Por esa razón se estima que la probabilidad que un copépodo transporte al patógeno viral desde un huésped infectado a otro sano, es relativamente, bajo. En estudios realizados en Noruega se encontró que la importancia de los ectoparásitos en la transmisión del virus ISA es menor que la transmisión a través de la sangre y mucus de los mismos peces, determinándose que los efluvios provenientes de los peces cuando mueren o son procesados en las plantas, contienen grandes cantidades de virus y transmiten más efectivamente la enfermedad que las heces y el piojo marino (Rolland & Nylund, 1998).

Por otro lado el análisis de muestras de plancton que se obtuvieron para relacionar las muestras positivas a virus ISA con la presencia de formas tempranas de Cáligus no dio resultados positivos, por lo que probablemente el plancton no sea un elemento de gran

relevancia en la transmisión de este patógeno. Sin embargo, en este estudio dentro de las especies que componían el plancton no fueron detectadas las formas tempranas de *C. rogercresseyii* por lo que no se puede aún descartar la posibilidad de transmisión de los patógenos a este nivel. Esta ausencia de estadíos larvales tiene relación con el ciclo estacional del copépodo cuya abundancia en el plancton disminuye a fines de verano y continúa durante invierno (González *et al.*, 1997 y Bravo *et al.*, 2009).

Al parecer la predisposición a la infección del virus en presencia del Cáligus se debe a que estos parásitos generan estrés, provocando la disminución de las defensas del huésped (Johnson *et al.*, 2004, Rolland & Nylund 1998, Devold *et al.*, 2000). El papel del *C. rogercresseyii* en la transmisión de este patógeno es limitado, esto hace suponer que el rol que desempeña este parásito, es más bien de factor desencadenante de enfermedad debido a la disminución de las defensas por el estrés provocado por la Caligidosis más que por ser reservorio del patógeno (ISAV). Por otro lado si se toma en cuenta que la enfermedad también se encuentra en la región en donde no se desarrollan los copépodos (Magallanes) y que la definición de vector biológico es que éstos forman parte del ciclo de vida de los agentes, y que sin ellos, los agentes no pueden completar su ciclo (Hernández-Chavarría, 2002 y Berthe & Afonso 2009) se estima que los copépodos parásitos de los salmónidos en la Región de los Lagos cumplirían una función de vector mecánico respecto al agente viral de ISA en ambientes en donde se presenta el virus.

La relación de *C. rogercresseyii* respecto a *P. salmonis*, es similar al presentado con el agente viral ISA. En el primer muestreo se detectó un bajo porcentaje de centros en la que se observó la bacteria en los ectoparásitos de los salmones (2 de 9 centros). En esa oportunidad la prevalencia del agente bacteriano *P. salmonis* en copépodos fue del 1,5% respecto del total de pooles del ectoparásito analizados. En consecuencia durante el primer muestreo la mayoría de los copépodos ectoparásitos se encontraban libres de la bacteria patógena de salmones. Cabe hacer notar que durante el primer muestreo dos centros de la zona III informaron que se habían realizado tratamientos contra la bacteria en la semana del muestreo, lo que explicaría la baja proporción de centros con el patógeno en dicha campaña.

Esta situación cambia en el segundo muestreo, en donde el 50% de los centros de salmones que presentaron copépodos, resultaron positivos para *P. salmonis* (3/6), y la prevalencia del agente bacteriano fue del 51% (20/39 pooles). En el segundo muestreo a pesar que se detectó menor cantidad de ectoparásitos en los peces, éstos presentaron mayor prevalencia de *P. salmonis* respecto del primer muestreo. La menor carga de parásitos puede estar respondiendo al manejo realizado por los centros para disminuir las cargas de copépodos y con los periodos de descanso después de la cosecha. Según Félix Inostroza, Director del Servicio Nacional de Pesca, en entrevista para Fishfarmingxpert (2010) indica que desde la aplicación del programa de vigilancia de caligidosis a partir del 2007, las cargas parasitarias promedio han disminuido en las principales zonas de cultivo del país, es así como en la región de Los Lagos ha disminuido desde 19 parásitos por pez en el año 2007 a 2,4 en julio del 2010, en tanto en la región de Aysén disminuye desde 4,5 parásitos por pez a 2,8 parásitos en las mismas fechas.

La alta prevalencia detectada de la bacteria en los ectoparásitos de peces durante la segunda campaña de muestreo a diferencia de la nula observación durante la primera campaña, podría estar relacionada con múltiples factores tales como una mayor densidad poblacional de salmones, aspecto que no fue evaluado, pero según Larenas *et al.*, (1995) los brotes por esta enfermedad aumentan cuando los peces son sometidos a densidades altas, también se ha asociado a factores estresantes del ambiente, como bloom de algas no tóxicas, temperaturas fluctuantes y fuertes tormentas (Branson & Nieto Diaz-Munoz, 1991), no obstante según los registros de temperatura oxígeno, salinidad y visibilidad que se obtuvieron en el estudio, éstos se encuentran en niveles considerados normales para las regiones estudiadas. Por lo que con los datos ambientales obtenidos en este estudio no es posible explicar las diferencias entre las prevalencias de *P. salmonis*, observadas en el ectoparásito *C. rogercresseyi* entre ambas campañas.

Dado que el ectoparásito *C. rogercresseyi* presenta una mayor prevalencia de ambos patógenos (ISAv y *P. salmonis*) en el segundo muestreo, cuando la carga de copépodos en los peces fue menor, se sugiere que su importancia en la transmisión de dichos patógenos es menor. El estudio de Smith *et al.*, (1999), demostró en forma experimental que *P. salmonis* puede penetrar por piel y branquias sin lesiones y en ausencia

de vectores. Además, dichos estudios establecieron que la inoculación subcutánea del agente patógeno es capaz de producir altas mortalidades, lo cual sugiere, que eventualmente algunos ectoparásitos pudieran jugar un papel en la transmisión horizontal de la enfermedad.

Al igual que en caso de la transmisión del virus ISA y la asociación con los copépodos, se estima que los copépodos parásitos de los salmónidos en la región de Los Lagos y Aysén cumplirían una función de vector mecánico respecto al agente bacteriano *P. salmonis* en ambientes en donde se presenta la bacteria.

Incrustaciones (Fouling)

También se estudió la relación del fouling, definido como incrustaciones de fauna y flora en las redes, en la dispersión del virus. El fouling provoca obstrucción de las redes y disminución de la disponibilidad de oxígeno para los peces, pero además podría tener relación con la mantención de patógenos en el ambiente, actuando como reservorio. En este caso fue estudiada específicamente la relación de moluscos bivalvos del fouling por su tipo de alimentación filtradora, lo que contribuiría a la bioacumulación de partículas entre las que se pueden mencionar algunos patógenos, al alcanzar concentraciones superiores a las del medio.

Es posible que la nula detección de virus en los moluscos del fouling en la primera campaña de muestreo tenga relación con la titulación viral en la columna de agua o a la presencia o no de partículas en suspensión. Según Metcalf *et al.*, (1979) se ha observado una mayor tasa de acumulación en los moluscos filtradores cuando la concentración de virus en el agua es alta. En cuanto a la localización de los virus, estos se acumulan en el tracto digestivo, pero otras partes del cuerpo (branquias, manto, piel) tienen niveles de contaminación similares al del agua circundante (Power y Collins, 1990). Varios estudios se han hecho en agua de mar y los resultados señalan que con concentraciones de 10^2 y 10^3 UFC/ml existe un equilibrio entre la tasa de acumulación y la tasa de depuración (Landry *et al.*, 1982; Mesquita, 1988). Respecto al estado en que se encuentran los virus (libre o adsorbido a partículas) juega también un papel muy importante, siendo más fácil de acumular si está unido a material suspendido (Metcalf *et al.*, 1979)

Las variables oceanográficas medidas en las zonas de muestreo indican que no habría ocurrido presencia de material particulado diferente entre una u otra campaña de muestreo, por lo tanto los factores que pueden haber influido en que se detecta mayor prevalencia del virus en los moluscos del fouling en la segunda campaña, se debe presumiblemente a que el virus se encontraría en una baja titulación en la columna de agua durante el primer muestreo.

En el caso de la bacteria *P. salmonis* en los bivalvos, durante el primer muestreo, ésta no se detecta en ningún molusco proveniente tanto desde fouling como de centros de cultivo de *M. chilensis*. En cambio, en el segundo muestreo, se detecta la bacteria en el fouling del 90% de los centros de cultivo de salmones, con una prevalencia de 85% respecto al total de pooles analizados. En los dos centros de cultivo de *M. chilensis* se presenta con una prevalencia de 83%. La diferencia entre las dos campañas de muestreo puede ser por las mismas razones mencionadas anteriormente, es decir que la carga de bacterias en la columna de agua puede haber sido muy baja y la tasa de concentración de la bacteria en el molusco puede haberse igualado con la tasa de depuración.

Los resultados de la segunda campaña de muestreo estarían indicando que la bacteria se detecta en el fouling de los centros de cultivo de salmones en una prevalencia mayor en la zona I (Calbuco) respecto a la zona II (Aysén) (70% y 28% respectivamente), en tanto en la zona IV, como el centro de cultivo analizado sólo fue uno, la prevalencia no resulta comparable (40%). Estos resultados demuestran que la bacteria se encuentra en una alta prevalencia en el fouling de los centros de cultivo de salmones en la zona I (Calbuco) respecto al resto de las zonas y que los centros de cultivo de mitílidos analizados presentan una prevalencia del 84% en la zona analizada (zona I). La mayor prevalencia de *P. salmonis* en los centros de mitílidos respecto a la prevalencia de la bacteria en el fouling, de centros de salmones, se debería a que estos organismos permanecen por mayor tiempo en el medio aumentando la bioacumulación, en comparación al fouling que permanece menor tiempo en las estructuras de los centros de cultivo de salmones.

Esto podría estar reflejado también en los casos positivos de *P. salmonis* que se detectaron en muestras de plancton durante el segundo muestreo en la zonas I y III (Calbuco, Aysén), lo que podría indicar que la bacteria se encontraría libre en la columna

de agua o bien adsorbida en organismos del plancton. Según Larenas *et al.*, (2005) la presencia de *P. salmonis* se debería a que ésta es expulsada en la orina y heces de los peces infectados, permaneciendo viable por largo tiempo en el agua para infectar otros peces (Cvitanich *et al.*, 1991), es en esta situación que las bacterias serían filtradas por los bivalvos.

Las pruebas para detectar la viabilidad de las bacterias en los moluscos por los métodos tradicionales no fueron concluyentes, probablemente debido a que el *Mytilus chilensis* no es el huésped objetivo del patógeno *P. salmonis*. Los órganos que estarían concentrando al agente bacteriano (de los peces) en los moluscos sería el sistema digestivo (superficie branquial y la glándula digestiva) órganos que a su vez concentran todo tipo de microorganismos provenientes del medio, lo que hace prácticamente imposible aislar el patógeno en estado lo suficientemente puro para crecer en cultivo celular sin antibióticos.

Participación de *M. chilensis* como bioacumulador de patógenos relevantes

De los resultados obtenidos en la experiencia de simulación de descanso queda en evidencia el comportamiento diferenciado de los moluscos componentes del fouling frente a los dos patógenos más importantes para la salmonicultura en Chile en la actualidad. En el caso del virus ISA, la conservación del patógeno a niveles detectables es reducida, confirmando la labilidad del patógeno en ambientes fuera del huésped, lo que indicaría que los moluscos no serían un factor relevante a la hora de establecer planes de vigilancia y control del virus. En cambio en el caso de *P. salmonis*, se observó que los moluscos bivalvos constituyen un eslabón importante en la mantención del patógeno en el medio, ya que la bacteria aun se detecta 66 días después de iniciada la simulación de descanso con los moluscos en laboratorio.

Según el trabajo de Olivares & Marshall, 2010, la bacteria *P. salmonis* permanecería detectable en la columna de agua hasta 40 días después que se han cosechado las jaulas de salmones en sitios de cultivo altamente infectados. Los resultados obtenidos en este estudio durante la experiencia de simulación de descanso, indican que la bacteria es detectable en los mitílidos del fouling y de los centros de cultivo cercanos a los centros de salmones y

que ésta se encontraría presente aún después de 66 días de iniciada la experiencia de simulación de descanso.

Desde la primera detección de la bacteria en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), se sospecha la existencia de reservorios marinos para *P. salmonis*. Según Fryer & Hedrick (2003), esta presunción nace de la ausencia de evidencias de transmisión asociadas a ovas observadas en los estudios de Lannan & Fryer (1993), estableciendo que lo más probable es que la bacteria provenga del ambiente marino. En este estudio se prueba que el rol de reservorio estaría siendo desempeñado total y parcialmente por *M. chilensis* presentes en los centros de salmones y sus alrededores.

Respecto al tiempo en que los virus permanecerían en los moluscos, en la experiencia de simulación de descanso, se observa que los virus se detectan durante las primeras 24 horas y luego desaparecen siendo indetectables por las técnicas de RT-PCR. Similares resultado fueron presentados en el trabajo de Skar & Mortensen (2007), quienes desafiaron experimentalmente con el virus ISA al bivalvo *Mytilus edulis* y detectaron al virus sólo hasta 72 h. post desafío.

Basado en los resultados en la experiencia de simulación de descanso realizada en *M. chilensis* provenientes de la zona III y IV, se confirma que este bivalvo no participa en el ciclo infeccioso de ISAv.

Indicadores epidemiológicos

De acuerdo a los resultados en los que no se encontró una asociación entre las prevalencias de los patógenos estudiados y los factores ambientales históricos y observados *in situ* se puede señalar que la base de datos disponibles fue insuficiente para llegar a encontrar algún factor que se presente en forma clara como indicador epidemiológico. La dificultad para encontrar un factor responsable, es que las causas que llevan a que se manifieste una enfermedad no son debidas a una sola variable. Muchos factores pueden influir en la variación espacial y temporal de la prevalencia e intensidad de los patógenos ya sea que afecten al parásito o al huésped o a su interacción. Se debe considerar también el estado fisiológico del organismo relacionado con aspectos tales como estado nutricional, edad y madurez, entre otros.

Con frecuencia la proliferación de bacterias patógenas en los organismos poikilotermos se ha asociado a aumentos de la temperatura del agua o a cambios en los factores ambientales (Farley, 1977; Fisher, 1992). En forma más categórica los autores Stewart (1969) y Lauckner, (1983), señalan que el aumento de temperatura es el factor clave que permite la invasión bacteriana en los organismos poikilotermos. Sin embargo, en el caso de los moluscos, Olafsen *et al.* (1993) encuentra resultados diferentes en un mitílido de aguas Antártica (*Modiolus modiolus*) en el cual detecta bacterias en su hemolinfa cuando la temperatura del agua presentaba valores entre de 4 a 6 °C y las bacterias no se encontraban en el agua.

Por lo anterior se requeriría de un modelo que considere todas las variables, para lo cual es necesario contar con una base de datos ambientales, la distribución espacial y temporal de los brotes, la prevalencia de los mismos, de tal manera que permitan predecir una situación de riesgo de una patología.

7. CONCLUSION

Los copépodos parásitos de los salmónidos en la región de los Lagos cumplen una función de vector mecánico respecto al agente viral de ISA y al agente bacteriano *P. salmonis* en ambientes en donde se presentan dichos agentes.

El molusco bivalvo *Mytilus chilensis* actúa como reservorio de *Piscirickettsia salmonis* en las regiones estudiadas manteniendo un foco dinámico y permanente de circulación del patógeno en dichos ambientes geográficos. Por el contrario, este bivalvo no participa en el ciclo infeccioso de ISAv.

La medida de descanso sanitario no es adecuada para controlar los brotes de *P. salmonis*, pues el patógeno se mantiene en los *M. chilensis* por periodos superiores a 60 días.

El control del virus ISA mediante el descanso de los centros, en relación con los moluscos, es una medida eficiente ya que el tiempo post cosecha en que se detecta en el ambiente (bivalvos del fouling) es relativamente breve.

No hay suficiente evidencia para modificar los programas de vigilancia actuales sobre *C. rogercresseyi* ya que no representa una especie de gran importancia en relación con la transmisión de los patógenos estudiados. Sino que actuarían solo como un agente estresante que predispone a los peces a infecciones por patógenos presentes en el ambiente.

8. BIBLIOGRAFIA

- Adams, M.B., K.A. Gross and B.F. Nowak. 2009. Branchial mechanical injury does not accelerate the progression of experimentally induced amoebic gill disease (AGD) in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Amsterdam* 290():28-36
- Adams, M.B., M. Villavedra and B.F. Nowak. 2008. An opportunistic detection of amoebic gill disease in blue warehou, *Seriolella brama* Günther, collected from an Atlantic salmon, *Salmo salar* L., production cage in south eastern Tasmania. *Journal of Fish Diseases*. 31: 713-717.
- Adams, M.B. and B.F. Nowak. 2004a. Sequential pathology after initial freshwater bath treatment for amoebic gill disease in cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*. 27:1-10.
- Adams, M.B. and B.F. Nowak. 2004b. Experimental amoebic gill disease of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: further evidence for the primary pathogenic role of *Neoparamoeba* sp. *Journal of Fish Diseases*. 27: 105-113.
- Adams, M.B. and B.F. Nowak. 2003. Amoebic gill disease: sequential pathology in cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*. 26: 601-614.
- Adams, M.B. and B.F. Nowak. 2001. Distribution and structure of lesions in the gills of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., affected with amoebic gill disease. *Journal of fish Diseases*. 24:535-542.
- Aguayo, J., A. Miquel, N. Aranki, A. Jamett, P. D. T. Valenzuela and L. O. Burzio. 2002. Detection of *Piscirickettsia salmonis* in fish tissues by an enzyme-linked immunosorbent assay using specific monoclonal antibodies. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 49: 33-38.
- Aldrin, M., Storvik B., Frigessi A., Viljugrein H. and P.A. Jansen. 2010. A stochastic model for the assessment of the transmission pathways of heart and skeleton muscle inflammation, pancreas disease and infectious salmon anaemia in marine fish farms in Norway. *Prev Vet Med.* 2010 Jan 1;93(1):51-61.
- Almendras, F.E. and I.C. Fuentealba. 1997. Salmonid rickettsial septicemia caused by *Piscirickettsia salmonis*: a review. *Diseases of Aquatic Organism, Dis. Aquat. Org.* 29: 137-144 (Review).
- Alvarado, V., J.W. Schäfer; R. Enríquez; M. Monras; V. Cubillos; C. Farias y A. Alberdi. 1990a. Síndrome del Salmón Coho (S.S.C.), nueva enfermedad de salmonídeos

cultivados en fase de agua de mar en Chile. Situación actual. *Patología Animal* 4: 10-13.

- Alvarado, V.; J.W. Schäfer; R. Enríquez; M. Monras; V. Cubillos; C. Farias y A. Alberdi. 1990b. Nueva enfermedad del Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) cultivado en fase de agua de mar en Chile. En: VIII Congreso de Med. Vet., Valdivia, Chile. pp. 128.
- Alvarez, M.R., F.E. Friedl, J.S. Johnson and G.W. Hinsch. 1991. Factors affecting in Vitro phagocytosis by oyster hemocytes. *J. Invertebr. Pathol.* 54:233-241.
- Antychowicz, J. 2007. Study on rainbow trout nodular gill disease detected in Poland. *Bull Vet Inst Pulawy* 51, 547-551.
- Asencio, G., J. Carvajal., V. Osorio, C. Levicoy and M.T. González. 2009. Efficacy of fallowing sites for the mitigation of sea lice in Chilean salmon farming: a search for biological indicators. *Aquaculture* (Submitted).
- Austin, B., Embley, T.M. and M. Goodfellow. 1983. Selective isolation of *Renibacterium salmoninarum*. *FEMS Microbiology Letters* 17:111-114.
- Bandin, I, Santos Y, Barja J.L. and A.E. Toranzo. 1993. Detection of a common antigen among *Renibacterium salmoninarum*, *Corynebacterium aquaticum*, and *Carnobacterium piscicola* by the western blot technique. *J aquat Anim Health* 5: 172-176.
- Barnes, M.N., M.L. Landolt, D.B. Powell and J.R. Winton. 1998. Purification of *Piscirickettsia salmonis* and partial characterization of antigens. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 33: 33-41.
- Berthe, C.F., and A. Alfonso 2009. International epidemiology of mollusk diseases: Learning the lessons from two recent assessments on susceptible and vector species by the European Food Safety Authority. *Fish Pathol.*, 44, 115-119.
- Biancchesi, S., Le Berre, M., Le Guillou, S., Benmansour, A., Bremont, M. and E. Quillet. 2007. Fish genotype significantly influences the susceptibility of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to waterborne infection with infectious salmon anaemia virus. *Dis. Aquat. Organ.*, 30, 631-636.
- Bohle, H., Kjetil F., Bustos P., Riofrío A. y C. Peters. 2007. Fenotipo Atípico de *Vibrio ordalii*, Bacteria altamente patogénica aislada desde Salmón del Atlántico cultivado en las Costas Marinas del Sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria* 39: 43 – 52.

- Bondad-Reantaso, M.G., R.P. Subasinghe, J.R. Arthur, K. Ogawa, S. Chinabut, R. Adlard, Z. Tan and M. Shariff. 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet Parasitol.* 132(3-4):249-72.
- Bootland, L.M. and J.C. Leong. 1999. Infectious hematopoietic necrosis virus. In: Woo, P.T.K. and Wallingford, B.D.W. (Eds.) *Fish Diseases and Disorders*, vol. 3, 57-112. Edited by UK: CAB International.
- Bouchard, D, Brockway, K., Giray, C., Keleher, W and P. Merrill. 2001. First report of infectious salmon anemia virus (ISA) in the United States. *Bull. Eur. Assoc. fishPathol.* 21; 86-88.
- Bouchard, D., W. Keleher, H.M. Opitz, S. Blake, K.C. Edwards and B.L. Nicholson. 1999. Isolation of infectious salmon anemia virus (ISAV) from Atlantic salmon in New Brunswick, Canada. *Diseases of Aquatic Organism, Dis. Aquat. Org.* 35: 131-137.
- Boxshall, G. A. and S. Bravo. 2000. On the identity of the common *Caligus* (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) from salmonid netpen systems in southern Chile. *Contribution to Zoology* 69: 137-146.
- Branson, E.J. and D. Nieto Diaz-Munoz. 1991. Description of a new disease condition occurring in farmed coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in South America. *Journal of Fish Diseases* 14: 147-156.
- Bravo, S. 2010. The reproductive output of sea lice *Caligus rogercresseyi* under controlled conditions. *Experimental Parasitology*. Volume 125, Issue 1, Pages 51-54.
- Bravo, S., J. Treasurer, M. Sepulveda and C. Lagos. 2010. Effectiveness of hydrogen peroxide in the control of *Caligus rogercresseyi* in Chile and implications for sea louse management. *Aquaculture* Volume 303, Issues 1-4. Pages 22-27.
- Bravo, S., F. Erranz and C. Lagos. 2009. A comparison of sea lice, *Caligus rogercresseyi*, fecundity in four areas in southern Chile. *Journal of Fish Diseases*, 32: 107-113.
- Bravo, S., V. Pozo and M.T. Silva. 2008. The tolerance of *Caligus rogercresseyi* to salinity reduced in southern Chile. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 28 (5): 198-206.
- Bravo, S., S. Sevatdal and T.E. Horsberg. 2008. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile. *Aquaculture*: 282. 7-12.
- Bravo, S., M. Perroni, E. Torres and M.T. Silva. 2006. Report of *Caligus rogercresseyi* in the anadromous brown trout (*Salmo trutta*) in the Río Gallegos Estuary, Argentina. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 26 (4), 186-193.

- Bravo, S. 2008. Sea lice in Chilean salmon farms. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 23 (4):197-200.
- Bravo, S. 2000. Occurrence of atypical furunculosis in Chile. Bull. Eur- Ass. Fish Pathol. 20 (5): 209-211
- Bravo, S. 1996. *Enterocytozoon salmonis* in Chile. FHS/AFS Newsletter. Vol. 24 (1): 12-13.
- Bravo, S. and M. Campos. 1989a. Síndrome del Salmón Coho. Chile Pesquero 54: 47-48.
- Bravo, S. and M. Campos. 1989b. Coho salmon syndrome in Chile. FHS/AFS Newsletter 17:3.
- Bravo, S. 1986. Registro de parásitos detectados en salmónidos de cultivo en la X región. Laboratorios Pfizer.
- Brocklebank J., T.P. Evelyn, D.J. Speare and R. D. and Armstrong. 1993 Rickettsial septicemia in farmed Atlantic and chinook salmon in British Columbia: Clinical presentation and experimental transmission. Can Vet J. 34: 745-748.
- Bustos, P., Calbuyahue. J., Montaña, J., Opazo, B., Entrala P. and R. Solervicens. 1995. First Isolation of *Flexibacter psychrophilus* as Causative Agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS) Producing Rainbow Trout Mortality in Chile. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 15: 162-164.
- Byrne, P.J., MacPhee D.D., Ostland V.E., Johnson G. and H.W. Ferguson. 1998. Haemorrhagic kidney syndrome of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis., 21, 81- 91.
- Campalans, M., P. Rojas, J. Campalans, I. Guerrero, S. Bravo, X. Figueroa. 2002. Técnicas de diagnóstico de enfermedades de salmónidos, mitílidos, pectínidos y ostreídos. Proyecto FIP 2001-09. FIP-IT/2001-09.
- Campalans M., P. Rojas, J.I. Sepúlveda, R. Castro, I. Guerrero y J. Pascual. 1995. Programa de vigilancia de patologías de salmonídeos cultivados en la zona sur-austral. Proyecto FIP-IT/93-29.
- Carvajal, J., G. Ruiz and F. Sepúlveda. 2001. Symbiotic relationship between *Udonella* sp. (monogenea) and *Caligus rogercresseyi*. (copepoda), a parasite of the Chilean rock cod *Eleginops maclovinus*. Arch. Med. Vet. 33: 31-36

- Carvajal, J., L. González and M. George-Nascimento. 1998. Native sea lice (Copepoda: Caligidae) infestation of salmonids reared in net pen systems in southern Chile. *Aquaculture* 166: 241-246.
- Cassigoli, J. 2000. Catastro de enfermedades de peces nativos circundantes a centros de cultivo de salmónidos. Proyecto FIP-IT/97-38.
- Chacko, A.J., G.L. Hoffman and S. Bravo. 2001. *Kudoa Thyrsites* (Myxozoa, Multivalvulida) detected in the muscles of farmed Atlantic Salmon from Chile. Abstract Book: International Conference EAAP 9-14 September, Dublin, Irlanda.
- Chang, B.D., Page F.H., Losier R.J., Greenberg D.A., Chaffey J.D. and E.P. McCurdy. 2005. Water circulation and management of infectious salmon anemia in the salmon culture industry of Cobscook Bay, Maine and adjacent southwestern New Brunswick. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 2598 III+54 p.
- Chen, M.F., S. Yun, G.D. Marty, T.S. McDowell, M.L. House, J.A. Appersen, T.A. Guenther, K.D. Arkush and R.P. Hedrick. 2000. A *Piscirickettsia salmonis*-like bacterium associated with mortality of white seabass *Atractoscion nobilis*. *Dis. Aquat. Org.* 43: 117-126.
- Chen, X.W., IJkel W.F.J., Dominy C., Zanotto P.M.D., Hashimoto Y., Faktor O., Hayakawa T., Wang C.H., Prekumar A., Mathavan S., Krell P.J., Hu Z.H. and J.M. Vlak. 1999. Identification, sequence analysis and phylogeny of the lef-2 gene of *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid baculovirus. *Virus Res.* 65, 21-32.
- Chen S.C., M.C. Tung, S.P. Chen, J.F. Tsai, P.C. Wang, R.S. Chen, S.C. Lin and A. Adams. 1994. Systematic granulomas caused by a rickettsia-like organism in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), from Southern Taiwan. *J Fish Dis* 17, 591-599.
- Clover, C. 2004. *The End of the Line: How Overfishing is Changing the World and What We Eat*. London: Ebury Press. ISBN 0-09-189780-7.
- Colquhoun, D.J., I.L. Aase, C. Wallace, A. Baklien and K. Cravnigen. 2004. First isolation of *Vibrio ordalii* from Chile. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. Vol. 24(4):185-188.
- Comps, M., Trindade M. and C. Delsert. 1996. Investigation of fish encephalitis viruses (FEV) expression in marine fishes using DIG-labelled probes. *Aquaculture* 143, 113±121.
- Costello, M.L. 2009. How sea lice from salmon farms may cause wild salmonid declines in Europe and North America and be a threat to fishes elsewhere. *Biological Science. Proc. R. Soc. B.* doi:10.1098/rspb.2009.0771. Published online.

- CPPS. Comisión Permanente del Pacífico Sur: Estudio Regional del Fenómeno El Niño (ERFEN).[En línea]. Disponible en:
<http://www.inocar.mil.ec/links.php?C=1andS=5andidC=1>
- Crosbie, P.B.B., M.B. Adams, M.G. Attard and B.F. Nowak. 2007. Development of an *in vivo* assay to assess attachment of *Neoparamoeba* sp. (an amphizoic gymnamoeba) to the gills of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J Fish Dis. 2007 Mar;30(3):187-90.
- Crosbie, P.B.B., C. Macleod, S. Forbes and B.F. Nowak. 2005. Distribution of *Neoparamoeba* sp. in sediments around marine finfish farming sites in Tasmania. Dis. Aquat. Org. 67: 61-66.
- Cubillos, V., Farías C., Alberdi A., Alvarado V., Schäfer W. y M. Monrás. 1990. Características anatomopatológicas del síndrome del salmón coho (S.S.C.), nueva enfermedad de los salmonídeos. Patología Animal 4: 14-17.
- Cutrin, J.M., J.G. Oliveira, J.L. Barja & C.P. Dopazo. 2000. Diversity of infectious pancreatic necrosis virus strains isolated from fish, shellfish, and other reservoirs in northwestern Spain. Applied and Environmental Microbiology 66, 839–843.
- Cvitanich, J.D., N.O. Gárate and C.E. Smith. 1991. The isolation of a *rickettsia*-like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulate. J. Fish Dis. 14:121-145.
- Cvitanich, J.D., N.O. Gárate and C.E. Smith. 1990. Etiological agent in a Chilean coho disease isolated and confirmed by Koch's postulates. FHS/AFS Newsletter 18:1-2.
- Dannevig, B.H., K. Falk, and E. Namork. 1995. Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. J. Gen. Virol. 76: 1353-1359.
- Davies, A.J. 1986. A rickettsia-like organism from dragonets, *Callionymus lyra* L. (Teleostei: Callionymidae) in Wales. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 6: 103-104.
- Devold, M., B. Krossoy, V. Aspehaug and A. Nylund. 2000. Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org. 40: 9-18.
- Di Girolamo, R., Liston J. and J. Matches. 1977. Ionic bonding, the mechanism of viral uptake by shellfish mucus. Appl Environ Microbiol 33:19–25

- Dixon, L.K., Twigg S.R.F., Baylis S.A., Vydelingum S., Bristow C., Hammond J. M. and G.L. Smith. 1994. Nucleotide-sequence of a 55 kbp region from the right end of the genome of a pathogenic African swine fever virus isolate (Malawi LIL20/1). *J Gen Virol* 75, 1655–1684.
- Dyková, I., A. Figueras, B. Novoa and J. Fernández Casal. 1998. *Paramoeba* sp., an agent of amoebic gill disease of turbot *Scophthalmus maximus*. *Dis. Aquat. Org.* 33: 137-141.
- Enriquez, R. 1995. Actual situation of the disease produced by *Piscirickettsia salmonis* in Chile. In: Abstracts Book of the European Association of Fish Pathologists Seventh Internacional Conference 'Diseases of Fish and Shellfish', Palma de Mallorca, p 22.e
- Evelyn, T.P.T. 1977. An improved growth medium for the kidney disease bacterium and some notes on using the medium. *Bulletin of Office of International Epizootics* 87:511-513.
- Evenden, A.J., Grayson T.H., Gilpin M.L. and C.B. Munn. 1993. *Renibacterium salmoninarum* and bacterial kidney disease: the unfinished jigsaw. *Annu. Rev. Fish Dis.* 3, 87–104.
- Falk, K., E. Namork and B.H. Dannevig. 1998. Characterization and applications of a monoclonal antibody against infectious salmon anaemia virus. *Diseases of Aquatic Organism, Dis. Aquat. Org.* 34: 77-85.
- Falk, K., Namork, E., Rimstad, E., Mjaaland, S. and B. Dannevig. 1997. Characterization of Infectious Salmon Anemia Virus, an *Orthomyxo*-Like Virus Isolated from Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Virology* 71: 9016-9023.
- Falk, K. and B.H. Dannevig. 1995. Demonstration of a protective immune response in infectious salmon anaemia (ISA)-infected Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.* 21: 1-5.
- Farley, C.A. 1977. Neoplasms in estuarine molluscs and approaches to estuarine causes. *Ann.N.Y. Acad. Sci.* 298:225-232.
- Fisher, W.S. 1992. Occurrence of agglutinins in the pallial cavity mucus of oysters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 162:1
- Fryer, J.L. and Hedrick, R.P. 2003. *Piscirickettsia salmonis*: a Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *J. Fish Dis.* 26:251-62.
- Fryer J.L. and M.J. Mauel. 1997. The Rickettsia: an emerging group of pathogens in fish. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 3. Number. 2.(Synopses).

- Fryer J.L. and C.N. Lannan. 1994. Rickettsial and chlamydial infections of freshwater and marine fishes, bivalves, and crustaceans. *Zoological Studies* 33: 95 - 105.
- Fryer, J.L. and C.N. Lannan. 1993. The history and current status of *Renibacterium salmoninarum*, the causative agent of bacterial kidney disease in Pacific salmon. *Fisheries Res.* 17, 15–33.
- Fryer, J.L., C.N. Lannan, S.J. Giovannoni, and N.D. Wood. 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. Nov., sp. Nov., the causative agent of an Epizootic Disease in Salmonid Fishes. *International journal of systematic bacteriology*. Vol 42. no.1. 120-126
- Fryer, J.L., C.N. Lannan, L.H. Garces, J.J. Larenas and P. Smith. 1990. Isolation of a Rickettsiales-Like Organism from Diseased Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. *Fish Pathol.* 25: 107-114.
- Gaggero A., Castro H., Sandino A.M. 1995. First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the freshwater stage of their life cycle. *J Fish Dis* 1995; 18: 277-279.
- Gárate, O. 1990. Aislado y Confirmado por Postulados de Koch, microorganismo causante de la enfermedad del Salmón Coho en Chile. *Publicación Interna Trouwn Suralim; Puerto Montt, Chile.*
- Garcés, L.H., Larenas J.J., Smith P.A., Sandino S., Lannan C.N. and J.L. Fryer. 1991. Infectivity of a rickettsia isolated from coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Diseases of Aquatic Organisms* 11, 93–97.
- Garcías, F., J. Mendoza y J. Carvajal. 2005. Posible susceptibilidad de *Oncorhynchus kisutch* a adquirir piscirickettsiosis en la fase de engorda debido al estrés fisiológico que le produce la alimentación a saciedad. *Revista AquaTIC*, no. 22, 11-19.
- Gattuso, A., R. Mazza, S. Imbrogno, A. Sverdrup, B. Tota and A. Nylund. 2002. Cardiac performance in *Salmo salar* with infectious salmon anaemia (ISA): putative role of nitric oxid. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 52: 11-20.
- Gesam Consultores. 2005. Diagnóstico de la acuicultura de pequeña escala en Chile. FIP-IT/2004-26-1.
- Ghittino, C. , M. Latini, F. Agnetti, C. Panzieri, L. Lauro, R. Ciappelloni and G. Petracca. 2003. Emerging Pathologies in Aquaculture: Effects on Production and Food Safety. *Veterinary Research Communications*, 27 Suppl. 1: 471–479.

- Gilad, O., S. Yun, M.A. Adkison, K. Way, N.H. Willits, H. Bercovier and R.P. Hedrick. 2003. Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi. *J Gen Virol* 84 (2003), 2661-2667.
- Gironès, N., Carrasco-Marin E., Cuervo H., Guerrero N.A., Sanoja C., John S., Flores-Herráez R., Fernández-Prieto L., Chico-Calero I., Salgado H., Carrión J. and Fresno M. 2007. Role of *Trypanosoma cruzi* autoreactive T cells in the generation of cardiac pathology. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Jun;1107:434-44.
- Glover, K.A., Skår C., Christie K.E., Glette J., Rudra H. and O. Skaala. 2006. Size-dependent susceptibility to infectious salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) of farm, hybrid and wild parentage. *Aquaculture* 254:82–91.
- Godoy, M., A. Aedo, M.J.T. Kibenge, D.B. Groman, C.V. Yason, H. Grothusen, A. Lisperguer, M. Calbucura, F. Avendaño, M. Imilán, M. Jarpa, and F.S.B. Kibenge. 2008. First detection, isolation and molecular characterization of infectious salmon anaemia virus associated with clinical disease in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Chile. *BMC Vet Res.* 2008; 4: 28.
- González, L. and J. Carvajal. 2003. Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids. *Aquaculture*: 220. 101-117.
- González, L., J. Carvajal and M. George-Nascimento. 2000. Differential infectivity of *Caligus flexispina* (Copepoda, Caligidae) in three farmed salmonids in Chile. *Aquaculture* 183: 13-23.
- González, L., J. Carvajal y A. Medina. 1997. Susceptibilidad comparativa de trucha arco iris y salmón coho a ectoparásitos de importancia económica. *Arch. Med. Vet.* 29(1): 1-8.
- González, L. y J. Carvajal G. 1994. Parásitos en los cultivos marinos de salmónidos en el sur de Chile. *Invest. Pesq.* 38: 87-96.
- Gregory, A., L.A. Munro, I.S. Wallace, N. Bain and R.S. Raynard. 2007. Detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) from the environment in the vicinity of IPNV-infected Atlantic salmon farms in Scotland. *J Fish Dis.* 2007 Oct; 30(10):621-30.
- Griffiths, M.A., S.G. Lovely, J.E. and W.H. Lynch. 1997. PCR and probe-PCR assays to monitor broodstock Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) ovarian fluid and kidney tissue for presence of DNA of the fish pathogen *Renibacterium salmoninarum*. *J. Clin.Microbiol.* 35 (6), 1322–1326.

- Griffiths, S.G., Liska K. and W.H. Lynch. 1996. Comparison of kidney tissue and ovarian fluid from broodstock Atlantic salmon for detection of *Renibacterium salmoninarum*, and use of SKDM broth culture with Western blotting to increase detection in ovarian fluid. *Dis Aquat Org* 24:3-9.
- Grisez, L., R. Segers, J. Ng and J. Lee. 2004. *Streptococcus phocae*, formerly an exclusive pathogen of seals, now associated with disease and mortality in Atlantic salmon cultured in Chile. Second Inter. Aquaculture Conf., Puerto Montt, Chile.
- Gutemberger, S.K., Duimstra J.R., Rohovec J.S. and J.L. Fryer. 1997. Intracellular survival of *Renibacterium salmoninarum* in trout mononuclear phagocytes. *Dis Aquat Org.* 1997; 28:93.
- Hamilton-West, C., Arriagada G.; Lara M., Valdés P., Gallardo A. And S. Urcelay. 2008. Epidemiological description of Sea Lice (*Caligus rogercresseyi*) situation in southern Chile in August 2007. *J. Fish Dis.* (In press).
- Heath, S., S. Pak, S. Marshall, E.M. Prager and C. Orrego. 2000. Monitoring *Piscirickettsia salmonis* by denaturant gel electrophoresis and competitive PCR. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 41: 19-29.
- Hernández-Chavarría, F. 2002 La microscopía electrónica y las enfermedades infecciosas. *Rev. Col. de MQC de Costa Rica.* 9:101-107.
- Hjeltnes, B., O.B. Samuelson and A.M. Svardal. 1992. Changes in plasma and liver glutathione levels in Atlantic salmon *Salmo salar* suffering from infectious salmon anemia (ISA). *Dis. Aquat. Org.* 14: 31-33.
- House, M.L., J.L. Bartholomew, J.R. Winton and J.L. Fryer. 1999. Relative virulence of three isolates of *Piscirickettsia salmonis* for coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Dis. Aquat. Org.* 35: 107-113.
- Inostroza, F. 2010. Cáligns en Chile: Situación bajo control. *Fishfarmingxpert*, N° 5, Octubre. Pag. 40-42.
- Instituto de Fomento Pesquero. 2007. Evaluación de la normativa sanitaria vigente para la acuicultura. FIP-IT/2005-40.
- Jarp, J. and E. Karlsen. 1997. Infectious salmon anaemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon *Salmo salar*. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 28: 79-86.
- Johnson, S.C., J.W. Treasurer, S. Bravo, K. Nagasawa and Z. Kabata. 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological Studies* 43(2): 229-243.

- Kent, M.L., T.K. Sawyer and R.P. Hedrick. 1988. *Paramoeba pemaquidensis* (Sarcocystophora: Paramoebidae) infestation of the gills of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* reared in seawater. *Diseases of Aquatic Organisms*, 5:163-169.
- Kibenge, F.S.B., Godoy M.G., Wang Y., Kibenge M.J.T., Gherardelli V., Mansilla S., Lisperger A., Jarpa M., Larroquete G., Avendaño F., Lara M. and A. Gallardo. 2009. Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. *Virology Journal* 2009, 6:88.
- Kibenge, M.T., B. Opazo, A.H. Rojas and F.S.B. Kibenge. 2002. Serological evidence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) infection in farmed fishes, using an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 51: 1-11.
- Kibenge, F.; Garate, O.; Johnson, G.; Arriagada, R.; Kibenge, M. and Wadowska, D. 2001. Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from coho salmon in Chile. *Dis. Aquat. Org.* 45:9-18.
- Kibenge, F.S.B., S.K. Whyte, K.L. Hammell, D. Rainnie, M.T. Kibenge, C.K. Martin. 2000. A dual infection of infectious salmon anaemia (ISA) virus and togavirus-like virus in ISA of Atlantic salmon *Salmo salar* in New Brunswick, Canada. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 42: 11-15.
- Kibenge, F.S.B., Lyaku J.R., Rainnie D. and K.L. Hammell. 2000. Growth of infectious salmon anaemia virus in CHSE-214 cells and evidence for phenotypic differences between virus strains. *Journal of General Virology* 81, 143±150.
- Kocan, R. 2004. Ichthyophthiriasis: An Emerging Disease of Chinook Salmon in the Yukon River. *Journal of Aquatic Animal Health* 16:58–72.
- Labrie, L., J. Ng, Z. Tan, C. Komar, E. Ho and L. Grisezn. 2008. Nocardial Infections in Fish: An Emerging Problem in Both Freshwater and Marine Aquaculture Systems in Asia. *Aquaculture Health Issue* 10, August 2007.
- Lannan, C.N and J.L. Fryer. 1993. *Piscirickettsia salmonis*, a major pathogen of salmonid fish in Chile. *Fisheries Research*, 17:115-121.
- Landry E.F., J. M. Vaughn, T.J. Vicale and R. Mann 1982. Inefficient accumulation of low levels of monodispersed on feces associated polivirus in oysters. *App. Environ. Microbiol*, 44 (6): 1362-1369.

- Larenas, J., E. Zamorano and P. Smith. 2005. Detección de *Piscirickettsia salmonis* en heces de alevines de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) infectados por transmisión vertical. Monografías Electrónicas de Patología Veterinaria. 2(1):59-67.
- Lauckner, G. 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia. Kinne (ed.). Diseases of marine animals. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany. P. 477-962.
- Leef, M.J., J.O. Harris and M.D. Powell. 2005. Respiratory pathogenesis of amoebic gill disease (AGD) in experimentally infected Atlantic salmon *Salmo salar*. Dis. Aquat. Org. 66: 205-213.
- Lovely, J.E., Dannevig, B.H., Falk, K., Hutchin, L., MacKinnon, A.M., Melville, K.J. Rimstad, E. and S.G. Griffiths. 1999. First identification of infectious salmon anaemia virus in North America with haemorrhagic kidney syndrome. Dis. Aquat. Organ., 35, 145-148.
- Maki, J.S., G. Patel and R. Mitchell. 1998. Experimental pathogenicity of *Aeromonas* spp. for the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. Curr Microbiol. 1998 Jan;36(1):19-23.
- Marshall, S. 1998. Estudio inmunológico de *Piscirickettsia salmones*. Universidad Católica de Valparaíso. Proyecto FIP-IT/95-34.
- Marin, S.L., F. Sepúlveda, J. Carvajal and M. George-Nascimento. 2002. The feasibility of using *Udonella* sp. (Platyhelminthes: Udonellidae) as a biological control for the sea louse *Caligus rogercresseyi*, Boxshall and Bravo 2000, (Copepoda: Caligidae) in southern Chile. Aquaculture: 208. 11-21.
- Mauel M.J, D. L. Miller, E. Styer, D. B. Poudel, R. P. E. Yanong, A. E. Goodwin & T. E. Schwedler 2005 Occurrence of Piscirickettsiosis-like syndrome in tilapia in the continental United States. J Vet Diagn Invest 17:601–605.
- Mauel M.J, Miller D.L Frazier K., A.D. Liggett, L. Styer, D. Montgomery-Brock and J. Brock 2003, Characterization of a piscirickettsiosis-like disease in Hawaiian tilapia. Diseases of Aquatic Organisms Vol. 53:249–55.
- Mauel M.J. and D.L. Miller. 2002. Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review. Veterinary Microbiology. 87(4): 279-289.
- McAllister, P. and X. Reyes. 1984. Infectious pancreatic necrosis virus: isolation from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson imported from Chile, J Fish Dis 7: 319-322.

- McBeath, A.J., N. Bain and M. Snow. 2009. Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland. *Dis Aquat Organ* (2009) 87: 161-9.
- McCarthy Ú., N. A. Steiropoulos, K. D. Thompson, A. Adams, A. E. Ellis, H. W. and Ferguson. 2005 Confirmation of *Piscirickettsia salmonis* as a pathogen in European sea bass *Dicentrarchus labrax* and phylogenetic comparison with salmonid strains. *Diseases of Aquatic Organisms* Vol. 64: 107–119.
- Melville, K. and G. Griffiths. 1999. Absence of vertical transmission of infectious salmon anemia virus (ISA) from individually infected Atlantic salmon *Salmo salar*. *Disease of aquatic organisms*. 38; 231-234.
- Meyers, T.R. 1984. Marine Bivalve Mollusks as Reservoirs of Viral Finfish Pathogens: Significance to Marine and Anadromous Finfish Aquaculture. *Marine Fisheries Review* 46(3): 14-17.
- Mesquita, M.M.F. 1988. Effect in seawater contamination level and exposure period on the bacterial and viral accumulation processes by *Mytilus edulis*. *Wat. Sci.Tech.*,20 (11-12): 265-270
- Metcalf T. G., B. Mullin, D. Eckerson, E. Moulton, E.P. Larkin 1979. Bioaccumulation and depuration of enterovirus by the soft shelled clam *Mya arenaria*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38: 275-282
- Mikalsen, J., Skjaervik O., Wiik-Nielsen J., Wasmuth M.A. and D.J. Colquhoun. 2008. Agar culture of *Piscirickettsia salmonis*, a serious pathogen of farmed salmonid and marine fish. *FEMS Microbiol Lett*. 2008 Jan;278(1):43-7.
- Miquel, A., I. Müller, P. Ferrer, P.D.T. Valenzuela and L.O. Burzio. 2003. Immunoresponse of Coho Salmon immunized with a gene expression library from *Piscirickettsia salmonis*. *Biol. Res*. 36: 313-323.
- Mortensen, S., Korsnes K. and O. Bergh. 2006. ‘Eyes wide shut’—a critical view of aquaculture health management and risk factors in the ‘real world’. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 26:1–5.
- Mortensen, S. 2000. Scallop introductions and transfers, from an animal health point of view. *Aquac Int* 8:123–138.
- Mortensen, S. 1993. Passage of Infectious Ppancreatic Necrosis Virus (IPNV) through invertebrates in an aquatic foodchain. *Dis Aquat Org* 16:41–45.

- Mullins, J.E., Groman D. and D. Wadowska. 1998. Infectious salmon anaemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L) in New Brunswick, Canada. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 18, 110-114.
- Munir, K. 2006. Characterization of Chinook head salmon embryo phenotypes of infectious salmon anemia virus by real-time RT-PCR. J Vet Sci. 2006 Jun;7(2):167-76.
- Murray, A.G. and E.J. Peeler. 2005. A framework for understanding the potential for emerging diseases in aquaculture. Prevent. Vet. Med. 67, 223–235.
- Murray, A., Smith, R. and R. Stagg. 2002. Shipping and spread of Infectious salmon anemia in Scottish Aquaculture. Emerging infectious disease, 8; 1-5.
- Noble, R. and J. Fuhrman. 1997. Virus decay and its causes in coastal waters. Appl Environ Microbiol 63:77–83.
- Nowak, B.F., J. Bryan and S.R.M. Jones. 2010. Do salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis*, have a role in the epidemiology of amoebic gill disease caused by *Neoparamoeba perurans*?. Journal of Fish Diseases. Volume 33, Issue 8, pages 683–687.
- Nowak, B.F., D. Dawson, L. Basson, M. Deveney and M.D. Powell. 2004. Gill histopathology of wild marine fish in Tasmania: potential interactions with gill health of cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases. 27: 709-717.
- Nylund, A., Plarre, H., Karlsen, M., Fridell, F., Ottem, K., Bratland, A and P. Saether. 2007. Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*) Arch Virol. 152; 151-179.
- Nylund, A., B. Krossoy, M. Devold, V. Aspehaug, N.O. Steine and T. Hovland. 1999. Outbreak of ISA during first feeding of Salmon fry (*Salmo salar*). Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 19 (2): 70-74.
- Nylund, A., B. Krossoy, K. Watanabe and J.A. Holm. 1996. Target cells for the ISA virus in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 16 (2): 68-71.
- Nylund, A., A.M. Kvenseth and B. Krossoy. 1995. Susceptibility of wild Salmon (*Salmo salar* L.) to infectious salmon anemia (ISA). Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 15 (5): 152-156.
- Nylund, A., T. Hovland, D.K. Hodnelan, F. Nilsen and P. Lovik. 1994. Mechanisms for transmission of infectious salmon anaemia (ISA). Dis. Aquat. Org. 19: 95-100.

- Olafsen, J.A., H.V. Mikkelsen, H.M. Giaever and G.H. Hansen. 1993. Indigenous bacteria in hemolymph and tissue of marine bivalve at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 1848-1854.
- Olivares, J. and S.H. Marshall. 2010. Determination of minimal concentration of *Piscirickettsia salmonis* in water columns to establish a fallowing period in salmon farms. *Journal of Fish Diseases* Volume 33, Issue 3, pages 261–266.
- Olsen, A.B., H.P. Melby, L. Speilberg, O. Evensen and T. Hastein. 1997. *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway -epidemiological, pathological and microbiological findings. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 31: 35-48.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2006. Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos, 5a edición, Paris, versión on line. <http://www.oie.int>.
- Özel, M. And L. Schwanz-Pfützner. 1975. Comparative studies by the electron microscope of rhabdoviruses of plant and animal origin. III. Egtved virus (VHS) of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and rickettsia-like organisms. *Zbl. Bakt. Hyg.; I. Abt. Orig. A* 230: 1-14.
- Pinto, J. 2003. Riesgos de introducción de enfermedades infectocontagiosas en salmónidos. U. de Chile-Intesal. Proyecto FIP-IT/2001-08.
- Pikarsky, E., Ronen A., Abramowitz J., Levavi-Sivan B., Hutoran M., Shapira Y., Steinitz M., Perelberg A., Soffer D. and M. Kotler. 2004. Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *J. Virol.* 78(17):9544-51.
- Power U.F., and J.K. Collins, 1990. Tissue distribution of a coliphage and *Escherichia coli* in mussel after contamination and depuration. *Appl. Environ Microbiol*, 56: 803-807.
- Pulkkinen, K, L.-R. Suomalainen, A.F. Read, D. Ebert, P. Rintamaä ki and E.T. Valtonen. 2010. Intensive fish farming and the evolution of pathogen virulence: the case of columnaris disease in Finland. *Proc. R. Soc. B.* 277, 593–600.
- Raynard, R.S, P.F. Dixon, R. Gardiner, W.R. Gardiner, R. Grant, A.G. Murray, C. Longshaw, A. Gregory, S. Quickfall, A.I.M. Macdonald, A. Sheppard, C.O. Cunningham, D.M. Stone, N. Bain, G. Taylor, B.J. Hill and R.M. Stagg. 2000. Survey of wild salmonid fish in Great Britain in year 2000 for infectious salmon anaemia (ISA). Fisheries Research Services and CEFAS. <http://www.scotland.gov.uk/Uploads/Documents/0202.pdf>

- Ritchie, R.J., McDonald J.T., Glebe B., Young-Lai W., Johnsen E. and N. Gagné. 2009. Comparative virulence of Infectious salmon anaemia virus isolates in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J Fish Dis. 2009 Feb;32(2):157-71.
- Ritchie, R.J., M. Cook, K. Melville, N. Simard, R. Cusack and S. Griffiths. 2001. Identification of infectious salmon anaemia virus in Atlantic salmon from Nova Scotia (Canada): evidence for functional strain differences. Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org. 44: 171-178.
- Robles, R. 2004. Análisis de riesgos de la operación de viveros flotantes y barcos de transporte de peces vivos de salmónidos. FIP-IT/2002-23.
- Rodger, H., Turnbull, T., Muir, F., Millar, S and R. Richards. 1998. Infectious salmon anemia (ISA) in United Kingdom. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol. 18; 115-116.
- Rodger, H.D. and E.M. Drinan. 1993. Observation of a rickettsia-like organism in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Ireland, J. Fish Dis. 16: 361-369.
- Rolland, J. and A. Nylund. 1998. Infectiousness of organic materials originating in ISA infected fish and transmission of the disease via salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). Bull. Eur. Assoc. Pathol. 18(5); 173-180.
- Romalde, J.L., Ravelo C., Valdés I., Magariños B., De la Fuente E., Martín C.S., Avendaño-Herrera R. and A.E. Toranzo. 2008. *Streptococcus phocae*, an emerging pathogen for salmonid culture. Vet Microbiol.; 130(1-2):198-207.
- Rojas, V., Galanti N., Bols N.C., Jiménez V., Paredes R. and S.H. Marshall. 2010. *Piscirickettsia salmonis* Induces Apoptosis in Macrophages and Monocyte-Like Cells From Rainbow Trout. Journal of Cellular Biochemistry 110:468–476.
- Rojas V, Galanti N, Bols NC, Marshall. 2009. Productive infection of *Piscirickettsia salmonis* in macrophages and monocyte-like cells from rainbow trout, a possible survival strategy. J Cell Biochem.; 108(3):631-7.
- Rozas, M. and G. Asencio. 2007. Assessment of Epidemiologic Situation of Caligiasis in Chile: Toward to Effective Control Strategy. Salmo Ciencia 2.
- Sambrook, J. Fritsch, E.F. & Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: A laboratory Manual, 2nd edn (Cold Spring Harbor, NY, Cold Harbor Laboratory Press).
- Sandoval, C. 2008. Amebiasis Branquial en Salmón del Atlántico (*Salmo salar*) en Chile. Publicado por admin el 3 Julio, 2008. Mundo Acuícola.
- Schäfer, J.W., V. Alvarado; R. Enríquez y M. Monras. 1990. The "Coho Salmon Syndrome" (C.S.S.): a new disease in Chilean salmon reared in sea water. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 10: 130.

- Scheel, I., M. Aldrin, A. Frigessi and P.A. Jansen. 2007. A stochastic model for infectious salmon anemia (ISA) in Atlantic salmon farming. *J R Soc Interface*. 2007 August 22; 4(15): 699–706.
- Schyth, B.D., Olesen N.J., Østergård P. and K. Falk. 2003. Laboratory diagnosis of infectious salmon anemia (ISA): experience gained from the outbreaks on the Faroe Islands 2000–2003. In: *Diseases of Fish and Shellfish*, 11th International Conference of the EAAP, vol. 11, p. O-79.
- Sepúlveda, F., S.L. Marin and J. Carvajal. 2004. Metazoan parasites in wild fish and farmed salmon from aquaculture sites in southern Chile. *Aquaculture*: 235.89-100.
- Sernapesca. 2008. Balance de la Situación Sanitaria de la Anemia Infecciosa del Salmón en Chile de Julio del 2007 a Julio del 2008. 28 pp. Ver en: http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=fileinfo&id=2659.
- Sinton, L., Hall C., Lynch P. and R. Davies-Colley. 2002. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. *Appl Environ Microbiol* 68:1122–1131
- Skår, C.K. and S. Mortensen. 2007. Fate of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in experimentally challenged blue mussels *Mytilus edulis*. *Dis. Aquat. Organ.*, 74, 1-6.
- Smith, P.A., P. Pizarro, P. Ojeda, J. Contreras, S. Oyanedel and J. Larenas. 1999. Routes of entry of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aquat. Org.* 37: 165-172.
- Soto, D. 1997. Evaluación de Salmónidos de vida libre existentes en las aguas interiores de las Regiones X y XI. Informe Técnico, Fondo Investigación Pesquera, Subsecretaría de Pesca, Chile, FIP.IT/ 95–41.
- Stagg, R.M., D.W. Bruno, C.O. Cunningham, R.S. Raynard, P.D. Munro, A.G. Murray, C.E.T. Allan, D.A. Smail, A.H. Mc Vicar and T.S. Hastings. 2001. Epizootiological investigations into an outbreak of infectious salmon anemia (ISA) in Scotland. Fisheries Research Services (FRS) Marine Laboratory Report No. 13/01. 66 p.
- Starliper, C.E. 2005. Quarantine of *Aeromonas salmonicida*-harboring ebonyshell mussels (*Fusconaia ebena*) prevents transmission of the pathogen to brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Shellfish Res.*, 24, 573-578.

- Starliper, C.E. 2001. The effect of depuration on transmission of *Aeromonas salmonicida* between the freshwater bivalve *Amblema plicata* and Arctic char. *J. Aquat. Anim. Health*, 13, 56-62.
- Stewart, J., J. Cornick and B. Zwicker. 1969. Influence of temperature on gaffkemia, a bacterial disease of the lobster *Homarus americanus*. *J. Fish. Res. Board Can.* 26:2503-2510.
- Taylor, R.S., Crosbie P.B., Cook M.T. 2010. Amoebic gill disease resistance is not related to the systemic antibody response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J Fish Dis.* 33(1):1-14.
- Thorud, K.E. 1991. Infectious salmon anemia. Transmission trials. Haematological, clinical chemical and morphological investigations. Thesis Dr. Scientiarum, Norwegian College of Veterinary Medicine.
- Thorud, K.E. and H.O. Djupvik. 1988. Infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 8, 109-111.
- Toennesen, R., A. Lauscher & E. Rimstad. 2009. Comparative aspects of infectious salmon anemia virus, an orthomyxovirus of fish, to influenza viruses. *Indian J. Microbiol.* 49:308–314. Review Article.
- Toledo M.S, M. Troncoso, D.P. Portell y G. Figueroa. 1992. Reporte de un brote de yersiniosis asociada a *Yersinia ruckeri* en salmónidos de cultivo, XV Congreso Chileno de Microbiología. Valdivia, 9 a 12 de Octubre, 1992
- Toole, C.L., D.F. Markle and C.J. Donohoe. 1997. Settlement Timing, Distribution, and Abundance of Dover Sole (*Microstomus pacificus*) on an Outer Continental Shelf Nursery Area. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54:531-542. Publication Announcement.
- Torgersen, Y. 1998. Physical and chemical inactivation of the infectious salmon anaemia (ISA) virus. In: T. Hastein, Editor, Workshop on ISA, New Brunswick, St Andrews (1998), pp. 44–53.
- Torres, P., J.C. Quintanilla, M. Rozas, P. Miranda, R. Ibarra, M.F. San Martín, B. Raddatz, M. Wolter, A. Villegas, C. Canobra, M. Hausdorf and R. Silva. 2010. Endohelminth parasites from salmonids in intensive culture from southern Chile. *Journal of Parasitology* 96(3):669-670.
- Totland, G.K., B.K. Hjeltnes and P.R. Flood. 1996. Transmission of infectious salmon anaemia (ISA) through natural secretions and excretions from infected smolts of Atlantic salmon *Salmo salar* during their presymptomatic phase. *Dis. Aquat. Org.* 26: 25-31.

- USDA APHIS, Veterinary Services. 2002. Infectious salmon anemia Program Standards. 52p.
- Vagsholm, I., Djupvik, H.O., Willumsen, F.V., Tveit, A.M. and K. Tangen. 1994. Infectious salmon anemia (ISA) epidemiology in Norway. *Prevent. Vet. Res.* 19, 277–290.
- Velásquez, 2003. Caracterización clínica y anatomopatológica del Síndrome Ictérico. Tesis para optar al Título de Médico Veterinario. UACH
- Walker, P.J. and J.R. Winton. 2010. Emerging viral diseases of fish and shrimp. *Vet Res.* 2010 Nov–Dec; 41(6): 51.
- Wergeland, H.I. and R.A. Jakobsen. 2001. A salmonid cell line (TO) for production of infectious salmon anaemia virus (ISAV). *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 44: 183-190.
- Wilhelm, S., Jeffrey W., Dean A., Meador J., Pakulski J. and D. Mitchell. 2003. UV radiation induced DNA damage in marine viruses along a latitudinal gradient in the southeastern Pacific Ocean. *Aquat Microb Ecol* 31:1–8
- Wolf, K. 1981. Chlamydia and rickettsia offish. *Fish Health News*, 10: 1-5.
- Wood, J.W. 1970. Informe sobre investigaciones de piscicultura. División de Pesca y Caza. Santiago, Chile.
- Workenhe, S.T., Kibenge, M.J., Wright, G.M., Wadowska, D.W., Groman, D.B. and F.S. Kibenge. 2008. Infectious salmon anaemia virus replication and induction of alpha interferon in Atlantic salmon erythrocytes. *Virology J.* 5, 36.
- Workenhe, S.T., D. W Wadowska, G. M Wright, M.J.T Kibenge and F.S.B Kibenge. 2007. Demonstration of infectious salmon anaemia virus (ISAV) endocytosis in erythrocytes of Atlantic salmon. *Virology Journal.* 4:13-17.
- Young, N.D., I. Dykova, B.F. Nowak y R.N. Morrison. 2008. Development of a diagnostic PCR to detect *Neoparamoeba perurans*, agent of amoebic gill disease. *Journal of Fish Diseases.* 31: 285-295.
- Young, N. D., I. Dykova, K. Snekvik, B.F. Nowak, R.N. Morrison. 2008. *Neoparamoeba perurans* is a cosmopolitan aetiological agent of amoebic gill disease. *Dis. Aquat. Org.* 78: 217-223.
- Young, N.D., P.B.B. Crosbie, M.B. Adams, B.F. Nowak and R.N. Morrison. 2007. *Neoparamoeba perurans* n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *International Journal for Parasitology.* 37: 1469-1481.

Yuksel, S.A., K.D. Thompson, A.E. Ellis and A. Adams. 2001. Purification of *Piscirickettsia salmonis* and associated phage particles. Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org. 44: 231-235 (Note).

ANEXOS

Anexo I: Carta Sernapesca

Anexo II: Listado Centro Moluscos

Anexo III: Proyectos FIP.

Anexo IV: Publicaciones científicas.

Anexo V: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco institucional)

Anexo VI: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco legal)

Anexo VII: Composición del Plancton

Anexo VIII: Imágenes satelitales de TSM y clorofila α

Anexo IX: Programa Taller de Discusión.

Anexo X: Manuscrito en Inglés

Anexo XI: Personal Participante por Actividad

Anexo I: Carta Sernapesca:

**Señora
Jacqueline Elissetche
Jefa Departamento Informaciones
Servicio Nacional de Pesca
Presente**

Estimada Sra. Elissetche,

Junto con saludarle, informo a Usted que la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso se ha adjudicado el Proyecto FIP N° 2008-66, el cual será ejecutado por el Laboratorio de Patologías Marinas de la Escuela de Ciencias del Mar de esta institución, el cual está a cargo de la Ing. Mariel Campalans Barnier, RUT 7.737.606-2 domiciliada en Av. Altamirano N° 1480, Valparaíso, fono: 32-2274248, e-mail: mcampala@ucv.cl.

Para la ejecución de este proyecto se ha programado la realización de dos muestreos estacionales (invierno y verano), para lo cual se hace necesario poder contar con la información actualizada de lo que a continuación se detalla:

1. Listado actualizado de centros de cultivo que están operando y hayan presentado virus ISA, identificando el titular, ubicación geográfica, dirección, teléfono.
Esta información se utilizará para planificar los muestreos de Cáligus y moluscos bivalvos que nos permitirá identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes en copépodos y moluscos bivalvos de las zonas afectadas y determinar el posible rol de vector de los mismos.
Si bien el Listado de centros en cuarentena y sus distintas categorías (brote o confirmado, sospechoso, etc.) se encuentra disponible en la página web de sernapesca, dicha información se encuentra actualizada al 24 de abril de 2009 y sólo incluye el nombre de la empresa y su código. Considerando que el primer muestreo deberá ser ejecutado en agosto de 2009, quisiéramos confirmar la fecha de actualización de la información proporcionada por la institución y la viabilidad de conseguir la información aquí solicitada.
2. Datos históricos de brotes de enfermedades de importancia para la salmonicultura asociados al programa de monitoreo de aparición del virus ISA, programa sanitario específico de vigilancia activa para enfermedades de alto riesgo en peces de cultivo y programa sanitario específico de vigilancia y control de caligidosis. La información aquí requerida nos permitirá fortalecer lo presentado en la página web de sernapesca en el programa de Cáligus, la cual sólo se encuentra actualizada al 15 de enero de 2009 y que si bien proporciona información sobre la ubicación geográfica del brote, prevalencia y carga de Cáligus según subzonas en las zonas ambientales definidas por el servicio, no presenta mayor detalle sobre las enfermedades de importancia para la actividad.

Esta información permitirá establecer patrones epidemiológicos de enfermedades de importancia para la salmonicultura en relación a Cáligus y parámetros ambientales.

En virtud de lo anterior, solicitamos a Usted que tenga a bien proporcionar la información solicitada anteriormente, la cual es de vital importancia para llevar a buen término este importante estudio.

Sin otro particular, le saluda cordialmente

MARIEL CAMPALANS BARNIER
JEFE PROYECTO FIP 2008-66

Anexo II: Listado Centro Moluscos


GOBIERNO DE CHILE
SERVICIO NACIONAL DE PESCA


ORD / N° : 520087709 /

ANT : SIAC 190446209

MAT : Envía información solicitada Ley 20.285

MAT. :

VALPARAÍSO, 10 JUN 2009

DE : DIRECTOR NACIONAL SERVICIO NACIONAL DE PESCA.

A : Sra. Mariel Campalans Barnier
Jefa Proyecto FIP 2008-66
Escuela de Ciencias del Mar
Universidad Católica de Valparaíso

Mediante el presente, me dirijo a Ud. para dar respuesta a su Solicitud de Acceso a la Información pública, de fecha 14 de mayo de 2009.

En relación al listado de centros de cultivo que están operando y que hayan presentado virus ISA, le informo que este listado está disponible en la página web y se actualiza todos los viernes y en él se pueden identificar la condición sanitaria de los centros de cultivos afectados por el virus de la Anemia Infecciosa del Salmón. Sin embargo, la información solicitada, referida a la identificación del titular, ubicación geográfica, dirección y teléfono no puede ser entregada, por aplicación de lo dispuesto en el Art. 21 N°2 de la Ley 20.285, ya que su publicidad puede afectar los derechos de las personas, particularmente tratándose de la esfera de su vida privada o derechos de carácter comercial o económico.

Respecto a los datos históricos de brotes de la Anemia Infecciosa de Salmón se adjunta la información que estuvo publicada en la página web del Servicio. Este listado corresponde al que se hace referencia en párrafo anterior.

Por otra parte, en cuanto a brotes de enfermedades, informo a Ud. que el Programa Sanitario Específico de Vigilancia Activa para enfermedades de alto riesgo en peces de cultivo, en vigencia desde el año 2004, ha dado resultados negativos hasta la fecha, respecto de enfermedades exóticas y de acuerdo a la información recopilada por nuestros diferentes programas no es factible, a la fecha, estimar brotes de enfermedad.

Servicio Nacional de Pesca. Dirección Nacional. Victoria 2832. Valparaíso, Chile

Por su parte, el Programa de ISA sólo entrega datos de mortalidad semanal (total y asociada a ISAv) de centros que se han visto con el tiempo involucrados con esta enfermedad (brotes, sospechosos, en riesgo y vigilancia). Esta información ha sido entregada en forma parcializada, conforme ingresa un centro al sistema comienza su reporte.

Respecto de Caligidosis, se informa que, conforme a los Programas Sanitarios Específicos de Vigilancia y de Control, Ud. podrá encontrar la carga individual por centro según ubicación en mapa el cual está disponible en la página web del Servicio. Estos mapas se actualizan quincenalmente.

Finalmente, respecto de los centros de moluscos, se adjunta listado de centros según región, sector y comuna. No se informa titular, dirección y teléfono, por aplicación de lo dispuesto en el Art. 21, N°2 de la Ley 20.285, antes citado.

Sin otro particular, le saluda



FÉLIX INOSTROZA CORTÉS
DIRECTOR NACIONAL
SERVICIO NACIONAL DE PESCA

FIC/AGL/mlf / cfr

DISTRIBUCIÓN

- Sra. Mariel Campalans
- Unidad de Acuicultura
- Oficina de Partes

Anexo III: Proyectos FIP

Tabla 35 Proyectos FIP relacionados con la temática del estudio.

Código Proyecto	Título	Resumen
Proyecto FIP 1993-29	Programa de vigilancia de patologías de salmonídeos cultivados en la zona sur-austral	Se actualizó la información referente a las patologías que afectan a los salmones mediante encuestas a los centros de cultivo y a los laboratorios de asistencia patológica. Se consideraron de alto riesgo aquellas enfermedades que no son controlables, son contagiosas y con mortalidades mayores al 10%. Una vez definidas las principales patologías y su área de distribución, se diseñó un sistema de monitoreo y de alerta temprana de patologías de salmones cultivados.
Proyecto FIP 1995-41	Evaluación de salmónidos de vida libre existentes en las aguas interiores de las regiones X y XI	Se estimó el número y volumen de salmones escapados de centros de cultivo, para efectuar proyecciones poblacionales de estos escapes. Las capturas de salmónidos, en general, reflejan la composición, distribución y volumen de producción de los cultivos, por lo que los capturados corresponderían en su mayoría a los escapados, lo que es confirmado por la comparación de caracteres morfológicos y ecofisiológicos. Sin embargo, hay indicios de éxito reproductivo en la décima primera región, especialmente de salmón coho. Se postula un incremento poblacional de esta especie en calidad de asilvestrada. Existió una relación inversa entre la abundancia de salmónidos y la fauna acompañante indicando un potencial efecto negativo sobre la fauna nativa.
Proyecto FIP 1995-34	Estudio inmunológico de <i>Piscirickettsia salmonis</i>	Se realizó un catastro de las variedades de <i>P. salmonis</i> que afectan las especies de salmones cultivadas en Chile, para esto se realizó un análisis de la información publicada nacional e internacional, describiendo la patología de la enfermedad y su agente causal. Asimismo, se realizó un muestreo de diferentes órganos y tejidos de salmones enfermos y aparentemente sanos para determinar calidad y estabilidad estructural del agente, evaluando el potencial inmunogénico de sus componentes. El perfil polipeptídico de todos los aislados resultó ser muy similar. El análisis antigénico indica que, en general, las proteínas estructurales del agente no parecen inducir una respuesta humoral alta
Proyecto FIP 1997-38	Catastro de enfermedades de peces nativos circundantes a	El objetivo fue realizar un catastro de las enfermedades de peces nativos de

Código Proyecto	Título	Resumen
	centros de cultivo de salmónidos	la fauna circundante a centros de cultivo de salmonídeos en la décima región, en agua dulce y agua de mar. Se realizó la captura con redes de enmalle fijas. Del total capturado se identificó 33 especies de las cuales cinco son salmónidos de vida libre. El contenido estomacal con alto porcentaje de pellet explica su alta incidencia en el entorno de las balsas jaula. De los análisis anatomopatológicos se evidenció que la totalidad de los peces capturados tenía una condición sanitaria muy buena, sin lesiones. De los peces analizados de agua dulce 6,3% fueron positivos a alguna patología entre ellas parásitos como Cáligus (54%), agentes bacterianos (10,8%) y agentes virales (8,1). En agua de mar la relación fue parásitos (96,3%), bacterias (2,4%) y agentes virales (1,2%). En base a los hallazgos, el agente viral IPN y el microsporídeo N. salmones en especies silvestres sugiere un posible rol de vector para estos patógenos. Ocurre lo mismo como reservorio del ectoparásito <i>Caligus</i> sp.
Proyecto FIP 2001-08	Riesgos de introducción de enfermedades infectocontagiosas en salmónidos	Se estableció una metodología de evaluación de riesgos de importación de ovas, con una combinación de métodos cuali y cuantitativos. Se identificaron peligros como ISAV e IPNV y las posibles vías para ingresar y establecerse en Chile. Se identificaron los procesos más relevantes en la importación para identificar los peligros transferidos en cada etapa usando la metodología Delphi. Entre los puntos críticos están: la fase de selección de reproductores en el país de origen, la efectividad de la desinfección de las ovas en el transporte, la aplicación de técnicas de diagnóstico para la detección de portadores sanos. Ajustando al número de ovas importadas, se ve que la probabilidad de difusión aumenta a niveles de moderado a alto, es decir una alta presión viral.
Proyecto FIP 2001-09	Técnicas de diagnóstico de enfermedades de salmónidos, miltididos, pectínidos y ostreídos	Se buscó evaluar las técnicas de diagnóstico de enfermedades de importancia productiva en acuicultura utilizadas por los laboratorios especializados en el país, para esto se analizó la literatura nacional e internacional en relación a enfermedades de estos recursos. Se recopiló por medio de encuestas las técnicas de diagnóstico para cada una de las enfermedades descritas anteriormente. Por último se propusieron protocolos estandarizados de las diferentes técnicas de diagnóstico utilizadas por los laboratorios que atienden a la industria acuícola en el país.
Proyecto FIP 2002-23	Análisis de riesgos de la operación de viveros flotantes y barcos de transporte de peces vivos de salmónidos en	Se caracterizaron y clasificaron las embarcaciones que transportan peces vivos los viveros flotantes. Además se identificaron midieron y evaluaron

Código Proyecto	Título	Resumen
	sectores de la I, II, III, IV, VIII y X Regiones	<p>los riesgos sanitarios y ambientales relacionados a las operaciones y se determinaron las medidas de mitigación para los riesgos de mayor impacto identificados en el transporte de peces vivos. Se estableció como modelo para identificar los peligros, la cosecha de peces mediante el método tradicional y la cosecha utilizando wellboat abierto o cerrado, subdividiendo el proceso en tres etapas, carga, transporte y descarga. También se evaluó la posible diseminación de marea roja por parte de los wellboat y se elaboraron manuales de buenas prácticas operacionales para estas embarcaciones.</p> <p>Se determinó un mayor riesgo en los procesos de cosecha tradicional, seguido por wellboat cerrado y el menor riesgo estaría asociado a wellboat del tipo abierto. Se confirma que existe probabilidad que los agentes patógenos se mantengan en los estanques del wellboat aún cuando se aplique medidas de desinfección con ozono. En cuanto a la marea roja, la embarcación actuó como diseminador de los dinoflagelados tóxicos <i>D. acuta</i> y <i>A. catenella</i>.</p>
Proyecto FIP 2004-26	Diagnóstico de la acuicultura de pequeña escala en Chile	<p>Se caracterizó a los acuicultores de pequeña escala según especie de cultivo, zona geográfica de desarrollo de la actividad, nivel de asociatividad y proyección para presentar un perfil de la acuicultura de pequeña escala con la caracterización de su estructura, composición y funcionamiento, además de una cuantificación de los acuicultores. La metodología fue a través de entrevistas y encuestas. Los resultados indican que las especies cultivadas son nueve, siendo el pelillo y el chorito las más importantes seguidas por el ostión, el pelillo es la especie que ocupa más mano de obra. La mayor parte de los centros de cultivo se concentran en la décima región, específicamente en seis comunas. La mayoría de los centros cultiva sólo un recurso. El 71% de los acuicultores está asociado a alguna agrupación gremial.</p>
Proyecto FIP 2005-40	Evaluación de la normativa sanitaria vigente para la acuicultura	<p>En este proyecto se analizó y revisó la normativa sanitaria vigente a través de encuestas realizadas al Comité Técnico y a las empresas productoras y de servicio, se realizaron talleres de discusión con las empresas productoras de peces y moluscos. Con los resultados de estas actividades se entrega una serie de recomendaciones para mejorar la aplicabilidad de la normativa sanitaria y robustecer los cuerpos legales actuales para dar un mayor apoyo</p>

Código Proyecto	Título	Resumen
		a la autoridad y al sector productivo.

* Es importante señalar que no se consideró el Proyecto FIP 1994-05, ya que el informe final del estudio fue reprobado, por lo que sus resultados no son publicables.

Anexo IV: Publicaciones Científicas

Tabla 36 Publicaciones científicas revisadas relacionadas con la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv).

Título	Autores	Resumen	Año
Infectious salmon anemia. Transmission trials. Haematological, clinical chemical y morphological investigations.	K.E. Thorud.	Registro del primer caso del virus de la anemia infecciosa (ISAv) en Noruega (1984), en un centro de cultivo localizado en la costa oeste. Este virus se propagó rápidamente a lo largo de la costa Noruega, definiéndola como una enfermedad de carácter transmisible y una de las más graves en la acuicultura de este país.	1991
Changes in plasma and liver glutathione levels in Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> suffering from infectious salmon anemia (ISA)	Hjeltnes, B., O.B. Samuelsen, A.M. Svardal	Evaluación sobre si el ISAv se encuentra asociado con la deficiencia de glutatión, tanto en el hígado como en el plasma. Se encontró que muchos de los animales infectados presentaban niveles elevados de glutatión en el plasma con respecto a los peces control. Además, se observó que los glóbulos rojos se encontraban vacíos en los peces infectados al parecer por lisis. Se propuso además, que la deficiencia de glutatión en el plasma puede tener efecto negativo en la función inmunológica, debido a que los peces infectados presentaron niveles bajos de glutatión en el hígado comparado con los peces control.	1992
Mechanisms for transmission of infectious salmon anaemia (ISA)	Nylund, A., T. Hovland, D.K. Hodnelan, F. Nilsen., P. Lovik.	Determinación de los mecanismos potenciales de transferencia del virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAv). Se encontró que la transmisión del agente de virus ISA, es libre y pasiva a través del agua de mar. Se determina que la transmisión del virus ISA se puede dar por contacto directo entre un pez infectado y uno sano, vía ectoparásitos transferidos entre individuos o por contaminación de aguas infectadas con materiales orgánicos.	1994
Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney	Dannevig, B.H., K. Falk, Y E. Namork.	Evidencia sobre la liberación de las partículas virales por gemación, a partir de cultivos celulares de riñón del Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>), SHK-1, las cuales fueron inoculadas con el virus, para observar la capacidad infecciosa de éste en el cultivo. De acuerdo a las micrografías electrónicas, se demostró que existía una gran conexión entre el virus y la membrana plasmática de las células.	1995
Susceptibility of wild Salmon (<i>Salmo salar</i> L.) to infectious salmon anemia (ISA)	A. Nylund, A.M. Kvenseth, B. Krossoy	Comparación de poblaciones de salmones silvestres y los salmones de cultivo respecto a la susceptibilidad al virus ISA. Se estudiaron dos poblaciones de salmones silvestres que se encontraba una en el	1995

Título	Autores	Resumen	Año
		río Bolstadfjorden y la otra ubicada en el río Hardangerfjorden en Noruega, a los que se les realizó el desafío inyectándoles intraperitonealmente sangre proveniente de smolts de salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>) infectados con el virus ISA. Se determinó que los dos grupos de peces silvestres de salmón eran significativamente menos susceptibles al virus ISA en comparación con el stock comercial.	
Demonstration of a protective immune response in infectious salmon anaemia (ISA)-infected Atlantic salmon <i>Salmo salar</i>	K. Falk y B.H. Dannevig	Estudio que demostró que los peces recuperados de una infección con ISAv resultaron menos susceptibles a la reinfección y peces que fueron pasivamente inoculados con el antisuero de los peces recuperados fueron parcialmente protegidos con la infección por ISA.	1995
Transmission of infectious salmon anaemia (ISA) through natural secretions and excretions from infected smolts of Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> during their presymptomatic phase	Totland, G.K., B.K. Hjeltnes y P.R. Flood.	Inoculación de una cohorte de smolts de <i>Salmo salar</i> (Salmón del Atlántico) con el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAv), con el fin de observar el período inicial de incubación de este virus cuando se produce la propagación. Además, se quiso determinar si la piel, el mucus, la orina y las heces en el agua se podían considerar como medio de propagación de la infección y se describió la localización del virus haciendo énfasis en los primeros focos de infección en los diferentes órganos. Se determinó que el portal más probable de acceso para el virus en los peces es a través de las branquias, donde la superficie total de las laminillas secundarias de los smolts es aproximadamente mayor que el área total de la piel.	1996
Target cells for the ISA virus in Atlantic Salmon (<i>Salmo salar</i> L.)	A. Nylund, B. Krossoy, K. Watanabe, J.A. Holm	Descripción de células objetivo para el virus ISA en Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>). El virus ISA, ha sido observado frecuentemente dentro de gemas en las células endoteliales en las paredes de los vasos sanguíneos y en las capas compactas del ventrículo del corazón. Se determinó que el virus ISA, es capaz de replicarse en tres tipos de células: las células endoteliales, células del endocardio y los leucocitos polimorfonucleados	1996
Infectious salmon anaemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon <i>Salmo salar</i>	Jarp, J. y E. Karlsen	Se establece que el virus ISA se transmite principalmente desde salmones infectados a sitios limpios, a través del agua de mar. Se sugiere que las medidas de control de la enfermedad podrían concentrarse en minimizar el riesgo de la transmisión a través del agua de mar entre la detección o diagnóstico del ISA, la eliminación de sitios positivos y trabajar a una distancia de 5 km como mínimo entre centros de cultivo.	1997

Título	Autores	Resumen	Año
Characterization and applications of a monoclonal antibody against infectious salmon anaemia virus	K. Falk, E. Namork, B.H. Dannevig	Producción y caracterización del anticuerpo monoclonal (MAb) contra el virus ISA. Este hallazgo sugiere que el antígeno determinante reconocido por el MAb es un epítopo conformacional dependiente. El anticuerpo monoclonar expone buena reactividad con un total de 13 cadenas de virus ISA.	1998
Infectious Salmon anaemia (ISA) in the United Kingdom	H.D. Rodger, T. Turnbull, F. Muir, S. Millar y R.H. Richards	Informe sobre los primeros brotes del virus en las granjas de salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en el Reino Unido. Se presenta la historia clínica, los signos clínicos, la histopatología y virología.	1998
Infectiousness of organic materials originating in ISA-infected fish and transmission of the disease via salmon lice (<i>Lepeophtheirus salmonis</i>)	J.B. Rolland, A. Nylund	Evaluación de la eficacia de la transmisión del virus ISA utilizando una variedad de materiales orgánicos de la piel y la sangre, así como también el papel potencial que cumple <i>L. salmonis</i> en experimentos de transmisión. Se establece que los salmones posiblemente contraen la enfermedad proveniente de partículas víricas encontradas en el material orgánico, peces enfermos o moribundos, y no de partículas provenientes de los piojos o la coprofagia. Al parecer la infección del virus en presencia del piojo se debe a que estos generan estrés lo que se traduce en una ventana abierta a la infección.	1998
Isolation of infectious salmon anemia virus (ISAV) from Atlantic salmon in New Brunswick, Canada	D. Bouchard, W. Keleher, H.M. Opitz, S. Blake, K.C. Edwards, B.L. Nicholson	Aislamiento del virus de la anemia infecciosa (ISA) en un centro de cultivo de salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) marino, en New Brunswick, Canadá, el cual experimentaba mortalidades debidas a hemorragias del síndrome del riñón (HKS). El virus fue confirmado como ISA utilizando la transcriptasa inversa-reacción en cadena de polimerasa (RT-PCR), sistema utilizado para la determinación de estos en Norte América.	1999
Outbreak of ISA during first feeding of Salmon fry (<i>Salmo salar</i>)	A. Nylund, B. Krossoy, M. Devold, V. Aspehaug, N.O. Steine, T. Hovland	Evaluación de la transmisión vertical en 22 alevines de salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>), en primera fase de alimentación, desde un centro de cultivo en Noruega con altas mortalidades. Se sospechaba que fuera causada por el virus IPN (virus de necrosis pancreática) pero el diagnóstico que realizaron las autoridades no pudo determinar la presencia del virus en peces moribundos. Por ende este estudio analizó 22 alevines con el fin de determinar la presencia de virus ISA utilizando la técnica de PCR.	1999
Absence of vertical transmission of infectious salmon anemia virus (ISAV) from individually infected Atlantic salmon <i>Salmo salar</i>	Krista J. Melville y Steven G. Griffiths	Determinación de la presencia de ISA en gametos sexuales (esperma y ovas) del Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en reproductores infectados en la bahía de Fundy, los cuales fueron desovados. Se	1999

Título	Autores	Resumen	Año
		detectaron hembras con virus ISA en los fluidos ováricos, mientras que las ovas fertilizadas y los alevines con saco vitelino por análisis de PCR no presentaron virus. Se determinó que el virus ISA no se transmite intra ovas	
First identification of infectious salmon anaemia virus in North America with haemorrhagic kidney syndrome	J.E. Lovely, B.H. Dannevig, K.Falk, L. Hutchin, A.M. MacKinnon, K.J. Melville, E. Rimstad, S.G, Griffiths	Evaluación relativa a si el virus ISA se encontraba relacionada con la aparición del síndrome de hemorragia renal (HKS) en los salmones Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en la costa este de Canadá. Se detectó la presencia de <i>Renibacterium salmoninarum</i> y en algunas ocasiones <i>Vibrio salmonicida</i> . Se identificó que los cultivos de línea celular infectados con virus ISA podían presentar HKS. Por ende se determinó que el HKS puede reproducirse en agua de mar y podría ser producido por el virus ISA.	1999
A dual infection of infectious salmon anaemia (ISA) virus and togavirus-like virus in ISA of Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> in New Brunswick, Canada	Kibenge, F.S.B., S.K. Whyte, K.L. Hammell, D. Rainnie, M.T. Kibenge, C.K. Martin	Determinación, a partir de muestras clínicas, de la presencia de una infección dúo viral entre el virus de la anemia infecciosa (ISA) y el togavirus. El virus ISA como cepa produjo un efecto citopático característico en las líneas celulares SHK-1 y CHSE-214, además se encontraron libres de la presencia de togavirus. Se determinó que el togavirus no presentaba virulencia y el virus causal de daño grave es el ISA.	2000
Survey of wild salmonid fish in Great Britain in year 2000 for infectious salmon anaemia (ISA)	R:S: Raynard, P.F. Dixon, R. Gardiner, W.R. Gardiner, R. Grant, A.G. Murray, C. Longshaw, A. Gregory, S.Quickfall, A.I.M. Macdonald, A.Sheppard, C.O. Cunningham, D.M. Stone, N. Bain, G. Taylor, B.J. Hill y R.M. Stagg.	Evaluación sobre la presencia de virus ISA en poblaciones silvestres de salmónidos en Inglaterra, Escocia y Gales. En cada una de las zonas se capturaron peces de cultivo como salmón Atlántico, trucha marrón y salmón parr, a los cuales se les extrajo muestras de tejido obtenidas del hígado, corazón, bazo y riñón, para ser analizadas. De acuerdo a los resultados de PCR se pudo observar que el salmón parr, la trucha marrón y la trucha de mar de Escocia, presentaron la infección, mientras que no presentaron infección los peces encontrados en Inglaterra y Gales. Ninguno de los peces muestreados presentó signos clínicos característicos de ISA.	2000
Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout <i>Salmo trutta</i> after experimental infection.	M.Devold, B. Krossoy, V. Aspehaug, A. Nylund.	Desarrollo de un método de PCR rápido y sensible para el diagnóstico de ISA en la trucha de mar (<i>Salmo trutta</i>). Se analizaron truchas de mar (<i>S. trutta</i>) y smolts de salmón Atlántico (<i>S. salar</i>) los cuales no presentaban signos clínicos de la enfermedad. Se determinó que los cultivos celulares no eran lo suficientemente sensibles para la determinación de virus ISA en	2000

Título	Autores	Resumen	Año
		truchas portadoras, ya que muchas de las partículas producidas en estos peces son probablemente neutralizadas y no son infectivas. Se observó que el estrés causado por la maduración sexual y por los copépodos se puede considerar como un factor que podría incrementar la producción de virus.	
Epizootiological investigations into an outbreak of infectious salmon anemia (ISA) in Scotland	R.M. Stagg, D.W. Bruno, C.O. Cunningham, R.S. Raynard, P.D. Munro, A.G. Murray, C.E.T. Allan, D.A. Smail., A.H. Mc Vicar and T.S. Hastings	Informe detallado sobre ISA en Escocia, el cual indicó que el primer reporte del virus se dio en 1998, y para el año 1999 ya tenían 11 casos confirmados de centros con virus ISA. En el informe incluye información sobre la anemia infecciosa del salmón (ISA) característica y genética, la investigación epizootica en la fuente y propagación de la enfermedad, y los mecanismos y transferencia de la enfermedad y los orígenes del ISA en Escocia.	2001
A salmonid cell line (TO) for production of infectious salmon anaemia virus (ISAV)	Heidrun I. Wergeland, Ragnhild Aakre Jakobsen	Diseño de una nueva línea celular (TO), la cual provee un alto rendimiento del virus de la anemia infecciosa (ISAV). El diseño tiene como objetivo potenciar su uso para diagnósticos como buena producción de antígenos.	2001
Identification of infectious salmon anaemia virus in Atlantic salmon from Nova Scotia (Canada): evidence for functional strain differences	Rachael J. Ritchie, Marcia Cook, Krista Melville, Nathalie Simard, Roland Cusack, Steve Griffiths	Primera descripción de salmones Atlántico (<i>Salmo salar</i>) infectados con el virus ISA en Nova Scotia (Canadá). Se observó que estos peces no presentaron patología típica del virus o mortalidad. Se estudiaron las cepas de virus de Canadá de Nova Scotia y New Brunswick y se compararon con las cepas encontradas en Noruega y Escocia a través del método de secuenciación por PCR. Se determinó que la cepa de Nova Scotia (Canadá) presenta una gran similitud con las cepas de Noruega y Escocia.	2001
Cardiac performance in <i>Salmo salar</i> with infectious salmon anaemia (ISA): putative role of nitric oxid	Gattuso, A., R. Mazza, S. Imbrogno, A. Sverdrup, B. Tota, A. Nylund	Análisis de peces infectados con el virus ISA que presentaban una disfunción cardíaca relacionada con un temprano deterioro de la vía de señalización NO. Se establece que el incremento en la generación de NO causa un daño potencial en el tejido y daño en el órgano, a través de una variedad de mecanismos.	2002
Serological evidence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) infection in farmed fishes, using an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	Molly T. Kibenge, Beatriz Opazo, Alejandro H. Rojas, Frederick S. B. Kibenge	Desarrollo de una técnica ELISA específica para la detección de anticuerpos de los peces frente al virus ISA. La elevada reactividad de anticuerpos no específicos en ELISA negativo, sugirió que el test puede ser usado para probar la eficacia de la vacuna antes de ser colocados los smolts en las balsas jaulas, o para probar los peces en las balsas jaulas a fin de detectar el nivel de inmunidad de la infección previo a las vacunas.	2002

Título	Autores	Resumen	Año
Characterization of Chinook head salmon embryo phenotypes of infectious salmon anemia virus by real-time RT-PCR	Khalid Munir	Evaluación del método de SYBR Green RT-PCR tiempo real, a fin de establecer su eficiencia en el aislamiento de virus ISA de diferentes zonas geográficas, y para analizar sus patrones de crecimiento. Los resultados indicaron que el SYBR Green RT-PCR tiempo real es capaz de detectar todos los virus aislados de diferentes zonas geográficas, sólo por la presencia o ausencia de efectos citopáticos en células de CHSE-214. El estudio mostró que es un método más sensible y rápido que el método RT-PCR convencional.	2006
Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAv) in farmed populations of Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	A. Nylund, H. Plarre, M. Karlsen, F. Fridell, K. F. Ottem, A. Bratland and P. A. Sæther	Se analizó 24 sitios de producción de smolt para detectar la presencia de ISAv, utilizando un ensayo de RT-PCR específico. Se determinó que 22 de los sitios presentaban el virus, concluyendo que si estos sitios eran representativos de la prevalencia de ISAV en los smolt de Noruega, entonces debiera considerarse la mayoría de los sitios de producción marina sería positivos al virus. Además, se analiza los genotipos de 92 aislado de ISAV de Europa basado en el gen hemagglutinin esterase (HE) y su patrón de distribución. Este patrón sugiere que una de las rutas de transmisión importantes del virus puede ser que la industria salmonera en Noruega incluye algunos de los aislados en el ciclo de producción.	2007
Demonstration of infectious salmon anaemia virus (ISAv) endocytosis in erythrocytes of Atlantic salmon	Samuel T Workenhe, Dorota W Wadowska, Glenda M Wright, Molly JT Kibenge and Frederick SB Kibenge	Estudio sobre endocitosis del virus ISA en eritrocitos de Salmón Atlántico. Se encontró un buen número de partículas dentro de vesículas en el citoplasma de células sanguíneas de <i>Salmo salar</i> con relación a los eritrocitos observados de trucha arcoiris. Se determinó que esto se podría deber a la ausencia de una enzima destructora de un receptor funcional en el <i>S. salar</i> , permitiendo que los virus no sean destruidos, lo que favorece en estas especies la infección por virus ISA.	2007
A stochastic model for infectious salmon anemia (ISA) in Atlantic salmon farming	Ida Scheel, Magne Aldrin, Arnoldo Frigessi, and Peder A Jansen	Se realiza un estudio de la información sobre el cultivo de salmones en Noruega que cubre el periodo 2002-2005. Se propone, además, el uso de un modelo estocástico espacio-tiempo para la transmisión del virus. Se realiza un modelamiento entre los sitios de cultivo, transmisión a través del manejo y la infraestructura, efectos de la biomasa y otras rutas potenciales dentro de la industria de cultivo. Se establece que la biomasa tiene efectos sobre la infección, así como también la red de contacto local y la distancia marítima, aunque uno de los	2007

Título	Autores	Resumen	Año
		componentes de mayor riesgo se origina de otras fuentes, como por ejemplo posibles smolt infectados y el tráfico de naves.	
First detection, isolation and molecular characterization of infectious salmon anaemia virus associated with clinical disease in farmed Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>) in Chile	Marcos G Godoy, Alejandra Aedo, Molly JT Kibenge, David B Groman, Carmencita V Yason, Horts Grothusen, Angelica Lisperguer, Marlene Calbucura, Fernando Avendaño, Marcelo Imilán, Miguel Jarpa, and Frederick SB Kibenge	Se presentan los hallazgos del diagnóstico del primer brote clínico significativo de ISA en centros de cultivo marinos de salmón Atlántico en Chile, y la primera caracterización del aislado de ISAv desde peces infectados.	2008
Infectious salmon anaemia virus (ISAv) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAv isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences	Frederick SB Kibenge , Marcos G Godoy , Yingwei Wang , Molly JT Kibenge, Valentina Gherardelli, Soledad Mansilla, Angelica Lisperger, Miguel Jarpa, Geraldine Larroquete, Fernando Avendaño, Marcela Lara and Alicia Gallardo.	Se realiza un estudio para describir las características moleculares del virus para así entender sus orígenes, sus características de virulencia y como los aislados de ISAv se mantienen y diseminan, a través de la amplificación directa, clonación y secuenciación de las secuencias virales provenientes de muestras de tejidos recolectadas de peces infectados desde distintos centros de cultivo confirmados o sospechosos en Chile. Se describe la caracterización genética de un gran número de cepas de ISAv asociadas a los brotes que comenzaron en el país en 2007, junto con sus asociaciones filogenéticas con aislados de Europa y América del norte representativos de la diversidad genética de ISAv.	2009
Comparative aspects of infectious salmon anemia virus, an orthomyxovirus of fish, to influenza viruses	Ragnhild Toennesen, Astrid Lauscher and Espen Rimstad	Se presenta información obtenida de estudios sobre el Orthomyxovirus de peces y sus semejanzas con el virus de la influenza.	2009
Comparative virulence of Infectious salmon anaemia virus isolates in Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.	L. Ritchie RJ, McDonald JT, Glebe B, Young-Lai W, Johnsen E, Gagné N.	Estudio que tiene por objetivo comparar la virulencia, por cohabitación e inyección intraperitoneal, de 4 aislados regionalmente comunes y recientes en ambiente controlado. Se detectan diferencias significativas de mortalidad entre los aislados moleculares de ISAv. La información reciente demuestra que la sobrevivencia de la infección del virus muestra alta resistencia a la re-infección con un aislado distinto del virus. Estos descubrimientos podrían alterar la forma de manejo de las infecciones por ISAv tanto	2009

Título	Autores	Resumen	Año
		en la Bahía de Fundy como en el resto del mundo.	
Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland	Alastair J. A. McBeath, Nicola Bain, Michael Snow	Se recolectaron muestras de branquias y tejido de corazón de salmones Atlánticos de centros de cultivo marinos de Escocia para comprender el riesgo potencial de esta cepa, las cuales también fueron analizadas para detectar la presencia de ARN de ISAv. Debido a que no ha sido posible aislar el HPR0 utilizando los cultivos celulares de ISA, se utilizó un método de RT-PCR sensible para la detección del ARN viral. SE realizó un secuenciamiento de ADN de las muestras positivas para determinar su secuencia HRP. El ARN de ISAv se detectó en 6 muestras provenientes de 4 localidades distintas y el análisis de la secuencia indicó que los virus correspondían al tipo HPR0.	2009
A stochastic model for the assessment of the transmission pathways of heart and skeleton muscle inflammation, pancreas disease and infectious salmon anaemia in marine fish farms in Norway	Magne Aldrin, Bård Storvika, Arnoldo Frigessia, Hildegunn Viljugreind, and Peder A. Jansend	Se aplicó un modelo estocástico a datos históricos para estimar los factores de riesgo asociados a los mecanismos de diseminación. Se compararon 3 enfermedades infecciosas: inflamación del corazón y del músculo esquelético (HSMI), enfermedad pancreática (PD) y anemia infecciosa del salmón (ISA). El estudio se basa en información espacio-temporal de Noruega entre 2003 y 2007, describiendo las cohortes de peces susceptibles y las infecciones reportadas. Se dio especial énfasis a las distancias entre centros y la organización local de manejo. Este estudio comparativo enfatiza que estas enfermedades presentan patrones diferentes de diseminación con consecuencias importantes en la prevención y manejo de las enfermedades.	2010

Tabla 37 Publicaciones científicas revisadas relacionadas con *Piscirickettsia salmonis*.

Título	Autores	Resumen	Año
Isolation of a rickettsiales-like organism from diseased coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>) in Chile	J.L. Fryer, C.N. Lannan, L.H. Garcés J.J. Larenas and P.A. Smith	Se aísla un organismo tipo rickettsial en líneas celulares de salmones a partir de salmon coho cultivados en P. Montt. Descripción del agente etiológico y del efecto citopático en líneas celulares, se probó la sensibilidad a diferentes antibióticos y se concluye que es un organismo miembro de la orden Rickettsiales y es el primer aislamiento de un miembro de este grupo en poikilotermos acuáticos.	1990
The isolation of a rickettsia-like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its	J.D. Cvitanich, O. Garate and C.E.	Se describe la naturaleza del patógeno que causa la mortalidad de salmon coho (<i>Oncorhynchus kisutch</i>) en Chile. Se caracteriza a un organismo tipo rickettsial	1991

Título	Autores	Resumen	Año
confirmation by Koch's postulate	Smith	(RLO) que fue aislado en líneas celulares de peces, pero que no crece medios de cultivos de bacterias. Su naturaleza infectiva se probó mediante ensayo con peces sanos en agua dulce y marina, se comprobó la trasmisión horizontal sin vectores y se propuso el nombre de la enfermedad como 'septicemia rickettsial de los salmones'	
Description of a new disease condition occurring in farmed coho salmon <i>Oncorhynchus kisutch</i> (Walbaum), in South America	E.J. Branson and D. Nieto Diaz-Munoz	El estudio describe la epidemiología de la enfermedad que afecta a los salmones coho del Golfo de Ancud, los signos gruesos y microscópicos que presentan los peces tanto externa como internamente, además de una descripción histopatológica concluyendo que los granulos basofilos fue el principal agente etiologico observado y corresponderían a un organismo tipo rickettsial.	1991
<i>Piscirickettsia salmonis</i> gen. Nov., sp. Nov., the causative agent of an Epizootic Disease in Salmonid Fishes	J.L. Fryer, C.N. Lannan, S.J. Giovannoni, and N.D. Wood	Descripción de un nuevo patógeno intracelular, similar a las bacterias pertenecientes a Ehrlichiae. Se aisló en cultivo celular, se identificó y clasificó taxonómicamente. Se describió como nuevo género y especie a <i>Piscirickettsia salmonis</i> , causante de una enfermedad epizootica en cuatro especies de salmónidos: <i>Oncorhynchus kisutch</i> , <i>O. tshawytscha</i> , <i>O. mykiss</i> y <i>Salmo salar</i> . Los signos clínicos son: letargia, anemia y coloración oscura, inflamación renal, elongación del bazo, hígado con lesiones y manchas.	1992
<i>Piscirickettsia salmonis</i> , a major pathogen of salmonid fish in Chile	C.N. Lannan and J.L. Fryer	Epiziotología de la enfermedad provocada por <i>Piscirickettsia salmonis</i> , se describe la etiología del agente, los huéspedes susceptibles, los signos de la enfermedad, los métodos de diagnóstico, se sugiere que es un patógeno unico de Chile y que la importación de ovas del hemisferio Norte podrían haber limitado la resistencia natural al patógeno y que esta enfermedad demuestra la consecuencia negativa de la interacción de las especies nativas con las exóticas	1993
<i>Piscirickettsia salmonis</i> infection in Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> in Norway -epidemiological, pathological and microbiological findings	Olsen, A.B., H.P. Melby, L. Speilberg, O. Evensen y T. Hastein	Se aisló un organismo tipo rickettsial desde salmones atlánticos enfermos. Por su similitud morfológica y serológica se identificó como <i>Piscirickettsia salmonis</i> , probable responsable de enfermedad sistémica ocurrida en 1988 en costa oeste de Noruega. Lesiones de peces durante el brote: hígado moteado con manchas blancas o amarillas circulares, branquias pálidas, hemorragias en músculos, grasa y paredes del estómago y vejiga gaseosa. Inflamación necrótica y granulomatosa en hígado. MET reveló organismos solitarios o pareados envueltos en membranas como vacuolas.	1997
Salmonid rickettsial septicemia caused by <i>Piscirickettsia salmonis</i> : a review	Almendras, F.E. y I.C. Fuentealba	Enfermedades rickettsiales que afectan a varias especies de salmones han emergido en los últimos años. El brote más importante ha sido reportado entre salmones cultivados en especies no salmónidas. El impacto económico más importante en la industria de cultivo de peces en Chile es probablemente el del patógeno rickettsial <i>Piscirickettsia salmonis</i> que es el microorganismo responsable de la enfermedad septicémica rickettsial de los salmones (SRS). En el presente artículo los autores revisan el conocimiento actual de la historia natural, lesiones, transmisión, diagnosis y control del SRS.	1997
The Rickettsia: an emerging group of pathogens in	Fryer J.L. y M.J.	<i>Piscirickettsia salmonis</i> es el primero de los patogenos rickettsiales no	1997

Título	Autores	Resumen	Año
fish	Mauel	reconocido previamente que ha sido caracterizado. Desde el reconocimiento de <i>P. salmonis</i> en 1989, el impacto de los patógenos rickettsiales en peces aparentemente se ha incrementado. La creciente proyección de emergencia de este fastidioso organismo intracelular ha llevado a descubrir enfermedades rickettsiales entre diversas especies de diferentes lugares geográficos y ambientes acuáticos. La fuente, reservorio y modo de transmisión de estos agentes, como los métodos apropiados de prevención y control deben ser establecidos	
Purification of <i>Piscirickettsia salmonis</i> and partial characterization of antigens	M.N. Barnes, M.L. Landolt, D.B. Powell, J.R. Winton	Descripción del uso de diatrizoato meglumino y diatrizoato de sodio (DMDS) para la determinación de densidad de gradiente para la purificación de <i>P. salmonis</i> provenientes de la línea celular CHSE-214. Se encontró que el método DMDS es efectivo en la densidad de gradiente de centrifugación para la concentración y purificación de <i>P. salmonis</i> .	1998
Relative virulence of three isolates of <i>Piscirickettsia salmonis</i> for coho salmon <i>Oncorhynchus kisutch</i>	M.L. House, J.L. Bartholomew, J.R. Winton, J.L. Fryer	Estimación del grado de virulencia entre cepas aisladas en Chile (LF-89), British Columbia, Canadá (ATL-4-91) y Noruega (NOR-92). Se determinó a través de un desafío por medio de inyecciones intraperitoneales de 0,1 ml de <i>P. salmonis</i> aislada a peces pertenecientes a la especie <i>Oncorhynchus kisutch</i> , que las cepas de LF-89 eran las más virulentas; la cepa ATL-4-91 presentó un grado intermedio de virulencia y la cepa menos virulenta fue la encontrada en Noruega (NOR-92).	1999

Tabla 38 Publicaciones científicas revisadas relativas a *Caligus* spp.

Título	Autores	Resumen	Año
Parásitos en los cultivos marinos de salmónidos en el sur de Chile	Laura González P. y Juan Carvajal G.	Registro de las enfermedades parasitarias detectadas en los centros de cultivo marinos de salmónidos en la isla de Chiloé y el Seno de Reloncaví. Se realizó la extracción de parásitos en las especies <i>Oncorhynchus kisutch</i> (Salmón Coho), <i>O. mykiss</i> (Trucha Arco iris) y <i>Salmo salar</i> (Salmón Atlántico). Se encontraron dos tipos de parásitos: los de ciclo de vida directo: 1- <i>Caligus</i> spp, con <i>C. teres</i> y <i>C. flexispina</i> . 2- <i>Ceratothoa gaudichaudi</i> 3- Protozoo Apicomplexa. 4- <i>Ichthyophonus</i> spp,. De los parásitos de ciclo de vida indirecto se encontró a <i>Hysterothylacium</i> sp., nemátodo localizado en el lumen del estómago, ciegos pilóricos e intestino de los salmónidos.	1994
Susceptibilidad comparativa de trucha arco iris y	L. González,	Estudio comparativo de susceptibilidad a adquirir parásitos	1997

Título	Autores	Resumen	Año
salmón coho a ectoparásitos de importancia económica	J. Carvajal, A. Medina	como <i>Caligus flexispina</i> (Copépodo) y <i>Ceratothoa gaudichaudii</i> (Isópodo) en las especies <i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>O. kisutch</i> . Se observó que los meses donde se presentaban los niveles fuertes de infección eran verano, otoño y primavera. El isópodo <i>C. gaudichaudii</i> se encontró por lo general en órganos como la cavidad bucal (sobre la lengua, el paladar y preferentemente en la base de los arcos branquiales) y en la cámara branquial (no adherido a laminillas branquiales), con una mayor prevalencia en el Salmón Coho que en Trucha Arco iris.	
Native sea lice (Copepoda: Caligidae) infestation of salmonids reared in net pen systems in southern Chile	Juan Carvajal, Laura González, Mario George-Nascimento	Estudio sobre las especies de peces nativas que podrían ser la fuente de parásitos copépodos para el cultivo de salmónidos <i>Oncorhynchus mykiss</i> , <i>O. kisutch</i> y <i>Salmo salar</i> ; además, se estudiaron 5 especies nativas encontradas alrededor de las balsas jaulas de los salmónidos: <i>Eleginops maclovinus</i> , <i>Odonthestes regia</i> , <i>Paralichthys microps</i> , <i>Hypsoblennius sordidus</i> y <i>Patagonotothen</i> sp., los cuales fueron capturados desde 3 centros de cultivo en el sur de Chile.	1998
Differential infectivity of <i>Caligus flexispina</i> (Copepoda, Caligidae) in three farmed salmonids in Chile	Laura González, Juan Carvajal, Mario George-Nascimento	Evaluación de la susceptibilidad de las especies salmonídeas al copépodo parásito <i>Caligus flexispina</i> . El estudio se realizó durante otoño, invierno, primavera y verano de 1996 y 1997 en Quinchao, archipiélago de Chiloé, Chile. Se desafió a la trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) y salmón coho (<i>Oncorhynchus kisutch</i>), con los estados infectivos de <i>Caligus</i> provenientes de los huevos de <i>C. flexispina</i> eclosionados bajo condiciones de laboratorio. Se encontró que <i>C. flexispina</i> presentaba una mayor prevalencia en la trucha arcoiris en comparación con el salmón Atlántico y el salmón coho. Se determinó que la especie más susceptible era la trucha arcoiris y la más resistente resultó ser el salmón coho.	2000
Symbiotic relationship between <i>Udonella</i> sp. (Monogenea) and <i>Caligus rogercresseyi</i> (Copepoda), a parasite of the Chilean rock cod <i>Eleginops maclovinus</i> .	J. Carvajal, M.V., G. Ruiz, F. Sepúlveda, B.M.	Estudio sobre la relación entre el gusano <i>Udonella</i> sp. (Monogenea) y el copépodo <i>Caligus</i> (<i>Caligus rogercresseyi</i>), parásito común del róbalo chileno (<i>Eleginops maclovinus</i>), el cual fue capturado alrededor de las balsas jaulas de centros de cultivo de salmónidos en Puerto Montt Chile. El gusano y el copépodo presentaron una relación simbiótica de	2001

Título	Autores	Resumen	Año
		comensalismo. Por ende, al observar que <i>Udonella</i> sp. no producía daño a los sacos ovígeros de <i>Caligus rogercresseyi</i> no podría ser considerado como control biológico del piojo de mar.	
The feasibility of using <i>Udonella</i> sp. (Platyhelminthes: Udonellidae) as a biological control for the sea louse <i>Caligus rogercresseyi</i> , Boxshall and Bravo 2000, (Copepoda: Caligidae) in southern Chile	Sandra L. Marín, Fabiola Sepúlveda, Juan Carvajal, Mario George-Nascimento	Estudio sobre la factibilidad del uso de <i>Udonella</i> sp, encontrado en los ectoparásitos (Cáligus) del róbalo chileno (<i>Eleginops maclovinus</i>) como control biológico del piojo de mar en los centros de cultivo de salmónidos. Se estimó además, que el posible uso de este gusano plano como control biológico de Cáligus dependía de la capacidad de éste de alcanzar los copépodos del Cáligus, reducir el éxito reproductivo y por ende disminuir la sobrevivencia de los estados larvales.	2002
Life cycle of <i>Caligus rogercresseyi</i> , (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids	Laura González, Juan Carvajal,	Estudio sobre ciclo de vida de <i>Caligus rogercresseyi</i> descrito en trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) cultivadas en estanques con agua de mar, bajo condiciones de laboratorio, manteniendo las condiciones de temperatura y luz natural entre enero y abril. Las hembras ovígeras de <i>C. rogercresseyi</i> con ovas pigmentadas fueron colectadas de trucha arcoiris (<i>O. mykiss</i>) y salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en centros de cultivos de mar cerca de Puerto Montt y Chiloé, Chile. Se identificaron 8 estados en el ciclo de vida de <i>C. rogercresseyi</i> : 2 nauplius, 1 copepodito, 4 chalimus y 1 adulto. Los tres primeros estados son planctónicos mientras que los otros 5 son parasíticos. No se observaron estados de preadultos.	2003
Sea lice in Chilean salmon farms	Sandra Bravo	Se presenta un estudio realizado durante un año en un centro de cultivo ubicado en Puerto Montt para obtener mayor información relativa al comportamiento de <i>C. rogercresseyi</i> en las especies de salmónidos cultivados en Chile. Los resultados muestran que las especies más susceptibles son el salmón Atlántico y la trucha arcoiris, las cuales mostraron el mismo nivel de infestación. El salmón coho no mostró la misma susceptibilidad bajo las mismas condiciones de cultivo.	2003
A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture	Stewart C. Johnson, Jim W. Treasurer,	Revisión del impacto parasítico de los copépodos en la acuicultura marina. Se determinó que estos parásitos se	2004

Título	Autores	Resumen	Año
	Sandra Bravo, Kazuya Nagasawa and Zbigniew Kabata.	alimentaban del mucus, tejido y sangre del hospedador; su fijación y su alimentación son la causa para que se genere alguna enfermedad primaria. En Chile se han reportado 8 especies del género <i>Caligus</i> y 10 especies del género <i>Lepeophtheirus</i> , de los cuales los que se presentan con mayor abundancia en los centros de cultivo de salmónidos, son <i>C. teres</i> y <i>C. rogercresseyi</i> .	
Metazoan parasites in wild fish and farmed salmon from aquaculture sites in southern Chile	Fabiola Sepúlveda, Sandra L. Marín, Juan Carvajal	Descripción de los parásitos metazoos de la fauna, tanto de peces nativos como en salmónidos, en centros de cultivo de mar. Se describen, además; las especies parasíticas observadas frecuentemente en cada hospedador. Cada organismo parasítico fue identificado y se determinó su prevalencia y abundancia. En los peces silvestres se encontraron 30 especies diferentes de parásitos, 9 especies ectoparásitas y 21 especies endoparásitas. El salmón Atlántico albergaba 2 especies parasíticas, <i>C. rogercresseyi</i> y <i>C. gaudichaudii</i> y un endoparásito, <i>Hysterothylacium aduncum</i> .	2004
Report of <i>Caligus rogercresseyi</i> in the anadromous brown trout (<i>Salmo trutta</i>) in the Río Gallegos Estuary, Argentina	S. Bravo, M. Perroni, E. Torres and M.T. Silva	Información biológica sobre los peces silvestres en Río Gallegos, Argentina. Se capturaron Róbalo (<i>Eleginops maclovinus</i>), Pejerey (<i>Odonthestes nigricans</i>) y Trucha Marrón (<i>Salmo trutta</i>), a estos peces se les extrajeron ectoparásitos localizados en la piel, el cual fue identificado como <i>Caligus rogercresseyi</i> . Se determinó que la aparición en el sur de Argentina de <i>C. rogercresseyi</i> , pudo deberse al comportamiento migratorio de los peces marinos silvestres (como <i>E. maclovinus</i>) a través del estrecho de Magallanes en la región sur de Chile y Argentina, considerando al Róbalo como el principal vector del parásito en el hemisferio sur.	2006
Sensitivity assessment of <i>Caligus rogercresseyi</i> to emamectin benzoate in Chile	Sandra Bravo, Sigmund Sevatdal, Tor E. Horsberg	Evaluación de la sensibilidad de <i>Caligus rogercresseyi</i> al benzoato de emamectina, el cual es utilizado como control de éstos en los centros de cultivo marinos. Se estudiaron 18 centros de cultivo de salmónes ubicados en la X Región de Chile en verano (noviembre de 2006) e invierno (mayo y julio del 2007). Se estimó que <i>C. rogercresseyi</i> presentaba una pérdida de sensibilidad al benzoato de emamectina en todos los centros analizados. Se sugirió que la pérdida	2008

Título	Autores	Resumen	Año
		aparente de la sensibilidad podría deberse al constante uso de este químico para control del piojo durante periodos prolongados, creando resistencia.	
The tolerance of <i>Caligus rogercresseyi</i> to salinity reduced in southern Chile	S. Bravo, V. Pozo and M.T. Silva	Evaluación en condiciones de laboratorio de la tolerancia del <i>Caligus rogercresseyi</i> a la salinidad. Se extrajeron <i>C. rogercresseyi</i> de salmones Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en cuatro áreas del sur de Chile: Puerto Montt, Castro, Quellón y Hornopirén, las cuales se encontraban expuestas a diferentes salinidades. Se determinó que las hembras eran más tolerantes a los cambios de concentraciones de salinidad con respecto a los machos. Se concluyó que la presencia de <i>C. rogercresseyi</i> es influenciada por los gradientes de salinidad. Además, se establece que por debajo de 15‰ de salinidad se reduce la incubación y desarrollo de los nauplius.	2008
Efficacy of fallowing sites for the mitigation of sea lice in Chilean salmon farming: a search for biological indicators.	Asencio. G., J. Carvajal., V. Osorio, C. Levicoy y M.T. Gonzalez	Evaluación de la dinámica de la enfermedad parasítica en la bahía de Colaco-Abtao sur de Chile. Se evidenció la dinámica por el análisis de 3 indicadores biológicos: 1) la abundancia de <i>Caligus rogercresseyi</i> en smolts centinela de Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>), 2) abundancia en el róbalo (<i>Eleginops maclovinus</i>) y 3) densidades de larvas de copépodos en el plancton. Se determinó que la abundancia del piojo de mar variaba de acuerdo a los cambios estacionales en la temperatura del agua.	2009
How sea lice from salmon farms may cause wild salmonid declines in Europe and North America and be a threat to fishes elsewhere	Mark J. Costello	Se sintetiza la literatura, incluyendo estudios de modelamiento, para lograr un entendimiento de la forma que <i>Lepeophtheirus salmonis</i> infecta salmones silvestres desde fuentes de cultivo. Las pruebas existentes que demuestran que estas especies desde centros de cultivo pueden provocar mortalidades significativas de las poblaciones de peces silvestres circundantes significan un desafío adicional para controlarlos en los centros y establece nuevos problemas de conservación, económicos y políticos de cómo lograr un balance en el manejo de recursos de acuicultura y pesqueros.	2009
A comparison of sea lice, <i>Caligus rogercresseyi</i> , fecundity in four areas in southern Chile	S. Bravo, F. Erranz y C. Lagos	Evaluación de la tasa de fecundidad de las hembras de <i>Caligus rogercresseyi</i> capturadas en cuatro centros de cultivo de salmón en la X región, Chile, para determinar los parámetros fisicoquímicos que ejercen presión a la infección.	2009

Título	Autores	Resumen	Año
		El estudio se realizó entre los meses de marzo y febrero (2006-2007). Se evaluaron a su vez los parámetros físicoquímicos como salinidad, temperatura y corrientes. Se sugiere que la salinidad es el principal parámetro que influencia la prevalencia y abundancia de <i>C. rogercresseyi</i> en la X región. Aunque, la temperatura también juega un papel importante.	
Effectiveness of hydrogen peroxide in the control of <i>Caligus rogercresseyi</i> in Chile and implications for sea louse management	S. Bravo, J. Treasurer , M. Sepulveda, C. Lagos	Se presenta una valoración detallada de campo en centros de cultivo de salmones en dos sitios cerca de Pto Montt durante agosto de 2007, para evaluar la eficiencia del peróxido de hidrógeno en el control de <i>C. rogercresseyi</i> .	2010
The reproductive output of sea lice <i>Caligus rogercresseyi</i> under controlled conditions	Sandra Bravo	Se recolectaron hembras gravidas de <i>C. rogercresseyi</i> desde salmón Atlántico desde un centro de cultivo ubicado en la Isla de Chiloé para obtener información sobre el rendimiento reproductivo del parásito in vitro.	2010

Tabla 39 Publicaciones científicas revisadas relacionadas con amebas.

Título	Autores	Resumen	Año
<i>Paramoeba</i> sp., an agent of amoebic gill disease of turbot <i>Scophthalmus maximus</i> .	I. Dyková, Antonio Figueras, Beatriz Novoa, Jacobo Fernandez Casal	Estudio sobre la enfermedad de la ameba branquial en el turbot <i>Scophthalmus maximus</i> L. Se extrajeron las branquias y vísceras de 14 turbotos con peso promedio de 2 Kg en NW, España. Estos órganos fueron analizados por microscopía de luz y por el microscopio de transmisión electrónica. Se encontraron trofozoitos en el tejido branquial, característica típica de <i>Paramoeba pemaquidensis</i> Page, 1970, el agente causal de la enfermedad branquial en salmónidos. Al agente parasítico en turbot se le asignó el género <i>Paramoeba</i> Schaudin, 1896.	1998
Distribution and structure of lesions in the gills of Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L., affected with amoebic gill disease	M.B. Adams y B.F. Nowak	Análisis de la morfología de las lesiones y los patrones de distribución de la enfermedad de la ameba en las branquias (AGD) en el Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>). Se realizó un estudio histológico de las branquias de Salmón Atlántico infectados con la enfermedad de ameba en las branquias. Se registró también el tamaño de la lesión, la proximidad al arco branquial y el grado de severidad de la patología de acuerdo al número de lesiones presentes en la parte dorsal, media y ventral de los filamentos branquiales.	2001
Amoebic gill disease: sequential pathology in cultured Atlantic	M.B. Adams y B.F. Nowak	Descripción histopatológica de la enfermedad de la ameba en las branquias (AGD) en smolts de Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en Tasmania, Australia. Se identificó que el incremento en la proporción de daño en los filamentos branquiales ocurría entre la semana	2003

Título	Autores	Resumen	Año
salmon, <i>Salmo salar</i> L.		18 y 19 post-transferencia, coincidiendo con la interrupción holoclina e incremento en la temperatura del agua en las balsas jaulas. Se determinó que la respuesta del huésped a la infección branquial producida por <i>Neoparamoeba</i> sp. se caracteriza por un incremento en la producción y migración de las células inmunoregulatorias a las lesiones en la zona afectada.	
Experimental amoebic gill disease of Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.: further evidence for the primary pathogenic role of <i>Neoparamoeba</i> sp. (Page, 1987)	M.B. Adams y B.F. Nowak	Evaluación del mecanismo de desarrollo de lesiones de la enfermedad de la ameba de la branquia (AGD) y el principal papel patogénico de <i>Neoparamoeba</i> sp. Se aisló la ameba viable de las branquias de 3 grupos de Salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>), los cuales habían sido expuestos a un desafío con la ameba. Además, se aisló al patógeno del agua de mar sin tener contacto directo con el epitelio branquial. Se estimó que las lesiones branquiales observadas no eran solo producidas por la ameba <i>Neoparamoeba</i> sp.	2004
Gill histopathology of wild marine fish in Tasmania: potential interactions with gill health of cultured Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.	B.F. Nowak, D.Dawson, L. Basson, M. Deveney y M.D. Powell	Estudio sobre el estado de las branquias de los peces marinos silvestres en Tasmania, Australia, para determinar la interacción potencial entre estos peces y los peces de cultivo. Los peces fueron capturados de 3 centros de cultivo de salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) marinos y 3 sitios de referencia alrededor de Tasmania. Se encontraron 13 especies de peces entre las cuales se encontraron: red cod (<i>Pseudophycis baches</i>), sand flathead (<i>Platycephalus bassensis</i>) y jack mackerel (<i>Trachurus declivus</i>). Se encontró en 7 de las 13 especies examinadas <i>Trichodina</i> en las branquias, en un rango de 1 a 23 individuos/branquia. Se observaron gusanos planos monogéneos en las branquias de las tres especies mayor muestreadas y se determinó que los peces que presentaron mayor abundancia de estos parásitos fueron los 'sand flathead'.	2004
Sequential pathology after initial freshwater bath treatment for amoebic gill disease in cultured Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.	M.B. Adams y B.F. Nowak	Estudio sobre los baños de agua dulce como esenciales para la enfermedad de la ameba de la branquia (AGD) durante la fase de ciclo de producción en el Salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en mar en Tasmania. Se concluyó que durante la patogénesis del periodo inter-baño fue idéntico a la infección inicial aunque la fuente de reinfección permanece estabilizada.	2004
Distribution of <i>Neoparamoeba</i> sp. In sediments around marine finfish farming sites in Tasmania	P.B.B. Crosbie, C. Macleod, S. Forbes, B.F. Nowak	Análisis de muestras de sedimentos marinos recolectados desde varios sitios en 2 centros de cultivo marino de salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) en Tasmania, para la determinación de presencia de <i>Neoparamoeba</i> sp. Además se midieron variables medioambientales del sedimento como potencial redox y concentración de sulfidio y se observó la condición biológica por medio de video observaciones. <i>Neoparamoeba</i> sp. fue detectada en poblaciones de ameba aisladas por cultivo desde todos los sitios y en 50% de todas las muestras de sedimento tomadas. Se concluyó que la presencia de <i>Neoparamoeba</i> sp, no se	2005

Título	Autores	Resumen	Año
		encuentra relacionada con las actividades de centro de salmón y parámetros ambientales.	
Respiratory pathogenesis of amoebic gill disease (AGD) in experimentally infected Atlantic salmon <i>Salmo salar</i>	M.J. Leef, J.O. Harris, M.D. Powell	Análisis de la respuesta respiratoria del salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>), infectado experimentalmente con la enfermedad de la ameba de la branquia (AGD). No se observaron efectos significativos entre los peces expuestos a la ameba y los peces control (no expuestos). Se observó el pH arterial elevado a las 48 h (2 días) de ser desafiado los peces con AGD. Se determinó que la unión de la ameba a la branquia podría inducir una alkalosis respiratoria inicial al incrementarse la frecuencia de ventilación. Se ha observado que AGD solo afectó los filamentos branquiales y que la mortalidad producida por AGD en Salmón Atlántico podría no ser principalmente asociada a fallas respiratorias.	2005
<i>Neoparamoeba perurans</i> n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	N.D. Young, P.B.B. Crosbie, M.B. Adams, B.F. Nowak, R.N. Morrison	Se determinó cual de las dos amebas (<i>Neoparamoeba pemaquidensis</i> y <i>N. branchiphila</i>) aisladas de salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) que presentaban la enfermedad de la ameba de la branquia (AGD), es el agente etiológico causal de ésta enfermedad. Se infirió que la ameba NCGD específica se encuentra asociada a la enfermedad de la ameba de la branquia, mientras que la <i>N. pemaquidensis</i> o <i>N. branchiphila</i> fueron asociadas con lesiones de AGD. Por lo tanto, la ameba NCGD se consideró como una nueva especie, asignada como <i>Neoparamoeba perurans</i> n. sp. y se determinó que ésta era el agente etiológico predominante de AGD de Salmón Atlántico cultivado en Tasmania, Australia.	2007
Development of an <i>in vivo</i> assay to assess attachment of <i>Neoparamoeba</i> sp. (an amphizoic gymnameoba) to the gills of Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.	P.B.B. Crosbie, M.B. Adams, M.G. Attard y B.F. Nowak	Desarrollo de un estudio para medir <i>Neoparamoeba</i> sp. en las branquias de Salmón Atlántico sobre un corto periodo de tiempo y usar este valor para el impacto de los antibióticos en los salmones de ensayo con AGD en el laboratorio. El ensayo podría también ser aplicado para realizar pruebas para medir el potencial de algún tratamiento y para las medidas profiláticas que podrían afectar <i>Neoparamoeba</i> sp. adheridas a branquias del salmón y medir la progresión subsecuente a AGD. En todos los salmones expuestos a <i>Neoparamoeba</i> sp. se observaron señales histológicas de AGD (i.e. pequeñas lesiones focales en branquias asociadas a <i>Neoparamoeba</i> sp. trofozoitos) después de la exposición inicial. Este estudio demostró que un tratamiento de antibiótico de <i>Neoparamoeba</i> sp. no tuvo efecto detrimental en la habilidad subsecuente de la ameba para inducir AGD en salmón Atlántico. Este estudio proporciono un rápido y relativo modelo para el desafío AGD, modelo que tiene potencial para numerosas aplicaciones.	2007
<i>Neoparamoeba perurans</i> is a cosmopolitan aetiological agent of amoebic gill disease	N. D. Young, I. Dykova, K. Snekvik, B.F. Nowak, R.N. Morrison	Descripción de un nuevo miembro del genero <i>Neoparamoeba</i> , <i>N. perurans</i> , se observó que este es un agente de la enfermedad de la ameba de la branquia (AGD) de salmón atlántico <i>Salmo salar</i> cultivado en el sudeste de Tasmania, Australia. En las muestras archivadas de <i>N. perurans</i> se detectó sólo la ameba, confirmando que esta ha sido etiología predominante agente de AGD en Tasmania desde epizooticas fueron reportadas primero. <i>N. perurans</i> fue también el agente exclusivo de AGD en 4 huéspedes especies a través de 6 países. Junto, Este dato observado que <i>N. perurans</i> es un agente cosmopolita de AGD y además, de importancia en la industria de cultivo marino a nivel global	2008

Título	Autores	Resumen	Año
Development of a diagnostic PCR to detect <i>Neoparamoeba perurans</i> , agent of amoebic gill disease	N.D. Young, I. Dykova, B.F. Nowak y R.N. Morrison	Evaluación de los métodos usados para el diagnóstico de AGD. Además, se describe un ensayo para detectar <i>N. perurans</i> . El PCR representa una herramienta simple, flexible que será utilizada para el diagnóstico para detectar AGD. Esto podría ser también usado para la proyección del genotipo de trofozoitos durante el cultivo y podría facilitar además estudios epidemiológicos y ecológicos de AGD.	2008
An opportunistic detection of amoebic gill disease in blue warehou, <i>Seriolella brama</i> Günther, collected from an Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L., production cage in south eastern Tasmania.	M.B. Adams, M. Villavedra y B.F. Nowak	Descripción de la histopatología e inmunohistoquímica para la identificación de <i>Neoparamoeba</i> sp. a través de signos tempranos de la enfermedad dentro de las branquias de <i>Seriolella brama</i> Günther, una especie endémica que migra a través de aguas templadas al sur de Australia y Nueva Zelanda. Las especies endémicas (en las aguas de Tasmania) están lejos de ser identificadas como susceptibles a la infección por <i>Neoparamoeba</i> sp. bajo condiciones experimentales; se determinó que <i>Neoparamoeba</i> sp. no induce enfermedad en el 'greenback flounder' o en el caballo de mar.	2008
Branchial mechanical injury does not accelerate the progression of experimentally induced amoebic gill disease (AGD) in Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> L.	M.B. Adams, K.A. Grossa and B.F. Nowaka	Se presentan resultados de una infección experimental en laboratorio que analiza la afirmación que las lesiones branquiales podrían acelerar el desarrollo patológico de la enfermedad ameboide branquial (AGD). Los datos sugieren que las lesiones mecánicas no representan una oportunidad para la fijación y/o colonización del epitelio branquial en el salmón Atlántico durante la infección experimental con <i>N. perurans</i> .	2009
Amoebic gill disease resistance is not related to the systemic antibody response of Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i> L.	Taylor RS, Crosbie PB, Cook MT.	Se analiza el aparente desarrollo de una resistencia a AGD se debe a una respuesta adaptativa a través del muestreo secuencial de suero proveniente de especímenes obtenidos durante las primeras tres etapas de una infección natural de AGD y de sobrevivientes de un desafío posterior de sobrevivencia a AGD.	2010
Do salmon lice, <i>Lepeophtheirus salmonis</i> , have a role in the epidemiology of amoebic gill disease caused by	B F Nowak, J Bryan and S R M Jones	El estudio tiene por objetivo realizar un estudio preliminar de los reservorios de <i>N. perurans</i> en o adyacentes a poblaciones de salmones sospechosas de tener la enfermedad ameboide branquial (AGD).	2010

Título	Autores	Resumen	Año
<i>Neoparamoeba perurans?</i>			

Tabla 40 Publicaciones relativas a enfermedades emergentes

Título	Autores	Resumen	Año
Emerging viral diseases of fish and shrimp	Peter J. Walken, James R. Winton	Se analiza el aumento y características de la acuicultura, los patógenos virales más importantes que afectan a los peces y langostinos y sus impactos y las características particulares de la aparición de enfermedades en un contexto acuático. Además se incluye un análisis de la aparición potencial futura de enfermedades en animales acuáticos dada la expansión de la acuicultura y los desafíos que enfrenta por el cambio climático.	2010
Endohelminth Parasites From Salmonids in Intensive Culture From Southern Chile	P. Torres, J. C. Quintanilla, M. Rozas, P. Miranda, R. Ibarra, M. F. San Martín, B. Raddatz, M. Wolter, A. Villegas, C. Canobra, M. Hausdorf, and R. Silva	Se analiza la presencia de parásitos endohelminthos en 228 salmónidos (90 <i>Oncorhynchus mykiss</i> , 48 <i>Oncorhynchus kisutch</i> , and 90 <i>Salmo salar</i>) provenientes de 8 centros de cultivo intensivo en el sur de Chile, entre diciembre de 2008 y mayo de 2009. Se detectó infección por <i>Diphyllbothrium</i> sp. en dos individuos de <i>O. Mykiss</i> provenientes del Lago Tarahuin, al sur de la Isla de Chiloé. Además, se observó tetraphyllidean plerocercoids y larvas de <i>Hysterothylacium aduncum</i> en <i>O. kitsutch</i> de un hatchery de agua de mar de Chiloé. Este es el primer registro de estos parásitos en salmónidos cultivados en Chiloé.	2010
Intensive fish farming and the evolution of pathogen virulence: the case of columnaris disease in Finland	K. Pulkkinen, L.-R. Suomalainen, A. F. Read, D. Ebert, P. Rintama" ki and E. T. Valtonen	Se muestra un aumento en la ocurrencia de la enfermedad bacterial <i>Flavobacterium columnare</i> en alevines de salmón en un periodo de 23 años, en un centro de cultivo al norte de Finlandia. Se plantea que este aumento se debe a cambios evolutivos en la virulencia bacteriana, basándose en las siguientes observaciones: 1) el aumento estuvo asociado a un incremento en la severidad de los síntomas, 2) las cepas de <i>F. columnare</i> presentan distintas virulencias, donde las cepas más letales inducen síntomas más severos antes de la muerte; 3) las cepas más virulentas presentan una mayor infectividad, mayor capacidad de degradación de los tejidos e índices más altos de crecimiento; 4) las cepas patógenas co-ocurren, por lo que las cepas compiten; 5) <i>F. columnare</i> es capaz de transmitirse desde peces muertos y mantener su infectividad en agua esterilizada por meses.	2009
<i>Streptococcus phocae</i> , an emerging pathogen for salmonid culture	Jesuss L. Romalde , Carmen Ravelo, Iván Valdés, Beatriz Magarinos, Eduardo de la Fuente,	Se describe la caracterización del agente causal de los brotes de enfermedades que desde 1999 se han presentado en forma repetida durante los meses de verano (temperaturas superiores a 15,8°C) en el salmón Atlántico (<i>Salmo salar</i>) cultivado en Chile y que afectan tanto a smolts como a peces adultos cultivados en aguas estuarinas y marinas, con mortalidades que llegan al 15% de la población afectada. A pesar que la caracterización	2008

Título	Autores	Resumen	Año
	Carolina San Martin ,Rubén Avendaño-Herrera, Alicia E. Toranzo	bioquímica de los aislados sugieren que se trataría de <i>Gemella</i> , el secuenciamiento y análisis RFLP del 16S rRNA reveló que la bacteria asociada a la mortalidad pertenece a <i>Streptococcus phocae</i> . Considerando lo anterior, se concluye que la especie <i>S. phocae</i> es un patógeno emergente en el cultivo de salmónidos en Chile y debiera ser incluido como un nuevo miembro de la streptococcosis.	
Nocardial Infections in Fish: An Emerging Problem in Both Freshwater and Marine Aquaculture Systems in Asia	L. Labrie, J. NG, Z. Tan, C. Komar, E. Ho and L. Grisez	Se analizan las causas de mortalidades asociadas a los signos típicos de una enfermedad clínica entre 2002 y 2006 indicativas de infecciones nocardiales en Indonesia, China, Singapur y Malasia. Se discute el aislamiento, identificación y prevalencia de estas infecciones en el sudeste de Asia para ilustrar el rol de <i>N. seriolae</i> como un patógeno primario en peces. La enfermedad se observó en peces marinos y peces de agua dulce, como la tilapia y se detectaron distintos niveles de mortalidad. A través de pruebas bioquímicas se determinó que el agente causal era <i>N. seriolae</i> y permitió diferenciarlo de otros patógenos. Se diseñaron primers de PACR específicos, los cuales se utilizaron para confirmar la identidad hasta el nivel de especies.	2008
Study on rainbow trout nodular gill disease detected in Poland	J. Antychowicz	El objetivo de este trabajo es comparar los cambios detectados en las branquias de trucha arcoiris en Polonia con aquellos descritos en otros países que han sido diagnosticados como enfermedad nodular branquial. Se discute el carácter de las células tipo ameba que generalmente acompañan a este tipo de cambios proliferativos en las branquias.	2007
Disease and health management in Asian aquaculture	Melba G. Bondad-Reantaso , Rohana P. Subasinghe, J. Richard Arthur, Kazuo Ogawa, Supranee Chinabut, Robert Adlard, Zilong Tan, Mohamed Shariff	Se describen distintos factores, incluyendo ejemplos específicos, que han contribuido a los problemas actuales sanitarios enfrentados por la acuicultura, incluyendo el aumento en la globalización del comercio y los mercados, intensificación de prácticas de cultivos de peces, introducción de nuevas especies para el desarrollo de la acuicultura, la expansión del comercio de peces ornamentales, las interacciones no anticipadas entre las poblaciones de cultivo y silvestres, falta de medidas eficaces de bioseguridad, cambio climático, etc. Además, se presenta información sobre los impactos socio-económicos de las enfermedades de los animales acuáticos, incluyendo cálculos de pérdidas en la producción, ingresos directos e indirectos y empleo, acceso al mercado, investigación, vigilancia, control y otros programas de manejo sanitario, incluyendo estrategias nacionales. Finalmente, se incluyen las estrategias actualmente en implementación en Asia para enfrentar las enfermedades transfronterizas que afectan el sector acuícola.	2005
A framework for understanding the potential for emerging diseases in aquaculture	Alexander G. Murray, Edmund J. Peeler	Se presenta una combinación de métodos de análisis de riesgos y teoría de virulencia con ejemplos históricos para identificar los factores claves de riesgo que intervienen en la aparición de enfermedades.	2005
Pathogenesis of Acute Viral Disease Induced in Fish by Carp Interstitial	Eli Pikarsky, Ariel Ronen, Julia Abramowitz, Berta	Se describe el aislamiento del virus que provoca una enfermedad letal en el pez koi y carpa común. El virus es similar al herpesvirus koi reportado previamente; sin embargo, presenta características inconsistentes con la familia herpesvirus, por lo que se denomina nefritis	2004

Título	Autores	Resumen	Año
Nephritis and Gill Necrosis Virus	Levavi-Sivan, Marina Hutoran, Yechiam Shapira, Michael Steinitz, Ayana Perelberg,, Dov Soffer, and Moshe Kotler	intersticial en carpa y virus de la necrosis branquial.	
Ichthyophoniasis: An Emerging Disease of Chinook Salmon in the Yukon River	R. Kocan, P. Hershberger, J. Winton	Los objetivos de este estudio incluyen: 1) realizar un monitoreo multi-anual del salmón Chinook para detectar la presencia de <i>Ichthyophonus</i> en los ríos Yukon y Tanana; 2) determinar el destino de los salmones adultos infectados provenientes de estos ríos y 3) identificar la fuente de las infecciones por <i>Ichthyophonus</i> en los salmones Chinook del río Yukon.	2004
Emerging Pathologies in Aquaculture: Effects on Production and Food Safety	C. Ghittino, M. Latini, F. Agnetti, C. Panzieri, L. Lauro, R. Ciappelloni and G. Petracca	Se plantea que las enfermedades infecciosas representan un factor limitante para el desarrollo de la acuicultura en Italia. Se analiza el hecho que las recientes introducciones y diseminación de nuevos patógenos, junto con el cambio climático global, contribuyen a la disminución de la producción de truchas. En Italia, las patologías emergentes en el cultivo de trucha arcoiris incluyen enfermedades virales (necrosis hematopoyética infecciosa), bacteriales (lactococcosis y flavobacteriosis visceral) y parasitarias (enfermedad proliferativa del riñón). Se plantea que un buen manejo sanitario en los centros de cultivo es esencial para evitar y limitar las pérdidas provocadas por las enfermedades emergentes..	2003
Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi	Oren Gilad, Susan Yun, Mark A. Adkison, Keith Way, Neil H. Willits, Herve Bercovier and Ronald P. Hedrick	Se presenta una comparación de polipéptidos del virión y fragmentos de restricción genómica de siete aislados de KHV, los que indicaron que a excepción de uno, éstos representan un grupo homogéneo. Se establece, además, que el factor ambiental que influencia la aparición y severidad de la enfermedad es la temperatura del agua.	2003

Anexo V: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco institucional)

Tabla 41 Análisis comparativo de la institucionalidad por países.

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
Objetivo	<ul style="list-style-type: none"> •La Subsecretaría de Pesca, dependiente del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, tiene como objetivo normar los procedimientos y requisitos relativos a la importación de recursos hidrobiológicos para la acuicultura. Regular los proyectos de acuicultura, a través de evaluaciones ambientales multisectoriales a través del RAMA. •El Servicio Nacional de Pesca, dependiente del mismo Ministerio, tiene como objetivo controlar el cumplimiento de la normativa 	<p>El <i>Department of Agriculture, Fisheries and Forestry</i> (DAFF) está a cargo de desarrollar e implementar las políticas y programas para asegurar la competitividad, rentabilidad y sustentabilidad de las pesquerías.</p>	<p><i>Fisheries and Oceans Canada</i> (DFO) está a cargo de asegurar el desarrollo sustentable y uso apropiado de las aguas en Canadá.</p>	<p>El Departamento de Comunicaciones y Recursos Naturales y Marinos (<i>Department of Communications, Marine and Natural Resources</i>) está a cargo de velar por el desarrollo sustentable del sector para maximizar la contribución laboral y crecimiento de las comunidades costeras y la economía nacional.</p>	<p>El Ministerio de Agricultura está a cargo de velar por las importaciones y todos los temas relacionados con las enfermedades de peces.</p>	<ul style="list-style-type: none"> •The <i>Ministry of Fisheries</i> tiene la responsabilidad de velar por el cumplimiento de los requerimientos generales y la sanidad y bienestar de los peces. Es la autoridad principal en las materias relativas a la industria acuícola. •The <i>Ministry of Agriculture</i> está encargado del control de las enfermedades y la normativa en esta área. •The <i>Ministry of Environment</i> está a cargo de la protección del medioambiente y el control de desechos provenientes de la acuicultura. •The <i>Norwegian Food Safety Authority</i> es la oficina dependiente de los tres Ministerios. Ante uno de ellos es responsable de la salud humana y 	<p>El servicio <i>Animal and Plant Health Inspection Service</i> (APHIS) tiene una misión amplia que incluye proteger y promover la sanidad agrícola de USA, administrar la Ley de Bienestar Animal y llevar a cabo actividades de manejo de daños a la vida animal.</p> <p>El <i>Fish and Wild Service (FWS)</i> es la autoridad principal en lo relativo a la salud de los animales acuáticos y en la protección de los peces silvestres y de cultivo de virus que puedan ser importados en salmónidos vivos o muertos o sus productos.</p> <p>El <i>Food and Drug Administration (FDA)</i> juega un</p>	<p>MAF Biosecurity tiene como objetivo proteger la ventaja natural del país, tomando decisiones de manejo de riesgos oportunas e informadas y decisiones eficaces.</p>

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	<p>pesquera, acuícola, sanitaria y ambiental y los acuerdos internacionales que regulan la actividad.</p> <ul style="list-style-type: none"> •El Servicio agrícola y Ganadero (SAG) tiene un rol relevante en lo relativo al registro de productos farmacéuticos y en la fiscalización del cumplimiento de las normas legales y reglamentarias sobre prevención, control y erradicación de enfermedades de los animales. •Las COREMAS, dependientes de la Comisión Nacional del Medio Ambiente tienen por objetivo Certificar la calificación ambiental. 					<p>ante los otros dos vela por el desarrollo económico de la actividad.</p>	<p>rol fundamental en la aprobación y control del uso de drogas en los animales acuáticos.</p> <p>El Servicio Nacional de Pesquerías de NOAA, dependiente del Ministerio de Comercio, tiene como objetivo conservar, proteger y administrar los recursos marinos para asegurar su continuidad como componentes de funcionamiento de los ecosistemas marinos.</p>	
Ámbitos de acción	<ul style="list-style-type: none"> •Regulación de procedimientos y normas. •Inspecciones, certificaciones y revisión de antecedentes. •Acuicultura sustentable. •Sistemas de vigilancia y 	<ul style="list-style-type: none"> •Apoyo a las pesquerías y acuicultura nacional (programas de investigación, cuarentenas, sanidad). •Acceso a los mercados. Desarrollo y 	<ul style="list-style-type: none"> •Cuerpos de agua seguros y accesibles. •Ecosistemas acuáticos saludables y productivos. •Pesquerías y acuicultura sustentable. 	<ul style="list-style-type: none"> •Creación de un marco sustentable y apropiado en lo medioambiental. •Creación de masa crítica para la expansión de la acuicultura bajo el Plan de Desarrollo Nacional actual. 	<ul style="list-style-type: none"> •Investigación sobre Pesquerías. •Conservación y uso de stocks y otros recursos marinos, el océano y el fondo marino. •Manejo de las áreas de cosecha. •Investigación y 	<p>El <i>Ministry of Fisheries</i> es responsable de las siguientes áreas: Industria Pesquera; Industria Acuícola; Seguridad alimentaria; Puertos e infraestructura; Contaminación.</p>	<p>Implementación de protocolos de emergencia para manejar y erradicar rápidamente el brote de una enfermedad.</p> <p>Administración de los recursos</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Liderazgo del sistema de bioseguridad de Nueva Zelanda. •Abarca el comercio internacional y la protección de la salud de la población. •Aseguramiento

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	<p>diagnóstico de las enfermedades existentes en el país o susceptibles de ingresar, relevantes para la producción nacional.</p>	<p>manejo de políticas.</p>			<p>control de la producción e importaciones. Apoyo a la investigación e innovación en el sector pesquero.</p>	<p>El <i>Ministry of Environment</i> divide su política ambiental en once áreas objetivo dentro de las cuales se encuentra el uso sustentable y la protección de la biodiversidad.</p> <p>El <i>Ministry of Agriculture</i> es del seguimiento de las instalaciones destinadas a las mortalidades, el registro de enfermedades y la limpieza y desinfección. Comparte responsabilidad con el Ministerio de Pesquerías y el Ministerio de Salud en las políticas de alimentos, su manejo y producción hasta su entrega al consumidor.</p> <p><i>The Norwegian Food Safety Authority</i> es responsable de la salud y bienestar animal en Noruega y de las normativas que cubren todos los aspectos relacionados con la importación y exportación para enfrentar y evitar el ingreso de las enfermedades de animales.</p>	<p>marinos a través de la conservación y manejo con base científica y el fomento de los ecosistemas saludables.</p>	<p>del bienestar del medioambiente, la flora y fauna, la vida marina y los recursos Maori.</p>

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
Atribuciones en relación a la salud animal y/o acuícola	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación de las condiciones sanitarias (RAMA y RESA). • Programas de control y vigilancia ante EAR y emergencias sanitarias para mantener el estatus sanitario. • Informar semestralmente la ausencia o presencia en el país de enfermedades que conforman la lista definida por la OIE. 	<ul style="list-style-type: none"> • Desarrollo de una estrategia para el manejo del estatus sanitario de animales acuáticos. • Desarrollo de un enfoque nacional de respuestas ante emergencia y sobre todo para el manejo del estatus sanitario. 	Desarrollo del <i>National Aquatic Animal Health Program</i> (NAAHP), para evitar las enfermedades en la acuicultura y pesquerías y así mantener su competitividad y acceso a los mercados.	Desarrollo de un programa de monitoreo sanitario que evalúa la presencia de las enfermedades indicadas en la Directriz 2006/88/EC y otras enfermedades acuáticas de importancia nacional.	<ul style="list-style-type: none"> • Estudios e investigación sobre enfermedades de peces y organismos acuáticos. • Programas de vigilancia para enfermedades de peces. • Diagnóstico de enfermedades y análisis de muestras. 	<ul style="list-style-type: none"> • Diseño e implementación de leyes y reglamentos sobre enfermedades de peces. • Regular la industria acuícola, incluyendo la salud de los peces y el impacto ambiental. • Coordinar los objetivos de la política ambiental. • Normar de acuerdo a los listados de enfermedades. 	<ul style="list-style-type: none"> • Optimización de los beneficios de los recursos marinos, a través de la ciencia y el manejo apropiado. • Fortalecimiento de las pesquerías sustentables. • Evitar las potenciales pérdidas económicas asociadas a la sobre-pesca, pérdida de especies, enfermedades y degradación de los hábitats. 	Eliminar de forma eficaz o manejar eficientemente las pestes y enfermedades.
Estructura	Proceso a cargo de dos instituciones dependientes entre sí, que se relacionan a través de los procedimientos de vigilancia y control de enfermedades y apoyadas por otras instituciones de gobierno (CONAMA, SAG)..	Proceso a cargo de una sola institución (DAFF), apoyada por un comité (AAHC), los gobiernos regionales y la industria.	Proceso a cargo de una sola institución federal (DFO), apoyada por los gobiernos federales, provinciales y territoriales y la Canadian Food Inspection Agency's (CFIA)	Proceso a cargo de una sola institución (DCMRN), la cual comparte responsabilidad con otros departamentos (<i>Department's Seafood Policy & Development section</i>) y las autoridades locales.	Proceso a cargo de una sola institución, apoyada por 4 departamentos administrativos (Department of Aquaculture, Seafood and Markets, Department of Coastal Affairs, Department of Research and Innovation, Department of Marine Resources and Environment)	Proceso a cargo tres ministerios apoyados directamente por una institución (Norwegian Food safety Authority) que cubre todo el país y que se basa en principios internacionales (Codex Alimentarius FHO/WHO y la OIE) para desarrollar normar de acuerdo al listado de enfermedades y el estatus sanitario.	Proceso a cargo de una entidad federal (APHIS), en coordinación con otras instituciones federales, estatales y privadas, responsable de reportar la ocurrencia de patógenos de notificación obligada a la OIE.	Entidad central que trabaja en base a Comités, supervisada por tres agencias gubernamentales: Depto. De Pesquerías y Océanos, Ministerio de Ambientes, Tierras y Parques y Ministerios de Agricultura, Pesquerías y Alimentación.
Funcionamiento	Instituciones que interactúan según el procedimiento establecido en los	DAFF interactúa con los gobiernos regionales y la industria. El	DFO trabaja conjuntamente con CFIA, la industria,	DCMNR tiene responsabilidad directa sobre las políticas de	El ministerio, autoridad máxima en enfermedades, es apoyado por el	El <i>Ministry of Fisheries</i> está organizado en 4 departamentos: que	APHIS interactúa con la OIE a través de su Chief veterinary Officer	Los Comités recopilan la información y elaboran

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	<p>reglamentos.</p> <p>SUBPESCA: norma la totalidad del procedimiento</p> <p>SERNAPESCA: encargado por SUBPESCA controlar el cumplimiento de las normativas y asegurar el desarrollo sustentable del sector, mediante el monitoreo, control y vigilancia sectorial.</p> <p>SAG a través de sistemas que le permiten mantener a vigilancia y diagnóstico de las enfermedades existentes en el país relevantes para la producción nacional y COREMAS: Revisor SEIA cuando la SUBPESCA exige estudios ambientales.</p>	<p>Aquatic Animal Health Committee (AAHC) en el desarrollo e implementación del AQUAPLAN.</p>	<p>universidades y otros departamentos federales en la coordinación de los programas sanitarios de especies acuáticas y las prácticas de manejo.</p>	<p>acuicultura. El Department's Seafood Policy & Development section es responsable del desarrollo estratégico, económico y sustentable del sector acuícola, según lo establecido en la EU Common Fisheries Policy y la Fisheries (Amendment) Act, 1997.</p> <p>En relación a los cultivos en agua dulce, la responsabilidad la comparten el DCMNR y las autoridades locales.</p>	<p>Comité sobre Enfermedades de Peces. En cuanto a la vigilancia es apoyado por el Oficial para Enfermedades de Peces.</p> <p>El análisis de muestras y diagnóstico es de responsabilidad del Laboratorio de Enfermedades de Peces.</p>	<p>tienen responsabilidades particulares dentro de la actividad pesquera o acuícola.</p> <p>El <i>Ministry of the Environment</i> consiste en 6 deptos. y una unidad de comunicación responsables del desarrollo de políticas y estrategias de protección y uso sustentable de la diversidad biológica.</p> <p><i>The Ministry of Agriculture</i> se divide en cuatro deptos. encargados de la administración de los recursos naturales, sus políticas y la investigación e innovación.</p> <p><i>The Norwegian Food Safety Authority</i> cubre todo el país y toda la cadena alimenticia a través de 1 oficina central con 4 deptos., 8 oficinas regionales y 6 oficinas de distrito.</p>	<p>(CVO) en lo relativo a la notificación de las enfermedades de alto riesgo, apoyada por la FDA, el FWS y otras instituciones regionales.</p> <p>El Servicio de NOAA interactúa con oficinas regionales, consejos y la comunidad en los temas referentes al manejo y la sanidad de los recursos.</p>	<p>informes, con los que asesora a las agencias que la supervisan, las cuales toman las decisiones finales.</p>

Tabla 42 Resumen comparación de institucionalidad, por organización.

Descriptor	OIE	FAO	APEC
Objetivo	<ul style="list-style-type: none"> •Garantizar la transparencia de la situación zoonosanitaria en el mundo. •Recopilar, analizar y difundir la información científica veterinaria. •Asesorar y estimular la solidaridad internacional para el control de las enfermedades animales •Garantizar la seguridad sanitaria del comercio mundial mediante la elaboración de reglas sanitarias aplicables a los intercambios internacionales de animales y productos de origen animal •Mejorar el marco jurídico y de los recursos de los servicios veterinarios •Garantizar mejor la seguridad de los alimentos de origen animal y mejorar el bienestar animal usando bases científicas 	<ul style="list-style-type: none"> •Facilitar y garantizar el desarrollo y la utilización sostenibles a largo plazo de la pesca y la acuicultura mundiales. •Promover políticas y estrategias dirigidas al desarrollo sustentable y responsable de la pesca y la acuicultura en aguas continentales y marinas. 	Establecer plan de acción en la sustentabilidad del ambiente marino para sus países miembros
Ambitos de Acción	<ul style="list-style-type: none"> •Referencias veterinarias, servicios de importación y exportación. •Medidas sanitarias y fitosanitarias. •Enfermedades de organismos acuáticos. 	<p>Elaboración de documentos de referencia</p> <p>Apoyo Técnico</p>	Manejo de proyectos ambientales
Atribuciones en relación a la salud animal y/o acuícola	Elaboración de documentos normativos en que se definen las reglas que deben observar los Países Miembros para protegerse contra las enfermedades, sin por ello instaurar barreras sanitarias injustificadas.	Elaboración de metodologías, evaluación y seguimiento del estado de los recursos silvestres, y preparación de asesoramiento para la gestión de los recursos.	Entrega pautas a través de documentos realizados por equipos de trabajo.
Estructura	La OIE desempeña su cometido bajo la autoridad y el control de una Asamblea mundial de delegados, compuesta de Delegados que designan los Gobiernos de todos los Países Miembros. La Asamblea mundial nombra a un director	Dirigida por un equipo central, apoyado po departamentos relacionados con el tema, desarrolla programas de cooperación con los países miembros.	Los temas los trabajan los equipos de trabajo y los supervisan comités de alto nivel.

Descriptor	OIE	FAO	APEC
	general, quien dirige las actividades de la OIE en la Sede mundial, apoyado por el Consejo, 5 Comisiones Regionales y 4 Comisiones Especializadas.		
Funcionamiento	La institución recopila información y realiza estudios con los cuales recomienda a sus integrantes.	Entrega colaboración técnica, la cual da origen a las estrategias del país frente al tema.	A través de grupos de trabajo que elaboran documentos referenciales para los países miembros del foro.

Anexo VI: Revisión de la normativa nacional e internacional (Marco Legal)

Tabla 43 Análisis comparativo de la legislación, por países.

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
Objetivo y ámbito	<p>Prevención, control y erradicación de enfermedades de animales acuáticos.</p> <p>Velar por la calidad sanitaria de los productos pesqueros destinados a mercados internacionales.</p> <p>Proteger el estatus sanitario y ambiental de la acuicultura, para velar por el desarrollo sustentable.</p> <p>Evaluar los proyectos de acuicultura previo a su ejecución.</p> <p>Desarrollo ambientalmente sustentable, permitiendo prevenir, mitigar y remediar los</p>	<p>Implementar el manejo eficiente y rentable de las pesquerías.</p> <p>Asegurar que la explotación de los recursos pesqueros se realice de manera sustentable y ecológica.</p> <p>Proteger el estatus sanitario del país.</p> <p>Asegurar la sustentabilidad de la industria pesquera.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Minimizar el riesgo de diseminación de enfermedades infecciosas a través de la inspección de los stocks silvestres y de cultivo. • Controlar el movimiento de peces infectados hacia y dentro de Canadá. 	<p>Conservar los recursos pesqueros a través de un gobierno corporativo efectivo de las agencias que actúan bajo el Ministerio y facilitar la explotación de los recursos en forma sustentable y justa.</p>	<p>Promover la conservación y uso eficiente de los stocks marinos explotables, los cuales incluyen las especies marinas y la vegetación localizada dentro de la zona de pesca exclusiva del país.</p>	<p>Regular la industria acuícola, incluyendo la sanidad de los peces y el impacto ambiental</p> <p>Regular la importación y exportación de especies y velar por el bienestar y salud de los animales.</p> <p>(Aquaculture Act and Food Safety Act)</p>	<p>Promover las pesquerías sustentables (Magnuson-Stevens Act)</p> <p>Prevenir, controlar y erradicar las enfermedades y entregar una visión federal de los programas sanitarios (Animal Health and Protection Act).</p> <p>Regular el movimiento internacional e interestatal de patógenos, organismos y vectores para investigación o producción de medicamentos.</p> <p>Proteger los peces silvestres o de cultivo de virus que</p>	<p>Administrar en forma sustentable los recursos.</p> <p>Promover la planificación futura del medioambiente.</p> <p>Establecer los principios y marco para una buena toma de decisiones (Resource Management Act, RMA).</p>

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	impactos asociados.						pudieran ser importados en salmónidos vivos o muertos (50 CFR Part 16.13 “Title 50”).	
Mecanismos e instrumentos	<p>Leyes, reglamentos y programas sanitarios destinados a:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Preservar los recursos hidrobiológicos, y toda actividad pesquera extractiva, de acuicultura y de investigación (Ley General de Pesca y Acuicultura, RAMA). •Clasificar las enfermedades de alto riesgo por grupos de especies hidrobiológicas, considerando su virulencia nivel de diseminación o impacto económico para el país (Reglamento de Clasificación de Enfermedades de 	<p>Leyes, programas y planes especiales destinados a:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Liderar y coordinar el manejo nacional de la sanidad de especies acuáticas (Aquatic Animal Health Program, AAHP). - Fortalecer la capacidad de manejo de la sanidad de especies acuáticas y el desarrollo de un enfoque para la respuesta a emergencias y el manejo amplio de la salud de las especies (AQUAPLAN). - Planes de emergencia que involucran una serie de manuales sobre el enfoque el país frente a las enfermedades y las respuestas 	<p>Leyes y reglamentos (Fisheries Act, y Fish Health Protection Regulations) que definen los requerimientos y procedimientos de los movimientos de peces dentro y hacia Canadá.</p>	<p>Leyes y reglamentos dirigidos a la conservación de los hábitat y stocks, a través de un marco regulatorio y legislativo efectivo.</p>	<p>Leyes, regulaciones y evaluaciones ambientales relacionadas con las pesquerías de salmones, la conservación de la naturaleza, prevención de enfermedades e inspecciones sanitarias, transferencia y liberación de salmones y la prevención de enfermedades, etc.</p>	<p>Leyes y normas basadas en el Código Alimentario (FHO/WHO) y la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE) para regular la industria acuícola, la sanidad de los peces y el impacto ambiental.</p> <p>Acuerdos para velar por los recursos, desarrollar el conocimiento base.</p>	<p>Leyes, reglamentos, planes y programas dirigidos a regular las pestes y enfermedades de animales acuáticos, incluyendo los de cultivo.</p> <p>Legislar sobre el movimiento internacional e interestatal en lo relativo a patógenos y vectores.</p> <p>Proteger los peces de cultivo y silvestres.</p> <p>Aprobar drogas y medicamentos para el uso en la industria acuícola.</p>	<p>Leyes y reglamentos dirigidos a regular el manejo costero, considerando los efectos medioambientales de los centros de cultivo y los efectos sociales y culturales.</p>

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	<p>Alto Riesgo).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proteger el patrimonio sanitario del país y reglamentar las medidas de protección y control para evitar la introducción de enfermedades de alto riesgo, aislar su presencia en caso de que éstas ocurran, evitar su propagación y propender a su erradicación, determinando las patologías que se clasifican de alto riesgo (Reglamento de medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo, RESA).. 	técnicas y estrategias de control a activar en caso de emergencia (AQUAVETPLAN)						
Instituciones	<p>Una Subsecretaría, quien: norma la totalidad del procedimiento</p> <p>Un Servicio encargado de la fiscalización, verificación e</p>	<p>Un Ministerio que fiscaliza la implementación de los programas y planes.</p> <p>Comités que desarrollan e implementan los distintos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oficiales sanitarios locales a cargo de la administración y cumplimiento de las normas. • Un ministerio (DFO) que 	<ul style="list-style-type: none"> • Comités y Agencias pesqueras gubernamentales a cargo de la conservación efectiva de los hábitat y stocks. • Un Ministerio 	<p>Un ministerio que determina la cuota total de pesca permitida.</p> <p>Direcciones de Pesca y</p>	<p>Tres Ministerios: dos de ellos encargados del desarrollo económico y uno a cargo de la protección</p>	<p>Una Agencia que regula todas las materias concerniente a la actividad acuícola, las enfermedades y medioambiente, dependiente de</p>	<p>Un Ministerio que apoya la planificación en el ambiente costero.</p> <p>Consejos regionales que trabajan con la comunidad, la</p>

Descriptor	Chile	Australia	Canadá	Irlanda	Islandia	Noruega	Estados Unidos	Nueva Zelanda
	<p>inspección de los procedimientos establecidos, la protección del estatus sanitario y ambiental y proveer información sectorial para la toma de decisiones de las autoridades sectoriales.</p> <p>Un Servicio que fiscaliza el cumplimiento de las normas legales y reglamentarias en cuanto a las EAR y controlar los productos farmacéuticos.</p> <p>Comisiones medioambientales a cargo de la verificación del cumplimiento de lo establecido en el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental.</p>	<p>proyectos y programas.</p>	<p>actúa como ente regulador.</p>	<p>que actúa como ente legislador y regulador.</p>	<p>un Instituto de Investigación Marina, quienes apoyan las decisiones del Ministerio.</p>	<p>humana.</p> <p>Una autoridad sanitaria, dependiente de dichos ministerios</p>	<p>un Ministerio (USDA) y apoyada por dos Servicios y una institución responsables de la implementación de las leyes y el manejo de las especies de agua dulce y marinas.</p>	<p>industria y los inversionistas para identificar las Areas de Manejo de la Acuicultura y coordinan la toma de decisiones involucradas en la RMA.</p>

Anexo VII: Composición del Plancton (Columna de agua)

A continuación se presentan Tablas que resumen los resultados obtenidos en cada sector muestreado, en relación a la composición del plancton obtenido en cada una de las campañas realizadas.

Primera Campaña de Muestreo

Tabla 44 Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona I, X Región.

Nombre Común	SECTOR				
	Loncochagua	Quillaipe	Pocoihuen Alto	San Francisco	Hornopirén
Diatomea Central	7,97%	1,60%	1,92%	2,32%	2,16%
Larva de Briozoo	5,18%	5,93%	3,84%	6,67%	5,64%
Copépodos	28,29%	21,83%	19,13%	13,96%	6,97%
Copépodos	29,48%	11,41%	15,35%	6,11%	27,20%
Nauplius	0,00%	6,54%	4,35%	10,60%	2,16%
Larva zoea	0,00%	1,22%	5,42%	0,07%	0,00%
Larva zoea	2,79%	7,45%	4,91%	5,40%	8,29%
Larva zoea	5,18%	4,11%	3,22%	12,77%	1,16%
Anfípodo	0,00%	0,15%	0,11%	0,35%	0,83%
Larva Picoroco	0,40%	0,30%	0,51%	0,00%	0,66%
Larva Molusco	1,20%	10,49%	5,02%	8,00%	4,64%
Larva Pluteus	0,00%	0,00%	0,62%	0,42%	0,83%
Larvaceos	0,00%	5,10%	2,37%	3,79%	4,98%
Larvas Ictioplancton	0,00%	1,37%	0,85%	0,63%	0,00%
Annelido	0,40%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Gusano Quetoñato	0,00%	0,00%	0,00%	0,21%	0,00%
Huevos Ictioplancton	19,12%	22,51%	32,39%	28,70%	34,49%
Total	251=100%	1315=100%	1772=100%	1425=100%	603=100%

Tabla 45 Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona II, X Región.

Nombre Común	SECTOR		
	Manao	Puqueldón	Camahué
Diatomea Central	2,72%	1,60%	1,92%
Larva de Briozoo	6,82%	5,93%	3,84%
Copépodos	22,16%	21,83%	19,13%
Copépodos	0,45%	11,41%	15,35%
Copépodos	19,77%		
Nauplius	5,00%	6,54%	4,35%
Larva zoea	6,93%	1,22%	5,42%
Larva zoea	8,52%	7,45%	4,91%
Larva zoea	9,20%	4,11%	3,22%
Anfípodo	0,45%	0,15%	0,11%
Larva Picoroco	0,68%	0,30%	0,51%
Larvaceos	3,30%	5,10%	2,37%
Gusano Quetoñato	0,00%	1,37%	0,85%
Larvas ictioplancton	2,61%	0,00%	0,00%
Huevos Ictioplancton	11,36%	22,51%	32,39%
Total	880=100%	1315=100%	1772=100%

Tabla 46 Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector de muestreo, Zona III, XI Región.

Nombre Común	SECTOR	
	Macetero	Jacaf
Diatomea Central	1,32%	1,84%
Larva de Briozoo	3,23%	3,15%
Copépodos	20,85%	19,86%
Copépodos	12,73%	11,55%
Nauplius	2,10%	2,10%
Larva zoea	7,78%	7,52%
Larva zoea	4,01%	5,69%
Larva zoea	3,08%	4,99%
Anfípodo	0,24%	0,26%
Larva Picoroco	0,34%	0,44%
Annelido	0,15%	0,09%
Larva Molusco	6,07%	7,44%
Larva Pluteus	0,78%	0,70%
Larvaceos	1,71%	1,49%
Larvas Ictioplancton	2,10%	2,97%
Huevos Ictioplancton	33,48%	29,92%
Total	2043=100%	1143=100%

 **Segunda Campaña de Muestreo**

Tabla 47 Distribución Porcentual del número de individuos por Taxón, para cada sector; Zonas I y III.

Nombre Común	ZONA I	ZONA III
	Sector Calbuco	Sector Fiordo Cupquelán
Diatomea Central	3,61%	0,00%
Copépodos	24,17%	1,09%
Copépodos	57,36%	31,52%
Larva Bryozoo	2,64%	0,00%
Larva zoea	1,39%	0,00%
Larva zoea	0,14%	0,00%
Larva zoea	0,28%	0,00%
Larva Cirripedia	0,14%	0,00%
Larva Picoroco	0,14%	0,00%
Cnidaria	0,14%	0,00%
Anphípodos	1,81%	25,00%
Poliquetos	0,56%	4,35%
Copepodito	2,08%	0,00%
Larváceos	3,89%	0,00%
Semillas molusco bivalvo	0,28%	31,52%
Huevos Ictioplancton	1,39%	6,52%
Total	720=100%	92=100%

Anexo VIII: Imágenes satelitales de TSM y clorofila α

Registros satelitales de TSM

Primera Campaña de Muestreo

➤ Sector Pocihue alto

Para el sector de Pocihue Alto, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 8,69°C y los 9,93°C, con un valor promedio de 9,13°C en la zona de muestreo.

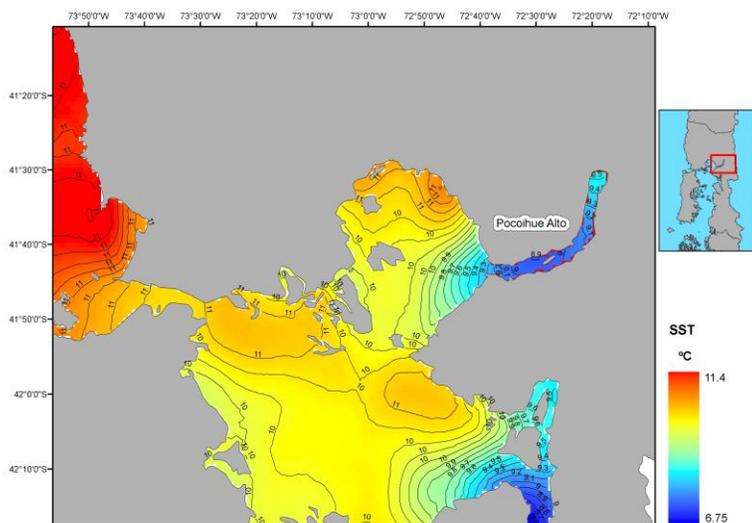


Figura 26 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Pocihue Alto, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ Sector Camahué

Para el sector de Camahué, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 9,83°C y los 9,94°C, con un valor promedio de 9,89°C en la zona de muestreo.

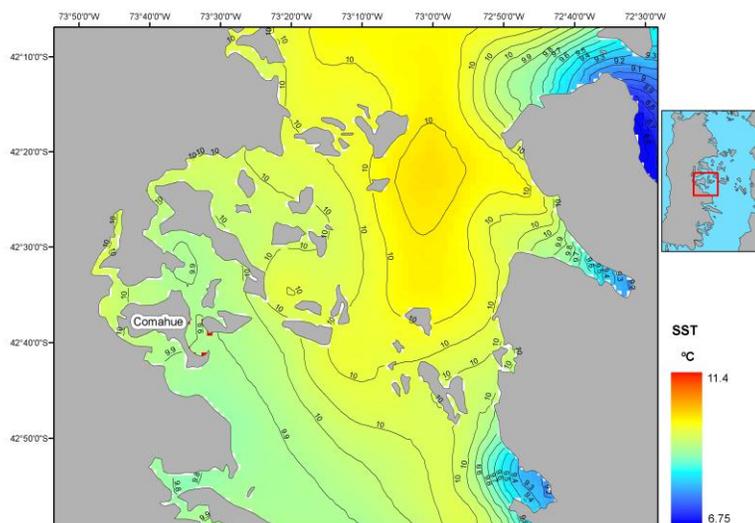


Figura 27 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Comahué, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector Puqueldón**

Para el sector de Puqueldón, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 9,82°C y los 10 °C, con un valor promedio de 9,90°C en la zona de muestreo.

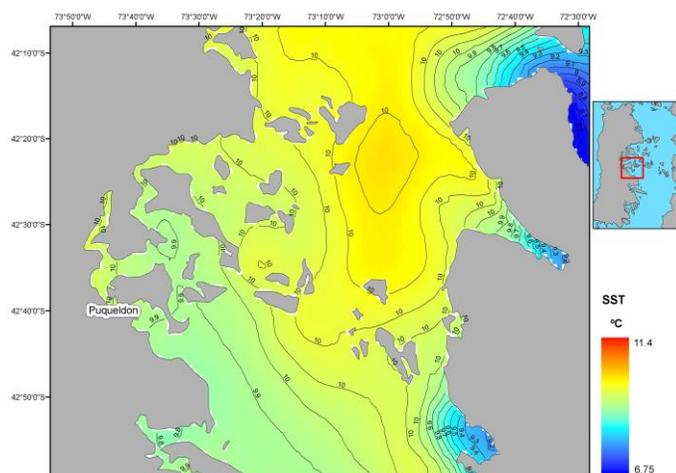


Figura 28 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Puqueldón, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector Manao**

Para el sector de Manao, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 10,42°C y los 10,67°C, con un valor promedio de 10,54°C en la zona de muestreo.

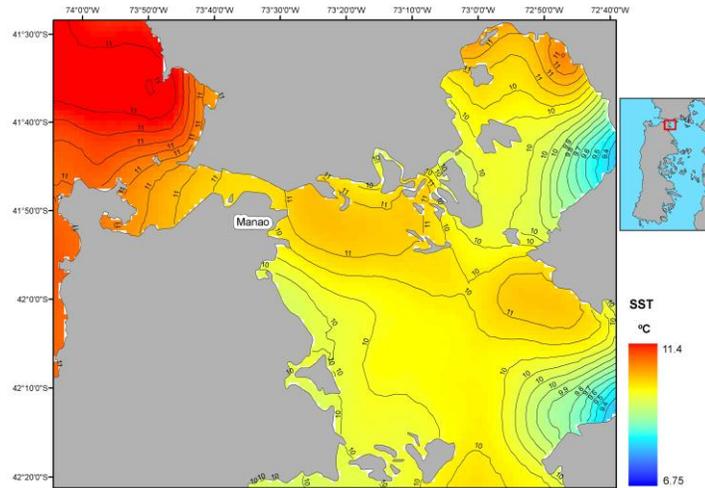


Figura 29 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Manao, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector Loncochagua**

Para el sector de Loncochagua, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 8,17°C y los 9,63°C, con un valor promedio de 8,90°C en la zona de muestreo.

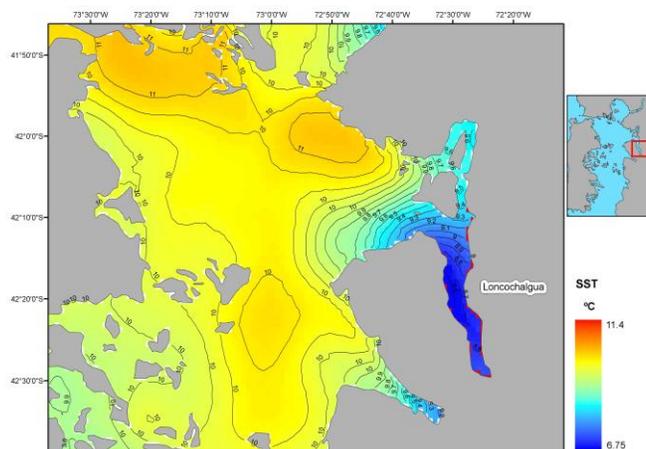


Figura 30 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Loncochalgua, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector Quillaipe**

Para el sector de Quillaipe, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre 10,61°C y los 11,19°C, con un valor promedio de 10,85°C en la zona de muestreo.

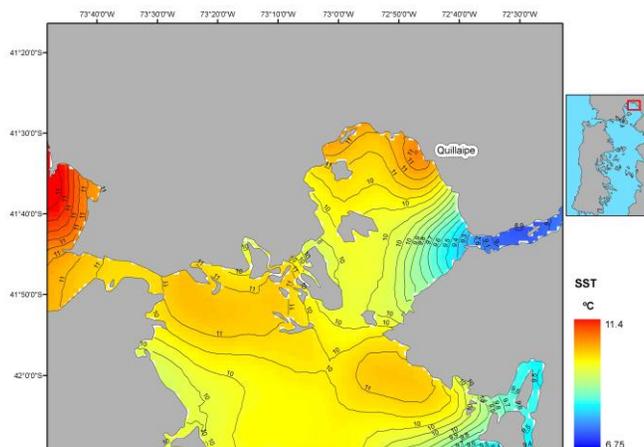


Figura 31 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Quillaipe, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector San Francisco-Marisur**

Para los dos puntos de muestreo (San Francisco y Marisur) y dada la proximidad de éstos, se trabajó con un sólo sector. La imagen de TSM presentó valores que variaron entre 11,46°C y los 12,42°C, con un valor promedio de 12,03°C en la zona de muestreo.

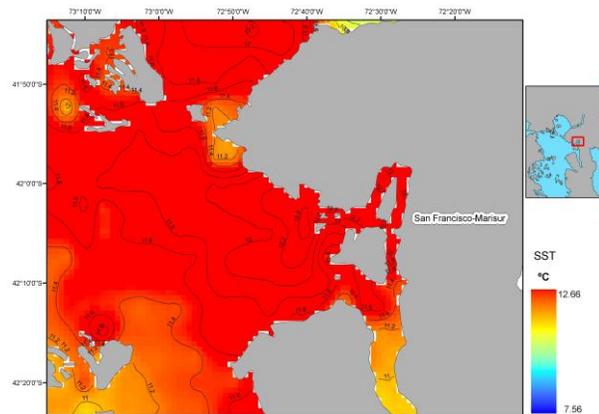


Figura 32 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Francisco-Marisur, región de Los Lagos, 28 de agosto-3 de septiembre 2009.

➤ **Sector Jacaff-Macetero**

Para los dos puntos de muestreo (Jacaf y Macetero) y dada la proximidad de éstos, se trabajó con un sólo sector. La imagen de TSM presentó valores que variaron entre 9,52°C y los 10,50°C, con un valor promedio de 10,15°C en la zona de muestreo.

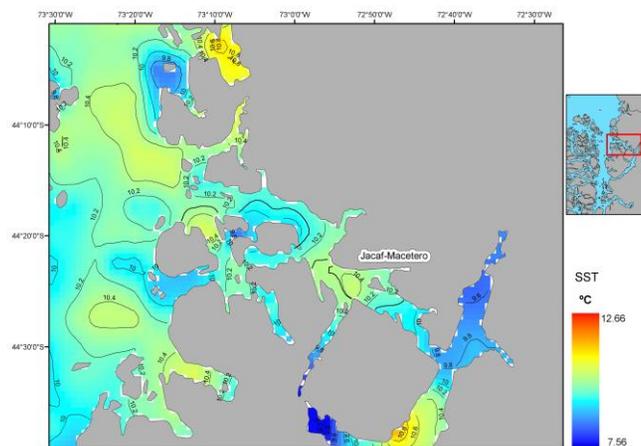


Figura 33 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) sector de Jacaf-Macetero, región de Aysén, 23- 28 de septiembre 2009.

Segunda Campaña de Muestreo

De este modo, para la campaña del mes de junio de 2010 en la zona de muestreo de Chidguapi, la imagen satelital muestra cierta homogeneidad de TSM frente a la costa, sin embargo, es posible observar un frente más cálido frente a la zona de Chacao.

Para el sector específico de muestreo, la imagen de TSM presentó valores que variaron entre los 10,58 °C y los 10,71 °C, con un promedio de 10,66°C.

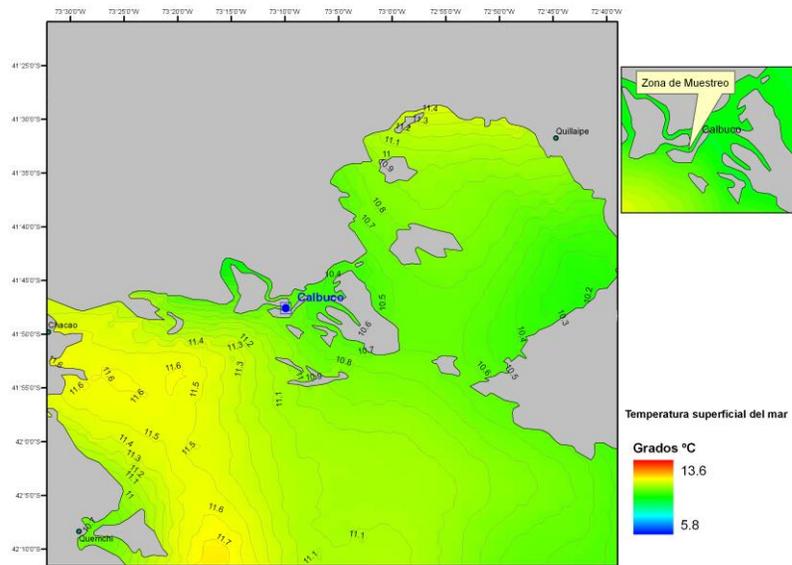


Figura 34 Imagen satelital de TSM (sensor MODIS) en zona de muestreo, Calbuco, región de Los Lagos, 2-9 junio del 2010.

Registros satelitales de Clorofila α

Las imágenes de clorofila α , son el producto de información satelital proveniente del sensor MODIS-Aqua de la NASA, utilizando el producto Nivel-3 (Level-3 binned). El procesamiento de la información satelital se efectuó con datos tipo LCA (Cobertura de Área Local), con una resolución de 4 kilómetros, utilizando el software ENVI 4.5. Posteriormente, para su representación gráfica e incorporación de imágenes vectoriales (línea de costa, contornos, toponimia), se trabajó con el software ARCGIS 9.2.

Para la primera campaña de muestreo, se obtuvo una imagen satelital correspondiente al promedio de ocho días, A20092412009248_L3m_8D_CHL_chlor_a_4km, la cual cubre

el periodo entre el 28 de agosto y el 3 de septiembre del 2009. Para la segunda campaña de muestreo se obtuvo una imagen satelital correspondiente a A20101532010160.L3_8D_CHL_chlor_a_4km.

Primera Campaña de Muestreo

Dadas las condiciones de nubosidad costera presente en el periodo de muestreo, sólo fue posible obtener imágenes satelitales de los sectores de Manao, Puqueldón y Quillaípe.

Para el sector de Manao, los valores de clorofila presentaron un promedio de 1,10 mg/m³ para la zona de muestreo.

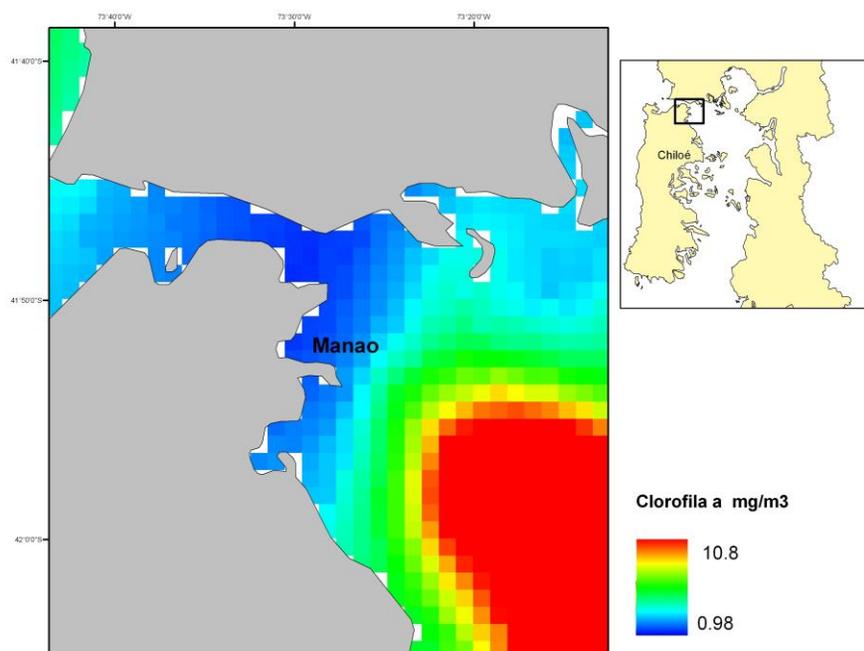


Figura 35 Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Manao, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.

Por otro lado, el sector de Puqueldón presentó menores valores de clorofila α con respecto al sector de Manao; así, el promedio alcanzó un valor de de 0,5 mg/m³ para la zona de muestreo.

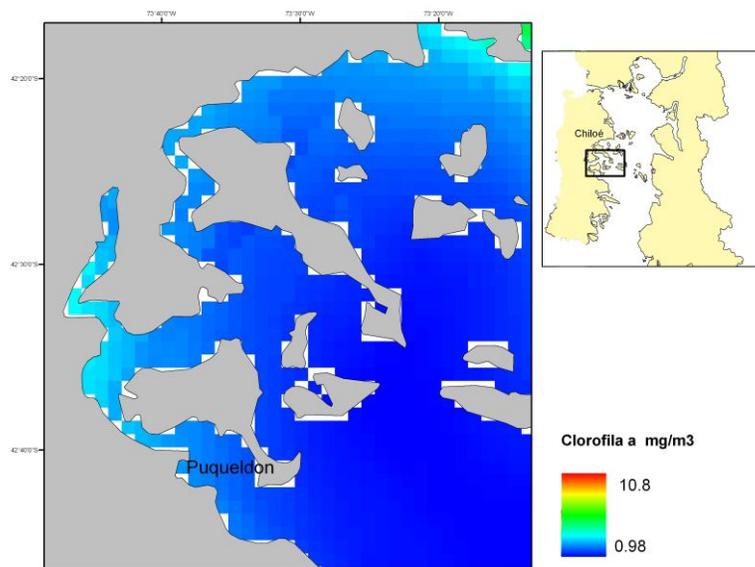


Figura 36 Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Puqueldón, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.

Finalmente, el sector de Quillaípe presentó un valor promedio de 0,54 mg/m³.

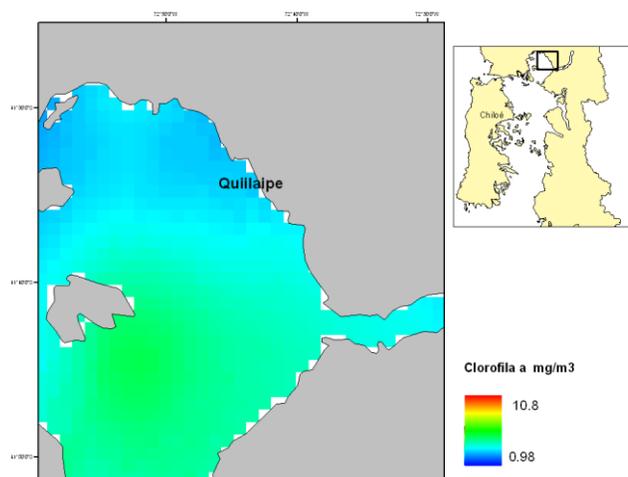


Figura 37 Imagen satelital promedio 8 días clorofila α (sensor MODIS) en zona costera de Quillaípe, región de Los Lagos, 28 agosto - 3 septiembre de 2009.

Segunda Campaña de Muestreo

Dadas las condiciones de nubosidad en la campaña del mes de junio del 2010 en la zona de muestreo, se procesó la información en base al promedio mensual de clorofila *a* para la zona de estudio.

Esto último se puede apreciar en la imagen obtenida de la página www.oceancolor.gsfc.nasa.gov, donde el producto A20101212010151-2L3m_MO_CHL_chlor_a_4km, la cual presenta condiciones para procesar clorofila *a*.

Los valores observados en la zona presentan un rango entre los 3,54 mg/m³ y los 1,768 mg/m³, con un promedio en torno a los 2,49 mg/m³. Hacia el sur poniente del sector de muestreo, se presentaron mayores valores de clorofila, con registros de 6,9 mg/m³. La misma situación se observa hacia el sector de Hornopiren, donde los valores alcanzan los 6,5 mg/m³.

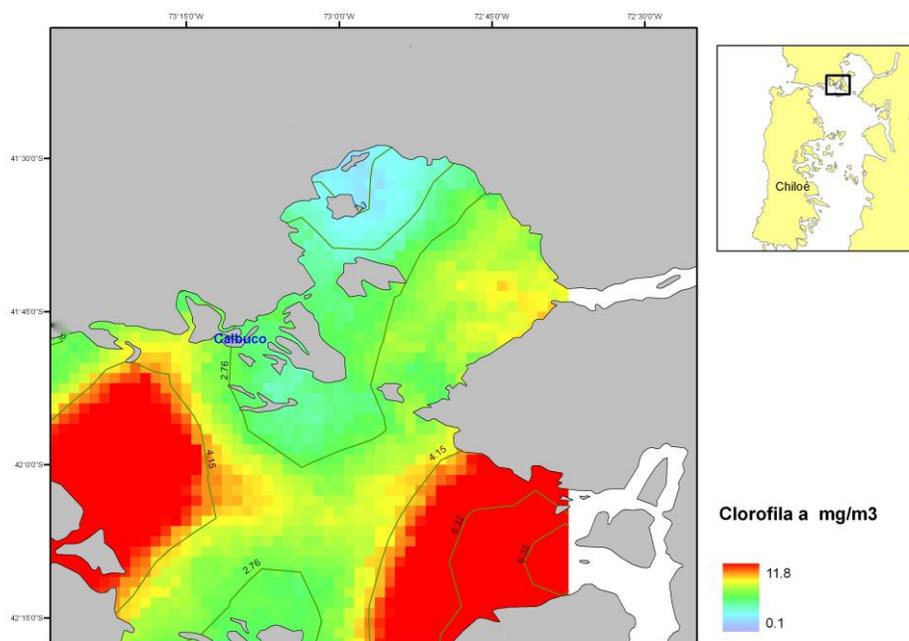


Figura 38 Imagen satelital promedio mensual de clorofila α (sensor MODIS) en zona de muestreo, región de Los Lagos, junio del 2010.

Anexo IX: Programa Taller de Discusión

PROGRAMA TALLER DISCUSION PROYECTO FIP 2008-66 ***“Moluscos bivalvos y copépodos parásitos como posibles vectores de enfermedades de Alto Riesgo en salmones”***

Lugar de realización: Sala Ximena Reyes, Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Dirección: Av. Altamirano 1480, Valparaíso

Fecha 18 y 19 de Agosto de 2010

Miércoles 18 de Agosto

09:15 – 09:30

Inauguración Taller: Guillermo Martínez, Director Escuela de Ciencias del Mar, PUCV

09:30 – 09:45

Marco del proyecto FIP 2008-66 “Determinación de patógenos de importancia en la salmonicultura, en Cáligus y Moluscos Bivalvos”: Objetivos y Metodologías. Mariel Campalans B., Jefa de Proyecto, PUCV

09:45 – 10:30

“Epidemiología de las enfermedades de alto riesgo en salmónidos”. Dr. Marcos Godoy, Aquagestión Puerto Montt

10:30 – 11:30

"Virus-host interactions of infectious salmon anaemia virus, an orthomyxovirus of fish". Dr. Fred Kibenge, Laboratorio de Referencia OIE para ISA, Canadá.

11.30 – 11:45

Café

11:45 – 12:30

"Implicancias de *Caligus rogercresseyi* en las enfermedades de alto riesgo que afectan a los salmónidos en Chile". Dra. Sandra Bravo, Universidad Austral.

12.30 – 13.00

“Péptidos antimicrobianos endógenos de bivalvos marinos, moduladores de la función de vectores virales en moluscos.” Dra. Gloria Arenas. Grupo Marcadores Inmunitarios. GIM-PUCV.

13:00-14:30

Almuerzo

14:30 – 15.00

Resultados Proyecto FIP 2008-66. Dra. Jacqueline Campalans B., Investigador Proyecto FIP 2008-66, PUCV

15:00 – 15:45

Los programas de vigilancia y monitoreo vigentes para controlar las enfermedades presentes en la acuicultura en Chile. Dra. Alicia Gallardo, Jefa Departamento de Acuicultura, Sernapesca.

15.45 – 16.00

Café

16:00 – 17:00

"Salmon farming in the marine virus environment". Dr. Fred Kibenge, Laboratorio de Referencia OIE para ISA, Canadá.

17:00 – 17:20

“Reducción de fouling mediante mallas de aleación de cobre”. Dr. Felipe Hurtado, Escuela de Ciencias del Mar, PUCV.

17:20 – 17:40

“Avance en la formulación de dietas para el control de enfermedades de salmónidos”. Dra. María Isabel Toledo, Escuela de Cs. Del Mar, PUCV.

17:40 – 18:00

Cierre

Jueves 19 de Agosto

10:00 – 10:30

“Presentación Programa Alerta Temprana Proyecto FIP 2008-66”. Mariel Campalans B., Jefa de Proyecto, PUCV

10:30 – 13:00

Panel de Discusión expertos y Conclusiones (Convocados a participar):

- Fred Kibenge, Laboratorio de Referencia OIE para ISA, Canadá
- Pedro Smith, Director del Departamento de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.
- Sandra Bravo, Ingeniero Pesquero, Ictiopatología, con especialidad en Patologías bacterianas y virales, Universidad Austral.
- Marcos Godoy, Director Técnico de Aquagestión
- Alicia Gallardo, Jefa departamento de Acuicultura, Sernapesca.

- Gloria Arenas, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, PUCV.
- Eugenio Yokota, Director Asociación de Productores de Moluscos Calbuco.
- Mariel Campalans, Jefa de Proyecto, PUCV.
- Patricia Rojas Z., Investigadora, Escuela de Ciencias del Mar, PUCV
- Jacqueline Campalans, Investigadora, Escuela de Ciencias del Mar, PUCV
- Inés Guerrero, Investigadora, Instituto de Estadística, PUCV

13:00 Clausura

Anexo X: Manuscrito en Inglés

“Significance of bivalves and the ectoparasite Caligus in the transmission of ISA and SRS in salmon farming in Chile”

Relevancia de los moluscos bivalvos y ectoparásitos del tipo Cáligus en la transmisión de patógenos ISA y SRS en la salmonicultura en Chile”

Abstract: A study aimed to determine the possible role of both the ectoparasite *Caligus* found in fish and bivalves from fouling as reservoirs of the Infectious salmon Anemia (ISA) and Salmon Rickettsial Septicemia (SRS) was carried out. Two sampling campaigns were executed in the salmon productive area in Chile (regions X, XI and XII) during 2009 – 2010, where bivalve and *Caligus* samples were obtained and subjected to a prevalence analysis of the afore mentioned diseases. The results show the ectoparasite presents the ISA and SRS pathogens when parasitizing infected fish. Regarding the same pathogens in bivalves, a high prevalence of *P. salmonis* (55%) was found, while the viral infectious agent showed a lower prevalence (17.8%).

Besides, to complement this information and determine how long these pathogens are able to survive in molluscs, a laboratory assay was carried out that included maintaining a group of *Mytilus chilensis* obtained from the fouling of a culture centre suspected for ISA in Magallanes and a second centre confirmed for the non-pathogenic strain of ISA located in Aysen. The results show molluscs are able to maintain the pathogen agent causing ISA only for a short period of time, unlike the pathogen *Piscirickettsia*, which showed a longer survival in the absence of infected fish. The latter suggests the bacteria may reproduce inside the bivalve, which will become involved in the infective cycle as they maintain the pathogen in the environment, even after fish had been removed.

INTRODUCTION

The impact of diseases, many of them of difficult eradication once they reach the farming areas, is one of the main causes generating economic losses in aquaculture. In order to reduce such impact, the development of necessary knowledge to break the transmission cycle of the pathogen from sick to healthy specimens results critical. Therefore, the determination of possible vectors of pathogens present in areas of interest for aquaculture is quite significant.

The role of the sealice *Lepeoptheirus salmonis* in Norway seems relevant in the epidemiology of ISA. Blood and mucus include large quantities of virus and seem more effective in the transmission of the virus than the copepod or faeces. The ectoparasite in Norway, although may function as a vector, results more significant as a promoter of stress and immune system debilitation (Rolland & Nylund, 1998, Devold *et al.*, 2000).

The first record of ISAv in Chile was in 2007, immediately after a large copepod infestation of *Caligus* in the salmon farming area. Although the parasite affecting salmon in Chile is different from the parasite in Norway, the resulting effect mainly lies in the reduction of defences of the hosts as a consequence of the stress caused by this parasite. Besides, it is possible *Caligus* behave as possible vectors, thus promoting the disease transmission to other areas.

Another relevant element involved in the epidemiology of diseases in salmon, which has been tackled due to their connection with human diseases, are bivalve molluscs, who given their filtering feeding concentrate pathogens thus probably acting as reservoirs of the disease.

This study aims to determine the role of ectoparasites and bivalves in the transmission of pathogen agents significant for salmon farming.

MATERIALS AND METHODS

In order to define the geographical areas that would be used as the sampling framework of infected culture centres in the studied regions, the information from the Specific Sanitary Program for Surveillance and Control of the Infectious Salmon Anaemia

(PSEVC) (Resolution N° 2638, National Fisheries Service) was analysed, which establishes an active surveillance in salmon farms and other susceptible species. Maps considering salmon farms included in the List of Positive Centres PSEVC – ISA, mollusc centres, Caligus and the Surveillance Zones for ISAv (Sernapesca) in regions X, XI, XII (Los Lagos, Aysén and Magallanes respectively) were developed.

Considering the distribution of culture centres infected with ISA in regions X and XI and the historical data supplied by the PSEVC – ISA regarding the presence of the virus in region XII, the studied area was sub-divided into the following 4 zones: (i) Zone 1: X Region, Continental, (ii) Zone II: X region, Island, (iii) Zone III: XI region and (iv) Zone IV: XII region. Therefore, two sampling campaigns between August – October 2009 and May – June 2010 were carried out.

Table 1 shows the sampling campaigns in the different zones, including dates and sample type:

Table 1 Sampling campaigns during the studied period

Zone	Sample	Sampling Campaign
I	Caligus, Plankton, Fouling, Bivalves from culture centres	August – October 2009
II	Caligus, Plankton, Fouling, Bivalves from culture centres	
III	Caligus, Plankton, Fouling, Bivalves from culture centres	
I	Caligus, Plankton, Fouling, Bivalves from culture centres	May – June 2010
III	Caligus, Plankton, Fouling,	
IV	Fouling	

Samples of Caligus from parasitic fish were collected from each selected salmon farm, which included mobile adults, gravid females and juvenile of Caligus located in the abdomen area, pectoral fins and caudal fin. Pools were formed with the organisms, which were placed in microcentrifuge tubes. Likewise, plankton samples were collected from the water column to determine whether the ectoparasites and early stages (copepodite, nauplius I and nauplius II) contained in the plankton played a role in the dissemination or

maintenance of the pathogens in the salmon farming areas. Three captures were done and the resulting sample was divided in two: one for the identification of pathogens and the other to evaluate composition. In order to determine the role of bivalves in the transmission and dissemination of significant diseases, on the one hand samples of molluscs as fouling were collected from floating structures using 25 cm² grids arranged alongside a 2 m transect placed on floats, cables, etc. Furthermore, bivalve samples from culture centres were collected, which were located on a ratio not exceeding 5 km from the salmon farms chosen for the sample. In both cases, collected molluscs were arranged in 15 pools of three specimens each.

Finally, to obtain information regarding the participation of bivalves as bioaccumulators of ISAv or other significant pathogens a laboratory assay was done, which would allow estimating the time these molluscs, specifically *Mytilus chilensis*, needed to eliminate the studied pathogens and, therefore, analyse whether they could be regarded as bioaccumulator of the pathogen in the environment. Thus, a total of 890 mussels were collected from the fouling of two salmon farms positive for ISAv (Magallanes and Aysen). After arrival to the lab, 45 specimens were randomly selected from each farm, which were arranged in 15 pools each and underwent detection and viability analyses (RT-PCR, PCR for *P. salmonis* and cell culture). Regarding this experience, these pools would be simulating infectious conditions of fouling bivalves at the time the salmon farm associated to such fouling undergoes following, i.e. at time 0. All remaining specimens were placed on 8 maintenance tanks with filtered seawater. During the first stage 8 individuals were extracted three times a day; afterwards samples were taken once a day to finalize at mean intervals of 10 days.

Diagnostic Techniques

➤ Nucleic acid extraction

DNA and total RNA were obtained from each sample to identify genetic material of the pathogens under analysis using the specific markers shown in Table 2. Phenol guanidinium thiocyanate (Trizol, Life Technologies) was used for RNA extraction according to the

protocols indicated by the manufacturer. Besides, total DNA was extracted to detect genetic material of the pathogens under study, using lyses buffer (Tris HCl 10mM, NaCl 150mM, EDTA 0.25M, SDS 0.4%, Proteinasa K 10mg/mL) and phenol chloroform extraction (Sambrook *et al.*, 1989).

➤ PCR

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to identify ISAv; to detect *P. salmonis* nested PCR was used. In both cases specific markers (Table 2) and OIE recommended programs were employed.

Table 2 Specific markers for ISAv and *P. salmonis*

Pathogen	Marker	Sequence 5'-3'
ISA	Seg6U	GGA-ATC-TAC-AAG-GTC-TGC-ATT-G
	Seg6L	CTT-CAA-AGG-TGT-CTG-ACA-CGT-A
SRS	EubA	AAG-GAG-GTG-ATC-CAN-CCR-CA
	EubB	AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG
	PS2S	CTA-GGA-GAT-GAG-CCC-GCG-TTG
	PS2AS	GCT-ACA-CCT-GAA-ATT-CCA-CTT

RESULTS

➤ Detection results for ISAv

• Plankton:

A total of 51 and 10 plankton samples were analysed during the first and second sampling periods, respectively.

Despite the number of analysed plankton samples during the first sampling period (48), no positive samples for ISAv were detected; the same situation was observed during the second period, where a smaller number of samples (8) was collected (no plankton samples were collected from Magallanes, as the ectoparasite does not grow in that area).

These samples were collected specifically to relate the positive samples to ISAv with the presence of early stages of *Caligus* as plausible vectors of the virus in the environment. The results show an absence of positive samples, which along with the absence of early stages of *Caligus*, do not permit assessing the real significance of this factor in the virus transmission (Table 3).

- **Caligus:**

In order to determine the presence of ISAv in *C. rogercresseyi* in the juvenile and adult stages, a total of 189 pools obtained from fish from Zones I, II and III were analysed. The collected specimens from Zone I did not show presence of ISAv in any of the two sampling campaigns. However, in Zone II ISAV was detected in the samples obtained from two centres from Chiloé Island during the first sampling period (Table 3).

- **Bivalves from fouling:**

The assessment of ISAv from the analysis of fouling samples obtained from floating structures at the culture centres showed a relatively low presence of the virus in the sampled specimens. ISAv was not recorded during the first sampling period. However, during the second campaign the virus was found in a prevalence of 11.7%, specifically in Zone III (Table 3).

The Table 3 shows the prevalence of ISAv in plankton, in *Caligus rogercresseyi* collected from parasitic fish from the selected farms and bivalves from fouling and culture centres of mussels (*Mytilus chilensis*) distributed through the samples zones.

Table 3 Prevalence of ISAv in plankton, *Caligus rogercresseyi* and *Mytilus chilensis*, according to sampled zone and type of sample.

	Plankton		Caligus		Bivalves	
	Sampling 1	Sampling 2	Sampling 1	Sampling 2	Sampling 1	Sampling 2
Zone I	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Zone II	0,0%	—	28,3%	NR	0,0%	—
Zone III	0,0%	0,0%	0,0%	—	0,0%	11,7%
Zone IV	NR	NR	NR	NR		0,0%

* Prevalence measured as the number of positive pools/total of analysed pools

NR: not recorded, no Caligus

➤ **Detection results for *Piscirickettsia salmonis* (SRS)**

• **Plankton:**

Presence of *Piscirickettsia salmonis* in plankton samples resulted to be irregular. During the first sampling period we were unable to detect its presence in the studied zones. However, it was detected in 45% of the centres (4/9) during the second sampling period (Table 4). Unlike plankton composition, it was observed the positive samples for *Piscirickettsia salmonis* did not show the early stages of Caligus. It is then suggested the pathogen would be another species of the plankton or it is found freely in water surrounding those cages with infected fish.

• **Caligus**

Results show the bacterium is detected in Caligus collected from fish from all studied zones (2 centres from sampling 1 and 4 centres from sampling 2, i.e. Zone II during the first campaign and Zones I and III during the second), with a prevalence of 6.7% to 79%, respectively (Table 4). If the detailed information per centre is considered, it may be observed a variable presence of the bacterium by centre, as some centres presented parasites without the pathogen and two centres showed a significant quantity of positive parasites to SRS.

• **Bivalve molluscs**

During the second campaign a constant presence of *P. salmonis* was observed in bivalves collected both from fouling and bivalves culture centres. Despite during the first sampling period the pathogen was not detected on bivalves, during the second campaign high prevalence was observed (28-73%) (Table 4) in all zones, thus showing the bacterium is observed in bivalves from almost all culture centres (91.6%).

Table 4 Prevalence of *P. salmonis* in plankton, *Caligus rogercresseyi* and *Mytilus chilensis* from fouling and bivalves culture centres, according to sampled zone and type of sample.

	Plankton		Caligus		Bivalves	
	Sampling 1	Sampling 2	Sampling 1	Sampling 1	Sampling 2	Sampling 1
Zone I	0,0%	60%	0,0%	34,6%	0,0%	72,4%
Zone II	0,0%	NR	28,3%	NR	0,0%	NR
Zone III	0,0%	50% (1/2)	0,0%	20% (2/10)	0,0%	28,3%
Zone IV	—	No plankton	—	—	—	40,0% (6/15)

NR: not recorded

➤ Laboratory Assay

The permanence of the pathogen in the bivalve as detectable varies according to the pathogen. Regarding ISAv, the pathogen rapidly becomes undetectable to RT-PCR. It was detected in 2 of 24 samples at day 1; after 24 hr and up to day 5 it became undetectable (Table 5). *P. salmonis*, however, showed a different behaviour as it remained detectable in the bivalve during a long period of time. After two months the bacteria was still detectable (Figure 1).

Table 5 Prevalence of *P. salmonis* and ISA virus in *Mytilus chilensis* from fouling in Laboratory Assay, zone III and IV.

Days	Prevalence			
	ZONE III		ZONE IV	
	<i>P. salmonis</i>	ISA virus	<i>P. salmonis</i>	ISA virus
0	60,00%	0,00%	40,00%	0,00%
1	33,33%	0,00%	0,00%	16,67%
2	83,33%	0,00%	91,67%	0,00%
3	66,67%	0,00%	45,45%	0,00%
4	41,67%	0,00%	25,00%	0,00%
5	66,67%	0,00%	44,44%	0,00%

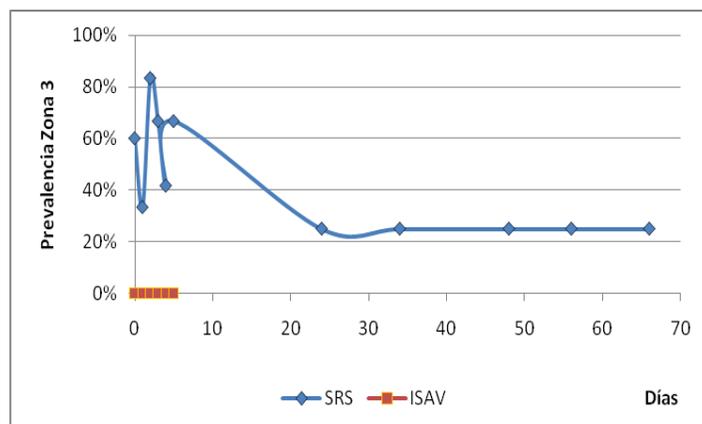


Figure 1 ISA virus and *P.salmonis* prevalences in *Mytilus chilensis* from Zone III fouling.

DISCUSSION

Aquaculture constantly faces emerging or re-emerging diseases that consequently cause significant losses to the industry. A better control of these threats requires an increase of knowledge of diseases to such extent that eradication or reduction of these losses reaches acceptable levels.

In Chilean aquaculture diseases have increased proportional to production, doubling their presence between 1995 and 2008 (Bravo *et al.*, 2008, ATARED A.G.). Such increase results inevitable due to the dependence of the local industry on foreign eggs, which increases the risk of introduction of exotic diseases during importation (FIP 2001-08).

The current control strategy of the productive sector in relation to diseases significant to salmon farming (ISA, SRS and Caligus) is limited to the use of drugs and immune-stimulants and the establishment of management measures to avoid dissemination. Therefore, a lack of further precise measures is observed, so it seems necessary to find the factors determining the occurrence, frequency and distribution of diseases in the populations. Measures to avoid the dissemination of ISAV at present established by the sanitary authority include quarantine for suspected centres, slaughtering of cages in outbreaks, periods of repose, restriction for fish movements, disinfection of all elements entering a farm, among others. On the other hand, measures for SRS involve therapeutic treatment of

the disease through antibiotics and prevention using vaccines or immune-stimulants, which have been questioned from the public health point of view due to the development of resistance of simply due to low effectiveness.

A greater knowledge of the epidemiology of the pathogens will allow generating necessary and precise information to develop an effective contingency plan to reduce the effects caused by the impact of such pathogens. In order to contribute to the knowledge of the epidemiology in the productive zone, two elements have been analysed, which may be related to the transmission of the pathogens, i.e. molluscs from fouling, the ectoparasite *Caligus* and molluscs from culture centres located near the salmon farms.

Analyses carried out to the species associations that generally surround a salmon farm (plankton, fouling and ectoparasites) have provided some responses to doubts regarding the probable role these populations play in the transmission of habitual and significant pathogens for salmon culture, such as SRS or ISAv.

It has been suggested parasitic copepods from the *Caligus* species may be involved in the transmission of high risk diseases in salmonids. *Caligus* represents a major sanitary problem in salmon farming around the world, causing high losses to the industry per year (Boxshall & Bravo, 2000, González & Carvajal, 2003, Johnson *et al*, 2004, Bravo, *et al*, 2009).

Some works have shown the plausible relation of *Caligus* with the transmission of ISAv in Norway (Rolland & Nylund, 1998, Nylund *et al*, 1994); however, there is no sufficient evidence to establish these parasitic copepods act as vectors of fish diseases. Notwithstanding, the control of sealice has been adopted as a preventive measure to control ISAv in Canada and Scotland (Johnson *et al* 2004). In Chile, however, there is still a lack of evidence, document or paper, establishing the role of *Caligus* in the transmission of high risk diseases.

On the other hand, transmission of ISAv from infected to healthy salmon through water column has been widely accepted (Jarp & Karlsen, 1997). In order to establish the possible role of plankton as a disseminating factor of salmon pathogens, particularly associated to immature forms of *Caligus*, the composition of plankton was analysed in this study. As it was expected, samples showed a significant content of copepods, where

planktonic stages of the parasite was sought (nauplius I, II and copepodites), as they may be participating in the connection between an infected and a healthy farm. As previously mentioned, no early stage of *Caligus* was detected during this study.

The role of *Caligus* as reservoir of the pathogens is limited given the low prevalence detected in those areas simultaneously affected by the parasite and the agents approached during this study. The latter suggests the role of *Caligus* implies a triggering factor for a disease, resulting from the reduction of defences caused by the Caligidosis rather than a reservoir of these pathogens (Rozas & Asencio, 2007, Willis *et al* 2005)

Another constant element in farms involves fouling, which is understood as incrustations of fauna and flora in floating structures and nets. Such biological load in cultures, besides causing an obstruction of nets and a decrease of oxygen availability for fish, may also have a relation in the permanence of some pathogens in time, a role which is mainly attributed to the filtering molluscs from the fouling.

ISAv

The impact of ISAv in salmon farming in Chile has been dramatic, and it has been estimated during 2009 the fall of Atlantic salmon production reached 48% coupled to unemployment estimated in 25 thousand, which will only recover in 2011 (Donoso 2010).

Since the occurrence of the Infectious Anemia in summer 2007, a probable relation between the infectious agent and the presence of ectoparasites in farmed fish has been suggested, specifically for parasites such as *Caligus*. As in other countries, in Chile the disease was reported immediately after an intense disease caused by sealice (*Caligus*), which may act as a predisposing factor for disease outbreaks as IPN, BKD, SRS (Johnson *et al* 2004), a fact that suggests it may behave equally for ISAv.

There is experimental evidence showing the European sealice may transmit the virus to salmon. Considering the indigenous parasite belongs to another species (*Caligus rogercreseyii*), it is probable it may have a different behaviour. There are doubts whether *Caligus* is indeed a vector or reservoir or if it only acts indirectly reducing the natural immunological protection of fish due to the stress caused by the disease.

The results of this study show there is a different prevalence between the first and the second sampling campaign (11.3% and 0%, respectively), a fact that may be confirming *Caligus* is not involved in the transmission of this viral agent, but acts as a stressing element predisposing fish to this or other infectious diseases present in the environment.

From the 189 pools of *Caligus* analysed, 150 were obtained during the first sampling period and 39 correspond to the second campaign, which is the result of a difference in the availability of these organisms in fish during the second sampling. Although sealice are more commonly observed in salmon and trout in Chile (Gonzalez *et al.*, 2000), the behaviour observed between years shows significant differences (Johnson *et al.*, 2004). The latter also considering the Surveillance program for Caligidosis, implemented by Sernapesca in 2007, has reduced the parasite load per fish, from 19 parasites per fish in the X region to 2.4 in July 2010 and from 4.5 parasites per fish in the XI region to 2.8 in July 2010.

SRS

There has been a significant reduction in revenues of the aquaculture industry due to other pathogens, where the most significant is the Salmon Rickettsial Septicemia (SRS). It has been estimated annual mortalities caused by this disease may reach 35-50% in average during the seawater cycle, depending on the productive zone and the cultures species. It has been suggested vectors may be interfering in this process, i.e. organisms not susceptible to the disease but participating in its cycle. Regarding this point of view, bivalves would not be acting as real vectors as the disease occurs with or without them, thus participating only as accumulators of the pathogen keeping it for relatively long periods in the environment.

Laboratory Assay

Experience shows that made no difference in the time studied pathogens can be detected once it has stopped the transfer of the pathogen from diseased fish into the environment and therefore, until the mussel study, which would be comparable a rest period field (Table 5)

According to the results, ISAv may be detectable in the first 24 hr after extraction and becomes undetectable through RT-PCR since the second day of the experience. This rapid disappearance may be explained considering *M. chilensis* may include in its immune system a molecule capable of fragmenting foreign elements that represent a threat to the organism. It is known part of the innate immune system of molluscs are antimicrobial peptides (AMPs), molecules with the capacity to destroy strange elements, such as viruses or bacteria, using different methods as membrane rupture, signalling, defensines, etc. ISAv may be somehow susceptible to these molecules of *M. chilensis*.

The situation of *P. salmonis* is different, it remains in detectable levels even in those samples collected two months after the beginning of the experience (Figure 1). The latter may imply AMPs are not efficient against these bacteria. Considering SRS is a disease that emerged in Chile affecting salmons, exotic species in our environment, it may be suggested that bivalves do not act against the microorganism because they coexisted long before the salmon farming activity in the zone.

The fact the bacteria does not act as a pathogen for the mussel and thus this does not react destroying the bacteria may favour some mutual tolerance, thus allowing long coexistence, giving the mollusc a reservoir characteristic. The latter along with recent discoveries suggesting *P. salmonis* is an intracellular facultative bacterium (Gómez *et al.*, 2009, Mikalsen *et al.*, 2008, Mauel *et al.*, 2008) would then explain its maintenance in the environment and the difficulty in its control.

Considering *M. chilensis* is the main species among the fouling in the salmon farms in the area, its characteristics of avoiding the maintenance of ISAv detectable due probably to a rapid destruction shows it may not act as a reservoir of the pathogen in the environment.

Regarding *P. salmonis* and its long permanence in the mollusc, it is suggested the species does not have the conditions or capacity to eliminate it, thus conforming a pathogen-mollusc tandem in contaminated places, which may be considered as a reservoir of the pathogen in the environment, thus making its eradication almost impossible. Therefore, in order to maintain SRS at acceptable levels, a surveillance and control system should be developed, which must consider mussels as a probable source of the pathogen to

the environment. In this case, the vector condition would not apply in this case, as the bivalve is not part of the pathogen cycle, thus being probably disseminated from sick fish and/or the aquatic environment, even without the presence of the mollusc (Larenas *et al.*, 1998).

Finally, it may be suggested Caligus and bivalves do not participate in the transmission of ISA_v, although molluscs participate in the maintenance of SRS in the environment. Given the reservoir character for SRS and its wide geographical range, it is advisable to implement a better site selection for molluscs in order to establish a salmon farm. The same may be applied for Caligus, due to its role as a promoter of pathogen entrance caused by stress and the reduction of defences.

REFERENCES

- ATARED G.A.2008. Boletín n° 2, Diciembre. Disponible en: <http://www.atared.cl>
- Boxshall, G. A. and S. Bravo. 2000. On the identity of the common *Caligus* (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) from salmonid netpen systems in southern Chile. *Contribution to Zoology* 69: 137-146.
- Bravo, S., V. Pozo and M. T. Silva. 2008. The tolerance of *Caligus rogercresseyi* to salinity reduced in southern Chile. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 28 (5): 198-206.
- Bravo, S., F. Erranz and C. Lagos. 2009. A comparison of sea lice, *Caligus rogercresseyi*, fecundity in four areas in southern Chile. *Journal of Fish Diseases*, 32: 107-113.
- Devold, M., B. Krossoy, V. Aspehaug and A. Nylund. 2000. Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 40: 9-18.
- Donoso W., 2010. Informe Sectorial, Sector Pesca y Salmonicultura. Fitch Ratings Know Your RISK. pp 3.
<http://www.fitchratings.cl/Upload/Sectorial%20Pesca%20y%20Salm.%20Mar%202010.pdf>
- Gómez. F, Henríquez. V, Marshall. S. H, 2009. Additional evidence of the facultative intracellular nature of the fish bacterial pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *Arch Med Vet* 41, 261-267.
- González, L., J. Carvajal and M. George-Nascimento. 2000. Differential infectivity of *Caligus flexispina* (Copepoda, Caligidae) in three farmed salmonids in Chile. *Aquaculture* 183: 13-23.
- González, L. and J. Carvajal. 2003. Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids. *Aquaculture*: 220. 101-117.
- Jarp, J. and E. Karlsen. 1997. Infectious salmon anaemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon *Salmo salar*. *Diseases of aquatic organism, Dis. Aquat. Org.* 28: 79-86.
- Johnson, S. C., J. W. Treasurer, S. Bravo, K. Nagasawa and Z. Kabata. 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological Studies* 43(2): 229-243.
- Larenas, J., Contreras, J. & P. Smith. 1998. Estado actual de la Piscirickettsiosis en salmones. *Revista Aquatic* 5 p 1-20.

- Mauel M. J, C Ware, P. A Smith. 2008. Culture of *Piscirickettsia salmonis* on enriched blood agar. J Vet Diagn Invest 20, 213-214.
- Mikalsen, J., Skjaervik O., Wiik-Nielsen J., Wasmuth M. A. and D. J. Colquhoun. 2008. Agar culture of *Piscirickettsia salmonis*, a serious pathogen of farmed salmonid and marine fish. FEMS Microbiol Lett. 2008 Jan;278(1):43-7.
- Nylund, A., T. Hovland D. K. Hodnelan, F. Nilsen & P. Lovik. 1994. Mechanisms for transmission of infectious salmon anaemia (ISA). Dis. Aquat. Org. 19: 95-100.
- Rolland, J. and Nylund, A. 1998. Infectiousness of organic materials originating in ISA infected fish and transmission of the disease via salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). Bull. Eur. Assoc. Pathol. 18(5); 173-180.
- Rozas, M. and G. Asencio. 2007. Assessment of Epidemiologic Situation of Caligiasis in Chile: Toward to Effective Control Strategy. Salmo Ciencia 2.
- Willis, K. J.; Gillibrand, P. A.; Cromey, C. J. & K. D. Black. 2005. Sea lice treatments on salmon farms have no adverse effects on zooplankton communities: a case study Marine Pollution Bulletin 50: 806–816.

Anexo XI: Personal Participante por Actividad

Las actividades desarrolladas durante esta etapa del proyecto, se llevaron a cabo casi en su totalidad según lo descrito en la Carta Gantt de la propuesta técnica de este proyecto y contaron con la participación de todos los profesionales y técnicos del equipo de trabajo. El detalle de cada una de las actividades involucradas en este informe, se detalla a continuación.

Presentación de autores por función desarrollada

Nombre	Cargo	Actividades
Mariel Campalans B.	Jefa de Proyecto	Coordinación general, confección bases de datos, diseños de muestreos, determinación técnicas de diagnóstico, identificación patógenos, diseño programa vigilancia, análisis resultados, organización y realización Taller, preparación informes y manuscrito en inglés.
Laura González P.	Investigadora	Revisión normativa, puesta en marcha técnicas muestreo y selección métodos de cuantificación patógenos, diseño de muestreos y programa vigilancia, análisis resultados, confección informes.
Jacqueline Campalans B.	Investigadora	Análisis información recopilada, selección y aplicación técnicas de diagnóstico, recuento de patógenos, análisis resultados, organización y realización Taller, preparación informes.
Inés Guerrero S.	Investigadora	Análisis información recopilada, confección bases de datos, Diseño de muestreos, organización y realización muestreos análisis estadístico resultados, preparación informes.
Paola Riquelme P.	Investigadora	Recopilación información, puesta en marcha técnicas diagnóstico, diseño muestreos, análisis resultados, organización y preparación Taller, preparación informes.
Enrique Rocha P.	Investigador	Definición parámetros ambientales, obtención mapas satelitales, toma de muestras parámetros oceanográficos, análisis información ambiental y satelital, participación Taller y preparación informes.
Patricia Rojas Z.	Investigadora	Recopilación de información, determinación de parámetros ambientales, aplicación de técnicas de diagnóstico, análisis resultados, diseño programa de vigilancia, organización y participación Taller, preparación informes.
Edith Tapia B.	Técnico	Recopilación información, puesta en marcha técnicas de

María Isabel Medina R.	Técnico	diagnóstico, preparación muestreos y procesamiento muestras, organización y realización Taller, confección Informes. Recopilación y organización información de Cáligus y ambiental, diseño y realización muestreos, proceso muestras, organización y realización Taller, preparación manuscrito en Inglés, confección informes.
Patricia Aceituno A.	Muestreador	Recopilación de información, obtención de muestras de Cáligus y moluscos, organización y realización Taller, Preparación informes.
Erick Farfán	Buzo muestreador	Recopilación de información, obtención de muestras de Cáligus y moluscos, organización y realización Taller, Preparación informes.

Las horas empleadas para el desarrollo de las actividades se muestran en las siguientes tablas, las que concuerdan con lo establecido en la Propuesta Técnica de este estudio.

Personal	Cargo	Institución	Total Horas
Mariel Campalans B.	Jefa de Proyecto	PUCV	370
Laura González P.	Investigadora	PUCV	300
Inés Guerrero S.	Investigadora	PUCV	375
Jacqueline Campalans B.	Investigadora	PUCV	390
Patricia Rojas Z.	Investigadora	PUCV	375
Paola Riquelme P.	Investigadora	PUCV	370
Enrique Rocha P.	Investigador	PUCV	300
Edith Tapia B.	Técnico	PUCV	500
María Isabel Medina R.	Técnico	PUCV	500
Patricia Aceituno A.	Muestreadora	PUCV	400
Erick Farfan	Buzo	PUCV	400

Objetivo 1: Identificar y cuantificar la presencia de patógenos relevantes

Actividades/Personal	Mariel Campalans	Laura Gonzalez	Jacqueline Campalans	Inés Guerrero	Paola Riquelme	Enrique Rocha	Patricia Rojas	Edith Tapia	María Isabel Medina	Patricia Acetuno	Erick Farfan
Revisión bibliográfica	0	0	4	0	10	0	14	60	60	40	40
Revisión de Normativa	7	10	8	0	20	0	14	60	60	40	40
Confección de base de datos de patógenos relevantes	5	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0
Identificación de Zonas infectadas, por patógeno identificado como relevante	8	0	8	0	0	0	14	0	10	0	0
Confección Listado Actualizado de Concesiones	10	0	0	0	20	0	0	0	30	0	0
Identificación de moluscos bivalvos en zonas infectadas	5	0	0	5	0	0	15	0	5	0	0
Determinación de los Puntos de Muestreo moluscos en áreas infectadas	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
Determinación de la superficie muestreable de moluscos por batimetría	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
Determinación del número de unidades de muestreo de moluscos	2	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
Determinación de los Puntos de Muestreo en áreas infectadas para Cáligus	3	0	0	15	0	0	7	0	0	0	0
Determinación de la unidad de muestreo para Cáligus	0	0	0	15	0	0	2	0	0	0	0
Determinación de la superficie muestreable por batimetría para Cáligus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Selección de los métodos de diagnóstico en Moluscos y <i>Caligus</i> spp	5	15	10	0	0	0	0	0	0	0	0
Selección de los métodos de cuantificación de patógenos en Moluscos y <i>Caligus</i> spp	5	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0
Definición de variables e indicadores oceanográficos	0	0	0	15	0	30	1	0	5	0	0
Puesta en marcha de técnicas de diagnóstico a utilizar	12	14	20	0	14	0	14	30	0	0	5
Selección de centros a muestrear	5	5	0	0	10	0	0	0	5	5	0
Sensibilización de productores	7	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0
Primera y Segunda Campaña Muestreo Moluscos y Cáligus	12	28	0	0		0	0	28	20	120	120
Aplicación Tecnicas Diagnóstico Primera y Segunda Campaña	16	0	60	0	28	0	20	40	20	0	0
Recuento Patógenos Primera y Segunda Campaña	0	0	30	0	0	0	0	10	10	0	0
Análisis Información Primera y Segunda Campaña	14	0	10	30	14	0	20	0	0	0	0
Obtención de Mapas satelitales	0	0	0	0	0	55	0	0	55	0	0
Muestreo In situ Primera y Segunda Campaña	0	0	0	0	0	120	0	0	40	0	0
Análisis resultados Primera y segunda Campaña	14	10	0	40	0	20	10	0	0	0	0
Total Horas	135	92	165	135	126	225	131	228	335	205	205

Objetivo 2: Relacionar brotes con presencia de copépodos y bivalvos

Actividades/Personal	Mariel Campalans	Laura Gonzalez	Jacqueline Campalans	Inés Guerrero	Paola Riquelme	Enrique Rocha	Patricia Rojas	Edith Tapia	María Isabel Medina	Patricia Aceituno	Erick Farfan
Revisión Bibliográfica acerca de brotes y presencia de Cáligus	12	20	15	0	0	0	8	40	40	0	0
Obtención de información ambiental en períodos de brotes	12	20	15	0	14	15	8	40	40	0	0
Construcción de Base de Datos	2	5	0	15	0	0	0	0	5	0	0
Análisis de correlación entre variables	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
Revisión y Análisis de Indicador(es) epidemiológico(s)	0	10	0	3	10	0	7	0	0	0	0
Revisión y Análisis de la relación entre indicador(es) epidemiológico(s) y variables ambientales	7	10	0	3	10		7	0	0	0	0
TOTAL HORAS	33	65	30	41	34	15	30	80	85	0	0

Objetivo 3 Evaluar participación de moluscos como bioacumuladores

Actividades/Personal	Mariel Campalans	Laura Gonzalez	Jacqueline Campalans	Inés Guerrero	Paola Riquelme	Enrique Rocha	Patricia Rojas	Edith Tapia	María Isabel Medina	Patricia Aceituno	Erick Farfan
Identificación de Zonas con brotes históricos	12	10	10	0	10	0	10	10	10	0	0
Diseño de la Experiencia	7	5	5	15	5	0	5	0	0	0	0
Clasificación de Centros	5	0	0	10	10	0	0	0	0	0	0
Obtención de muestras de moluscos bivalvos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	30
Aplicación de técnicas de Diagnóstico	2	10	10	0	5	0	2	10	0	0	0
Comparación de las prevalencias	7	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0
Comparación de cargas de patógenos, según especie de molusco	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
Comparación de carga de patógenos, según densidad de moluscos	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL HORAS	33	25	25	80	30	0	17	20	10	30	30

Objetivo 4: Formular sistema monitoreo preventivo de alerta

Actividades/Personal	Mariel Campalans	Laura Gonzalez	Jacqueline Campalans	Inés Guerrero	Paola Riquelme	Enrique Rocha	Patricia Rojas	Edith Tapia	María Isabel Medina	Patricia Aceituno	Erick Farfan
Diseño de Programa de monitoreo preventivo	12	10	12	0	10	0	20	0	0	0	0
Elaboración de Propuesta de Programa de Vigilancia	7	5	7	0	5	0	10	0	0	0	
Organización y realización Taller de Coordinación	20	0	7	0	0	0	7	4	4	8	8
Organización y realización Taller de Difusión	23	18	18	11	18	8	22	28	28	8	8
Preparación y entrega Informe de Avance	25	25	40	40	50	15	40	50	10	50	50
Preparación y entrega Informe Prefinal	28	20	32	28	40	12	40	40	8	40	40
Preparación y entrega Informe Final	50	40	50	40	50	25	50	50	10	50	50
Preparación y entrega Manuscrito en Inglés	4	0	4	0	0	0	8	0	10	9	9
TOTAL HORAS	169	118	170	119	173	60	197	172	70	165	165