

Pisciculturas de agua dulce:

El gran pendiente de la
industria salmonera chilena.

Recomendaciones para políticas públicas



Propuesta preparada por Ruben Avendaño-Herrera^{1,2,3}

¹ Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Facultad de Ciencias de la Vida, Viña del Mar, Chile.

² Centro FONDAP, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile.

³ Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Universidad Andrés Bello, Valparaíso, Chile.

E-mail: reavendano@yahoo.com - ravendano@unab.cl

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID, Chile) a través del proyecto FONDAP N° 15110027 y FONDECYT 1190283.

El presente documento se sustenta parcialmente en el artículo "Proper antibiotics use in the Chilean salmon industry: Policy and technology bottlenecks" (Avendaño-Herrera, 2018), en el cual se informa el conocimiento general y relevante sobre las prácticas operacionales y/o de manejo en el proceso de cultivo intensivo de salmónidos durante la etapa de agua dulce; etapa que en Chile también recibe el nombre de producción en pisciculturas. Es precisamente durante esta fase cuando se observan las principales brechas productivas que condicionan el bienestar animal de los peces, lo que en el futuro podría afectar la producción sustentable de la industria salmoneera nacional.

El actual modelo productivo de salmónes ha provocado una imagen negativa internacional de la salmonicultura chilena, pero lo más preocupante, una percepción no favorable entre las poblaciones y comunidades cercanas a las pisciculturas. Por tanto, con este documento se espera llamar la atención de los tomadores de decisiones y contribuir a la generación de procedimientos formales por parte de la institucionalidad pública para aspectos actualmente carentes de regulación y promover recomendaciones que permitan un desarrollo productivo amigable con el medio ambiente y con el menor impacto negativo posible para las comunidades cercanas.

Antecedentes

Chile es actualmente el segundo país productor de salmón de cultivo en el mundo con una cosecha sobre 950.000 toneladas métricas en 2019. De hecho, la industria del cultivo de salmón es la principal actividad económica en las regiones del sur de Chile, representando el 7% de las exportaciones totales del país (US \$ 75.482 millones), solo superadas por la minería y el 15% de las exportaciones no minerales. La producción de salmónes se distribuye en el cultivo de tres especies: el salmón del Atlántico es la principal especie producida en Chile (73%), seguido del salmón Coho (19%) y trucha arcoíris (7%) (Sernapesca, 2020).

El éxito productivo de la salmonicultura chilena se sustenta en la existencia de centros de cultivos que demandan el uso de sistemas de agua dulce y marinos costeros prístinos (**Figura 1**), reconociéndose en un ciclo de cultivo continuo diferentes etapas de operación como: i) la producción de ovas, alevines y juveniles, la cual ocurre en instalaciones continentales denominadas pisciculturas; ii) el proceso de esmoltificación (aclimatación fisiológica de los peces al sistema marino) en pisciculturas terrestres y jaulas flotantes instaladas en ríos, lagos y estuarios; y iii) la fase de engorda que ocurre en jaulas flotantes ubicadas en los fiordos y canales patagónicos (41.5°S–54°S).

En condiciones naturales, salmón del Atlántico y salmón Coho tienen un ciclo de vida anádromo, donde poblaciones marinas de salmónes deben remontar el curso de los ríos para reproducirse o desovar (**Figura**

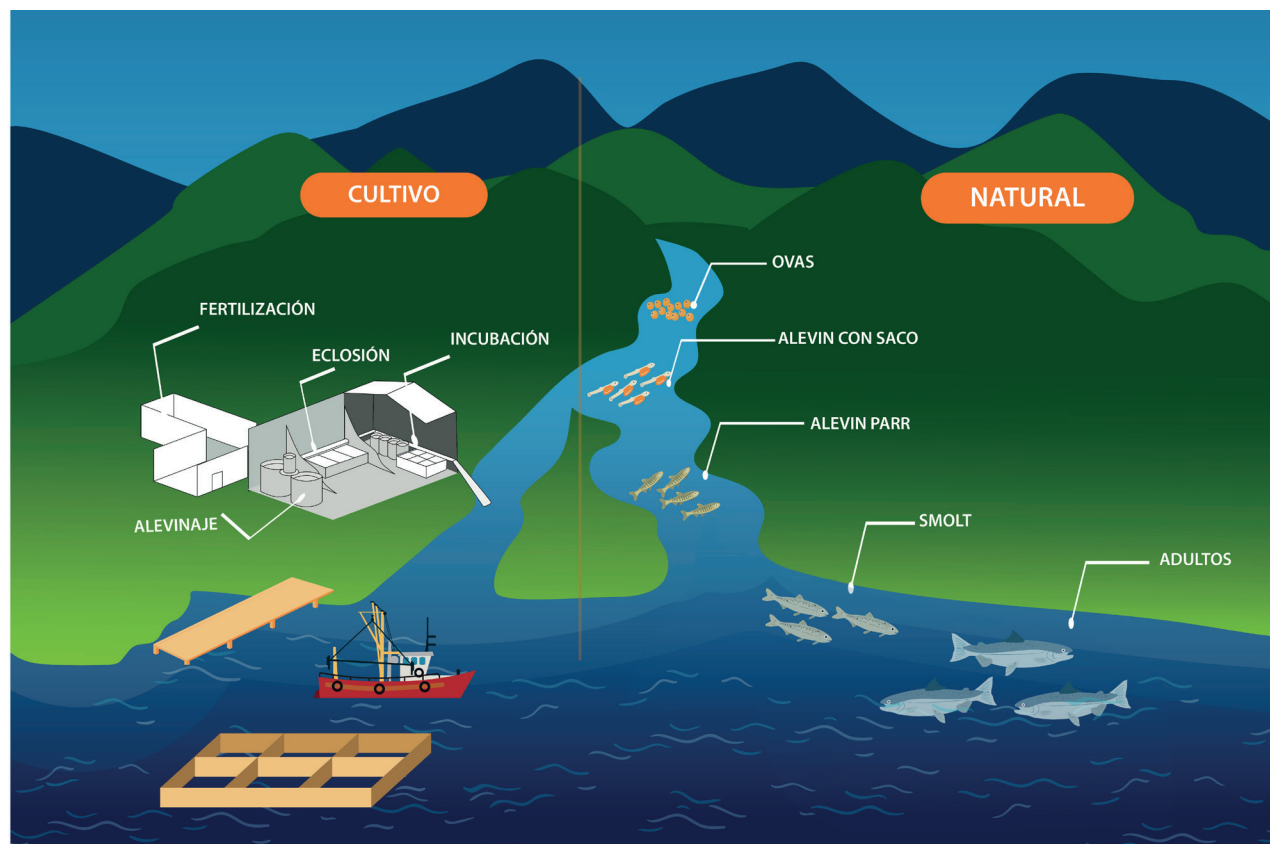
1). Por tanto, se debe activar una cascada hormonal que les permite a los peces cambiar de un ambiente marino a fuentes de agua dulce, constituyendo una fase de alto estrés. Similar situación ocurre en el proceso inverso, cuando los peces pasan de agua dulce a mar, fase conocida en el cultivo como esmoltificación, en la que ocurren procesos fisiológicos que le permiten a los peces adaptarse a la salinidad del mar. En la naturaleza, ambos procesos son lentos (hasta 2 años) y parte del ciclo de vida de estas especies. Sin embargo, en condiciones de cautiverio, los peces son sometidos a condiciones intensivas que pueden ser estresantes, alterando el sistema endocrino, sistema inmune y el desarrollo y sobrevivencia de los mismos.

De hecho, en las pisciculturas, los alevines eclosionan y se mantienen bajo parámetros de cultivo que tienen como único objetivo el preparar a los peces para la fase de agua de mar y realizando todos los esfuerzos para que ocurra en el menor tiempo posible, dependiendo de la programación de la empresa. Esta situación ha llevado involuntariamente a que, por desconocimiento, los peces en cultivo se expongan a un pobre estado de cultivo, específicamente debido a que los cultivadores han transformado el proceso natural a la conveniencia productiva y los someten a condiciones no óptimas o poco naturales. A modo de ejemplo, la etapa de agua dulce ocurre más rápidamente que en la naturaleza, incluso puede tardar menos de doce meses con un suministro alto de alimento y sometidos a altas temperaturas. Sin embargo,

el salmón en ambientes naturales puede pasar de 2 a 5 años en un río, dependiendo de la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, antes de comenzar su vida en el mar. Cabe destacar que el salmón crece de acuerdo con las unidades térmicas acumuladas o grados día, esto significa que el manejo de la temperatura del agua entrega al productor la libertad para controlar el tiempo de cada una de las etapas de cultivo (i.e. incubación, eclosión, etc.) y sincronizar actividades y operaciones como la primera alimentación de distintos lotes de peces provenientes de diferentes desoves. Sin embargo, existen aspectos que no son considerados en la operación del cultivo, ya que, aunque los salmónes presentan una amplia plasticidad y sobreviven entre 0 y 16°C, temperaturas sobre 10°C provocan un incremento de la mortalidad y en ovas la ocurrencia de deformidades. Recientemente, Frisk y col. (2020) han demostrado que la producción rápida en agua dulce tiene consecuencias sobre cómo se desarrolla el corazón del salmón del Atlántico, el cual se vuelve más redondo y menos simétrico. Sumado a estas alteraciones fisiológicas, también los investigadores observaron que estos cambios están asociados con la mortalidad causada por el Síndrome de Miocardiopatía (CMS), que es iniciado por un virus y, en el peor de los casos, puede causar que el corazón se rompa, especialmente si el pez está estresado. Precisamente, esta enfermedad es considerada como emergente en las pisciculturas chilenas.

Otro aspecto de relevancia es que la mayoría de las pisciculturas se

Figura 1 • Ciclo de cultivo intensivo y vida natural de salmón en ambientes dulce acuícola.



encuentran ubicadas en cuencas hidrográficas de laderas pre-andinas entre las regiones administrativas del Biobío y Los Lagos, generalmente con acceso a fuentes de agua dulce con excelentes características y calidades hidrológicas (Atland y Bjerknes, 2009). De hecho, la Región de la Araucanía es conocida como la "cuna" de la salmonicultura chilena, ya que es donde se ubican los centros de reproductores y donde ocurren los desoves y la producción de las ovas. Sin embargo, los peces no se mantienen en esa área geográfica, sino que las ovas en la mayoría de los casos son vendidas y transportadas a otras pisciculturas del norte o sur del país (**Figura 2**). Así, después del crecimiento inicial (> 5 gramos en promedio), los peces

se distribuyen a diferentes regiones de Chile. Desafortunadamente, el conocimiento sobre la situación de las pisciculturas en Chile es escaso y la información es obtenida mayoritariamente por solicitud oficial a las entidades regulatorias como el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca). En el estudio de Rosenfeld y Manley (2010), solicitado por Sernapesca para diagnosticar la bioseguridad en los centros acuícolas de agua dulce, se reconocen la existencia de 169 pisciculturas en Chile, operando el 65,1% (n=110) de los centros con un sistema de flujo abierto de agua, mientras que el 8,3% (n=14) con un sistema de recirculación de agua y el 7,7% (n=13) posee un sistema mixto; donde el centro está dividido

y el sistema de suministro de agua opera por separado. Además, 58 pisciculturas (34,3%) en 2010 se abastecían directamente de ríos y 19 pisciculturas compartían esta fuente de agua con pozo, vertiente, estuario y/o lago (Rosenfeld y Manley, 2010). Usando el Sistema de Información y Atención Ciudadana (SIAC) de Ley de Transparencia 20.285 se obtuvo como información que la inscripción de pisciculturas entre los años 2018 y 2019 en el Registro Nacional de Acuicultura se incrementó a 408, distribuyéndose desde la Región de Tarapacá a la Región de Magallanes y la Antártica Chilena. No obstante, solo 142 de las pisciculturas fueron productivas en 2018, cultivando un total de 1.228.698.017 salmones equivalentes a 36.587.553 Kg,

¹ Solicitud SIAC N°460192819

mientras que en 2019 la producción fue realizada por 137 pisciculturas con un total de 713.236.269 peces, lo que corresponde a 21.660.862 Kg¹.

Ante el escenario de déficit hídrico en las regiones piscicultoras cercano al 45% en promedio desde Concepción a Magallanes, la producción de alevines y "smolt" usando sistemas de recirculación se ha incrementado en los últimos años, contando con 42 centros en 2017 y se espera que prontamente se incrementen a 46, ya que se encuentran en plena construcción 4 nuevas pisciculturas de recirculación (**Figura 3**). Es importante señalar que 6 de las 42 pisciculturas operan con un sistema de reúso, es decir, cuentan con sistemas de tratamiento de agua por estanques que le permite reconvertir una piscicultura de flujo abierto a sistemas de recirculación

individual por estanque.

Otro aspecto para considerar es que el agua puede ser compartida por distintas pisciculturas, lo que comúnmente se denomina segundo o tercer uso del afluente principal. Por ejemplo, normativamente la Ley General de Pesca y Acuicultura establece que las pisciculturas pueden tomar su agua del mismo río, estando separadas una de otras por una distancia mínima de 3 kilómetros, la que se medirá siguiendo el eje principal del río, desde los lugares de descarga de las aguas efluentes de un establecimiento y hasta las áreas de captación del establecimiento más cercano ubicado aguas abajo. Datos de 2010, identifican que solo el 27,8% de las pisciculturas comparten el origen del agua de río (Rosenfeld y Manley, 2010). Sin embargo, el agua empleada en el cultivo de los peces debe ser

eliminada a algún lugar. En este contexto, el 60,4% de los centros en 2010 eliminaba el agua directamente a un río y sin pasar por un proceso de desinfección (Rosenfeld y Manley, 2010). Hoy, la situación no ha cambiado, probablemente debido a la falta de incentivos, normativa y legislación que se preocupe y exija el tratamiento del agua durante la fase de agua dulce. Por tanto, la calidad fisicoquímica del agua empleada en pisciculturas de flujo continuo y retornada al río es distinta a la original, conteniendo no solo los desechos producidos por los peces, sino también otros compuestos incorporados por la propia práctica productiva (e.g. antibióticos, altas concentraciones de sal usados comúnmente en los tratamientos de enfermedades, formalina, entre otros).

Normativa vigente para pisciculturas

No es un despropósito indicar que durante la etapa de cría de salmón en piscicultura la regulación es mínima, lo que tiene un marcado contraste con lo que ocurre en la etapa de engorda en mar. Esta situación debería generar un llamado de atención, ya que la etapa de agua dulce es previa a la transferencia de los peces al agua de mar y la calidad del "smolt" podría estar determinada por aspectos operacionales que desencadenen una merma biológica de estos peces. Además, es durante este periodo en pisciculturas en que los peces sufren una amplia gama de infecciones bacterianas (e.g. flavobacteriosis, renibacteriosis,

yersiniosis, aeromonadiosis, etc.), virales (e.g. necrosis pancreática infecciosa, inflamación del músculo esquelético y músculo cardíaco) y fúngicas (e.g. saprolegnia) debido a que, durante el estado de huevo a alevines, el sistema inmune de los peces se encuentra inmaduro y más susceptible a estos patógenos. Sumado a ello, el control de estas infecciones bacterianas y fúngicas se realiza no solo con tratamientos de antibióticos o altas concentraciones de sal, sino que en ocasiones con sustancias peligrosas para los operarios como ocurre con la formalina o formaldehído en su formato puro o mezclados con otras sales, los cuales pueden

causar en el operario la irritación a la piel, los ojos, la nariz y la garganta e incluso la exposición a altos niveles o vapores de formaldehído puede producir ciertos tipos de cáncer. Aunque actualmente se encuentran registrados en el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) tres productos para la prevención y tratamiento de parásitos externos de los peces, así como para hongos causantes de saprolegniosis en peces y ovas, su modo de aplicación es mediante contacto directo del producto usando inmersión de ovas o peces con flujo continuo. En la mayoría de los casos el agua es eliminada directamente sin tratamiento, pese a que las instrucciones de estos

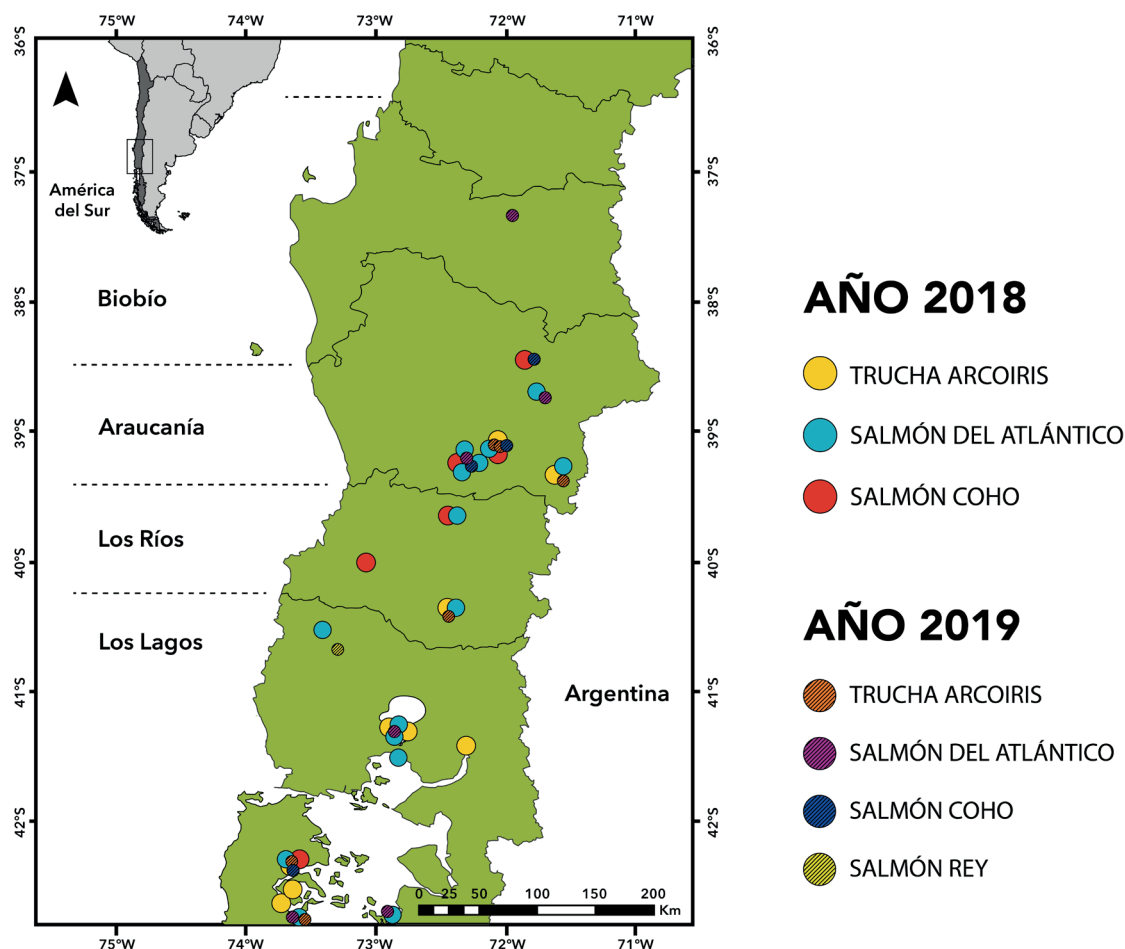
productos denotan que para evitar daños al medio ambiente no se deben verter o descargar a cursos de agua natural y se desconocen los efectos en el suelo, así como no se ha constatado su bioacumulación. Es evidente que los registros aprobados por el SAG requieren abordar no solo las características del producto sino conocer y profundizar el lugar de aplicación de estos productos. Incluso, el uso de altos volúmenes de cloruro de sodio en formato de sal de mar para la prevención y control de infecciones bacterianas como la flavobacteriosis trae como consecuencia un impacto en la abundancia de micro- y macro-organismos presentes en los fondos y agua del río. A modo de ejemplo, Kamjunke y col. (2017) realizaron una caracterización detallada a nivel molecular de la calidad de la materia orgánica disuelta y degradación bacteriana en cuatro ríos que reciben los aportes de agua de pisciculturas chilenas. Los cambios observados en la composición de la materia orgánica disuelta llevaron a un aumento de bacterias y una disminución de algas bentónicas aguas abajo de las pisciculturas cambiando los ecosistemas de ríos a un estado más heterotrófico (Kamjunke y col., 2017). Figueroa y col. (2017) estudiaron el impacto ambiental de seis pisciculturas ubicadas en ríos del centro-sur de Chile (Región del Biobío), descubriendo que la actividad acuícola modificaba la conductividad, la salinidad y el total de sólidos disueltos, incluso 100 metros aguas abajo del punto de descarga. También encontraron cambios en la composición de las especies bentónicas ribereñas, con un aumento en las especies capaces

de tolerar importantes aportes de materia orgánica y nutrientes. Los análisis del carbono orgánico total y la degradación de la materia orgánica sugirieron que el efluente de las pisciculturas de peces dañó el ecosistema del río a cierta distancia por debajo de la piscicultura (Figueroa y col., 2017).

Concretamente, en la fase de agua dulce (i.e. la producción de huevos, alevines y juveniles) no se encuentran reguladas las densidades de cultivo de los peces, lo que si ocurre en mar para cada una de las Agrupaciones de Concesiones de Salmónidos (ACS) o "Barrios" reconocidos por la autoridad. De hecho, mediante Res. Ex. N° 1449 de 2009, el Sernapesca estableció una fórmula de cálculo para determinar el número de peces máximo a ingresar al inicio de la etapa de engorda del proceso productivo, la cual depende si se cultivará trucha arcoíris, salmón del Atlántico o salmón Coho. Estas densidades varían entre 10 a 17 Kg/m³. Es más, en ocasiones la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura ha establecido densidades específicas para algunos sectores como ocurrió con la ACS 12B en la Región de Los Lagos (R. Ex. N° 2775, 2 agosto 2018). Así, la densidad de salmón del Atlántico, trucha arcoíris y salmón Coho se estableció normativamente en 8, 6 y 6 Kg/m³, respectivamente. Contradictoriamente, la densidad de cultivo en agua dulce está exclusivamente determinada por la decisión de cada empresa salmonera. A modo de ejemplo, AquaChile anota como un hito en su política de bienestar animal que las densidades de cultivo máximas establecida para el cultivo en agua dulce de 60 Kg/m³, evitando de esta

forma el estrés de los peces (<https://www.salmonexpert.cl/article/aquachile-anota-hito-crea-comit-multidisciplinario-de-bienestar-animal/>). Mas recientemente, el Manual de Buenas Prácticas emanado de la ejecución del Proyecto colaborativo Pincoy recomienda para pisciculturas de flujo abierto una densidad para primera alimentación de 10.000 a 14.000 alevines/m², alevinaje de $\leq 45 \text{ Kg/m}^3$ y $\leq 50 \text{ Kg/m}^3$ para esmoltificación, mientras que en pisciculturas de recirculación se incrementa a $\leq 50 \text{ Kg/m}^3$ y $\leq 60 \text{ Kg/m}^3$ en alevinaje y esmoltificación, respectivamente. Como antecedente, la normativa noruega no presenta límites absolutos de densidad para los sistemas cerrados como estanques de agua dulce. En estos casos, se aplican las disposiciones de la primera frase: la densidad de peces debe ser justificable y adaptarse a la calidad del agua, las necesidades fisiológicas y de comportamiento de los peces, el estado de salud, el modo de operación y la tecnología de alimentación. Por tanto, la normativa noruega no expresa una regulación formal debido a que es difícil dar límites absolutos para las densidades debido al hecho de que diferentes tecnologías necesitan diferentes enfoques; volumen de agua para la toma disponible, flujo continuo frente a tecnologías de recirculación, etc. Al comparar la situación sanitaria en la etapa de agua dulce de Noruega y Chile, resulta imprescindible revisar cómo se está cultivando los peces y especialmente regular aspectos que pueden aportar a la disminución en el uso de antibióticos u otros compuestos para el tratamiento de

Figura 2 • Distribución geográfica de las pisciculturas de reproductores que produjeron ovas de las especies salmón del Atlántico, salmón Coho y/o trucha arcoíris en los años 2018 y 2019.
(Fuente: Sernapesca SIAC 460192819)



las enfermedades de los peces, así como la disminución del porcentaje de mortalidad por ciclo de cultivo.

Cabe destacar que a diferencia de la conducta que tienen los peces en las jaulas de engorda, en donde los peces se distribuyen homogéneamente y nadan libres dentro del sistema de cultivo, en agua dulce las ovas se depositan una sobre otra y se concentran en las incubadoras, por lo que la mala irrigación del agua genera la muerte de las ovas o permite la presencia

de hongos que puede causar la muerte de la totalidad de las ovas contenidas en las incubadoras (Figura 4). Asimismo, los alevines no se distribuyen homogéneamente en las bateas de cultivo, sino que se agrupan comúnmente en los extremos del sistema, lo que trae como consecuencia un incremento en la densidad establecida en la piscicultura. De hecho, esta es la razón por la densidad se expresa en alevines/m².

Recientemente, Valenzuela y col.

(2020) han reportado la comparación de los efectos del hacinamiento en el músculo de ejemplares de trucha arcoíris, evidenciando que las condiciones de estrés provocada por el cultivo a densidades de 30 Kg/m³ promueven la degradación muscular y afectan el bienestar animal de las truchas, mientras que no se evidenciaron alteraciones a 10 Kg/m³. Estos resultados obtenidos por investigadores del INCAR son un primer paso para dilucidar la densidad óptima de cultivos en la etapa de agua dulce y mejorar los

estándares de la acuicultura chilena.

Otro aspecto que considerar tiene relación con las medidas de manejo sanitario. El Sernapesca establece para la fase marina la coordinación de los períodos de descanso para los centros de cultivo integrantes de la ACS a través de las Resoluciones N° 1449 de 2009; N° 2273 de 2009; N° 1897 de 2010; N° 1381 de 2011. Por tanto, en virtud del artículo 58 G del D.S. N° 319, los descansos sanitarios de las AGS serán de tres meses entre periodos de producción coordinados, por lo que los centros de cultivos integrantes de la AGS deberán cesar sus operaciones y retirar la totalidad de ejemplares del centro, quedando prohibido el ingreso y mantención de peces. Durante este periodo se debe realizar el proceso de limpieza y desinfección. Sin embargo, en el caso de las pisciculturas, el artículo 23 Ñ del D.S. N° 319 denota que el descanso deberá ser como plazo mínimo de un mes y los centros que se ubiquen en el mismo río o lago deberán coordinarlo, lo que se determinará por resolución del Sernapesca. Desafortunadamente, en la mayoría de los casos este

periodo de descanso no se cumple, fluctuando en la práctica entre 7 a 15 días. Además, las pisciculturas de flujo abierto que cuenten con diferentes secciones o salas separadas por barreras físicas o circuitos de agua independientes podrán realizar la limpieza y desinfección por sección o sala y no la piscicultura en su totalidad, mientras que en las pisciculturas de recirculación la exigencia de paralización deberá cumplirse cada dos años. Además, solo las pisciculturas que mantengan reproductores deberán contar con un tratamiento de efluentes, excepto las pisciculturas que toman y descargan agua de un mismo curso o cuerpo de agua que nace, corre y muere dentro de la misma heredad.

Una de las regulaciones para la etapa de agua dulce se encuentra en el Decreto Supremo de 2011 que regula la reproducción y el crecimiento de reproductores. Su fundamento es que, dado que las enfermedades pueden transmitirse verticalmente, los reproductores deben mantenerse en un sistema cerrado de agua dulce. Esto significa que los reproductores nunca deben

estar expuestos a la etapa marina y evitar los riesgos de ser portadores de enfermedades como la piscirickettsiosis y anemia infecciosa del salmón y su transmisión a sus descendencias. Sin embargo, esta regulación no ha evitado eliminar o mitigar la transmisión de *Renibacterium salmoninarum*, el agente causal de la renibacteriosis o *Bacterial Kidney Diseases* (BKD), desde los reproductores a las progenies de peces cultivados, lo que queda en evidencia en la alta prevalencia del BKD en los centros de cultivos marinos distribuidos en la Región de Aysén y Magallanes. Cabe destacar que los programas actuales de control de BKD, se basan principalmente en el uso de ensayos de PCR cuantitativa (qPCR), lo que no permite detectar a peces portadores sin signos clínicos, siendo imprescindible combinar el qPCR con pruebas de inmunofluorescencia como el IFAT. Esta situación se complejiza debido a que recientemente algunos productores de líneas genéticas de salmónidos han realizado las gestiones administrativas para cambiar esta regulación y mantener reproductores en centros de agua de mar.

Enfermedades en pisciculturas

En los últimos años, las autoridades chilenas, los salmonicultores y los científicos se han centrado principalmente en solucionar los problemas sanitarios detectados durante la etapa de engorde marino, es decir, la fase posterior a que los peces alcanzan los 100 gramos y son transferidos a jaulas de engorda en mar. Así,

las investigaciones realizadas por diversos grupos de investigación han buscado minimizar y abordar de manera más adecuada los problemas de salud que surgen durante la etapa marina. Por ejemplo, disminuir el uso de antibióticos contra *Piscirickettsia salmonis* y crear un sistema en línea para fórmulas antimicrobianas que

se puedan usar en agua de mar, entre otras iniciativas. De hecho, en los últimos años se financió una ambiciosa iniciativa de investigación denominado "Programa de Gestión Sanitaria de la Acuicultura" que contó con financiamiento público y privado del Fondo de Inversión Estratégica (FIE) del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo

(MM\$ 10.600 = 75%), y la Asociación de la Industria Chilena del Salmón AG (Salmón Chile, MM\$ 3.534 = 25%), el cual fue implementado por Sernapesca.

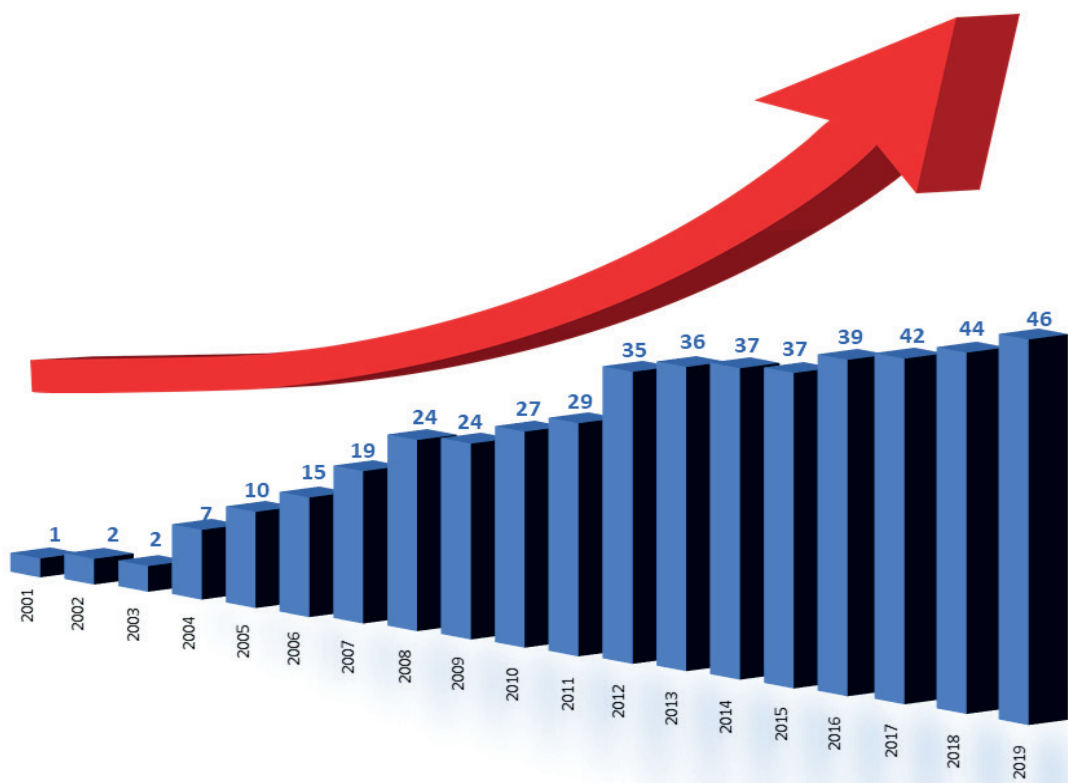
Este excesivo énfasis en la etapa de engorda en mar es positivo, pero sin olvidar y descuidar la etapa de cultivo en agua dulce de los peces, desafortunadamente los esfuerzos en el abordaje de los problemas en las pisciculturas chilena son mínimos. A modo de ejemplo, el monitoreo activo contra los patógenos primarios de ovas, alevines y/o juveniles no existe, contrariamente a lo que ocurre con patógenos que afectan la engorda en mar como *P. salmonis*, el ectoparásito *Caligus rogercresseyi* y el virus de la anemia infecciosa del salmón, tres patógenos que se encuentran bajo un Programa Sanitario Específico de

Vigilancia y Control del Sernapesca. Mirando hacia el pasado, la crisis del virus de la anemia infecciosa del salmón afectó de manera significativa la competitividad del sector salmonicultor y provocó cambios regulatorios relevantes en la fase de agua de mar, lo que se tradujo en programas como los antes señalados. Por lo tanto, surge la pregunta ¿en agua dulce no existen patógenos que puedan afectar a los peces o generar un problema de sustentabilidad de la industria? El informe sanitario de la salmonicultura publicado cada año con los datos reportados por las empresas de cultivo y laboratorios de diagnóstico a través del Sistema de Información de Fiscalización de la Acuicultura (SIFA), y los sistemas de notificación propios de los Programas Sanitarios Generales del Sernapesca identifica a *Flavobacterium psychrophilum* y *R.*

salmoninarum como los principales patógenos de la etapa de agua dulce. Sin embargo, los datos se toman de los casos que llegan a los laboratorios y que no representan la mortalidad ni prevalencia de enfermedad en el país. Por ejemplo, resulta inverosímil pensar que la mortalidad causada por flavobacteriosis en el año 2018 sea de 53.764 peces (**Figura 5**), más considerando que el uso de antibiótico informado por Sernapesca para controlar esta enfermedad en el mismo año según diagnóstico fue levemente superior a 8 toneladas.

En Chile, *F. psychrophilum* se aisló por primera vez de una piscicultura de trucha arcoíris en 1993 (Bustos y col., 1995); posteriormente, este patógeno ha sido detectado en el salmón del Atlántico y el salmón Coho en diferentes regiones del

Figura 3 • Número de pisciculturas de recirculación operativas desde 2001 a 2019.



sur del país. Parece claro que el movimiento de peces, en particular alevines, entre pisciculturas ubicadas en diferentes áreas geográficas ha jugado un papel importante en la propagación de la enfermedad en Chile. *Flavobacterium psychrophilum* es una bacteria Gram-negativa no intracelular que produce una infección septicémica aguda en los peces, causando mortalidades entre 5 a 70% de los alevines de una misma población. De hecho, se denota comúnmente que estas pérdidas ocupan el segundo lugar después de las ocasionadas por *P. salmonis* en la industria chilena. No obstante, no es así, ya que con frecuencia hablamos de biomasa y no de números de animales. Obviamente, los costos asociados a la pérdida de los alevines son mínimos y los cultivadores lo soslayan incorporando en el próximo ciclo de cultivo un porcentaje mayor de ovas o alevines considerando la mortalidad reportada en el ciclo anterior. Los brotes de enfermedades bacterianas del agua fría son crónicos en Chile, donde las temperaturas

del agua son óptimas para el crecimiento de patógenos (8°C a 14°C). El problema se ve agravado por el hecho de que solo unas pocas pisciculturas de agua dulce del país realizan el ciclo completo de cultivo de salmónidos. Por tanto, la mayoría de los salmónidos cultivados se transportan una o dos veces entre distintas pisciculturas para completar el desarrollo, lo que aumenta los riesgos de brotes. Los datos adicionales revelan una distribución a nivel nacional de varios genotipos estrechamente relacionados con los genotipos más prevalentes en las pisciculturas europeas y norteamericanas, así como una superposición entre los diferentes linajes en lo que respecta a las especies de salmón del Atlántico y trucha arcoíris (Avendaño-Herrera y col., 2009; 2014). De hecho, Chile presenta entre su población de *F. psychrophilum* linajes genéticos exclusivos de nuestro país, lo que es la consecuencia directa de las prácticas de cultivo de peces que dependen todavía del mantenimiento común

en las pisciculturas de más de una especie de cultivo y el transporte de peces desde la Región Metropolitana a la Región de Magallanes (Avendaño-Herrera y col., 2014).

Recién el 9 de julio de 2013 (18 años después del primer reporte), Sernapesca declaró en R. Exenta N° 1741 a *F. psychrophilum* agente causal de la flavobacteriosis y la incluyó en la Lista 3 del Reglamento Sanitario de Chile. Sin embargo, esta categoría solo significa que es una enfermedad diagnosticada en el país en una o más zonas geográficas, provocando mortalidades variables y cuya completa epidemiología puede estar o no completamente descrita.

Figura 4 • Cultivo intensivo de alevines y ovas de salmónidos infectadas por *Saprolegnia* sp.



Antibióticos en pisciculturas

Con el fin de proporcionar antecedentes que permitan una reflexión más profunda se puede indicar que entre 2010 y 2016, los brotes de flavobacteriosis fueron, según datos de Sernapesca, tratados con 111,3 toneladas de antibióticos, con un promedio de 18,5 toneladas anuales. Por el contrario, la información estadística de Noruega mostró un total de 212 Kg de sustancias activas utilizadas en 2016 para tratar todas las enfermedades del país, no solo *F. psychrophilum*, sino otras que afectan peces en las etapas de agua dulce y mar (Lillehaug y col., 2018). El volumen total correspondió a 0,16 mg/Kg de pez sacrificado, o aproximadamente al 0,14% de los peces producidos este año en tratamiento con antibacterianos. De hecho, Noruega informa solo 21 recetas de agua dulce para el salmón del Atlántico y solo una receta para la industria de la trucha arcoíris, ya que el protocolo de tratamiento estándar actualmente prioriza el uso de florfenicol y ácido oxolínico antes que la oxitetraciclina.

Esta comparación es muy necesaria, ya que cotidianamente se sustenta el uso de antibiótico en la salmonicultura chilena debido a la existencia del patógeno intracelular *P. salmonis*, pero *F. psychrophilum* no presenta dichas características. En la reciente publicación del informe sobre uso de antimicrobianos en la salmonicultura nacional en 2019, se utilizó 334,1 toneladas de antimicrobianos para producir 989.546 toneladas de salmónidos, siendo un 3,5% empleado en la etapa de agua dulce (**Figura 6**). De las 11 toneladas de antimicrobianos administrados en pisciculturas, el 53,9% fue para flavobacteriosis y el 46,1% para BKD,

siendo preferentemente utilizados oxitetraciclina (70,1%), florfenicol (20,7%), eritromicina (8,9%) y tilmicosina (0,2%). Los 23 kilos de tilmicosina se administraron en las ACS 49 B y 53 ubicadas en la región de Magallanes, siendo empleado por primera vez en 2018 bajo el concepto de uso especial, según lo permite la normativa vigente. Sin embargo, se debe denotar que la tilmicosina comercializada por Elanco Salud Animal Chile bajo la marca Pulmotil™, está autorizada únicamente para cerdos y pollos y carece de investigación para su uso en salmones. Por tanto, surge la pregunta sobre ¿qué antecedentes técnico-científico apoyan el uso de tilmicosina en salmones y especialmente en pisciculturas?

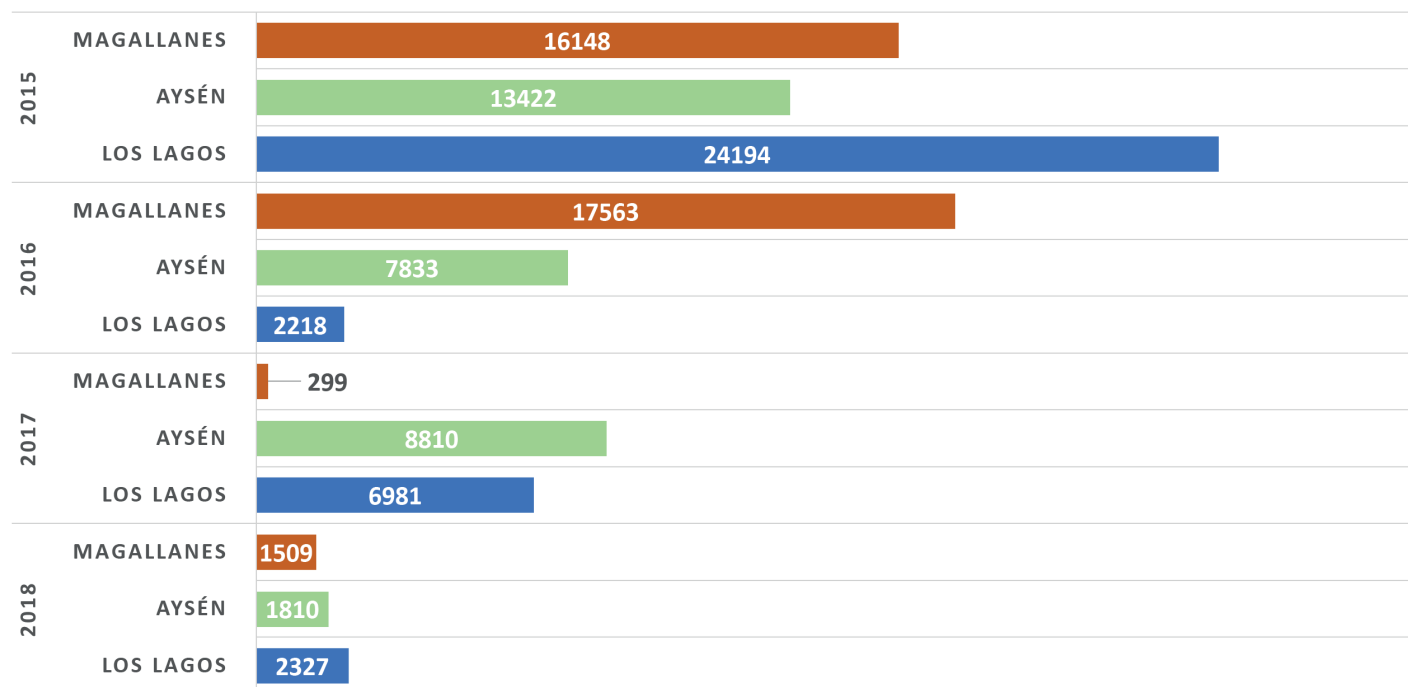
En Chile, los signos externos de la flavobacteriosis se tratan comúnmente mediante un baño con oxitetraciclina (100-125 ppm × 1 h, flujo cerrado durante 3 días). A su vez, el compuesto más eficaz contra la infección interna es el tratamiento con florfenicol oral (20 mg/Kg durante 15 días) (Valdebenito y Avendaño-Herrera, 2009). Sin embargo, desde finales de 2006, varios productores de salmón chilenos reemplazaron estos medicamentos con la quinolona ácido oxolínico, a pesar de la falta de conocimiento en cuanto a efectividad.

La aplicación de los compuestos antimicrobianos antes mencionados redujo significativamente las pérdidas atribuibles a *F. psychrophilum*. No obstante, el uso repetido del mismo agente antimicrobiano, incluso con fines preventivos, disminuyó los efectos antibacterianos de estos

quimioterapéuticos. De hecho, estudios de Henríquez-Núñez y col. (2012) reportan una alta proporción de aislados de *F. psychrophilum* resistentes a la oxitetraciclina, lo que podría ser el resultado de las 33,6 toneladas aplicadas en las pisciculturas chilenas para controlar los brotes de este patógeno entre 2006 a 2009. Es importante señalar que, si bien el uso de oxitetraciclina controló la rápida proliferación de *F. psychrophilum* a corto plazo, el tratamiento con este fármaco no eliminó el patógeno.

Hoy en día, la autoridad nacional de salud de peces teóricamente requiere primero el diagnóstico clínico, es decir, la identificación de la bacteria causante del brote o del proceso infeccioso antes de autorizar el tratamiento con antibióticos. Para ello, es imprescindible el aislamiento de la bacteria, pero casi todos los diagnósticos se realizan a través de pruebas de laboratorio basadas en la reacción en cadena de la polimerasa o "PCR" y es imposible realizar los estudios de susceptibilidad antibacteriana (**Figura 7**). Por tanto, no existiendo disponibilidad de aislados bacterianos para realizar los estudios de susceptibilidad a antimicrobianos es confuso financiar el Programa: "Vigilancia de la resistencia de los agentes patógenos que afectan a la salmonicultura nacional a los antimicrobianos de uso habitual", el cual se encuentra en su Etapa IV y que realiza el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) y financiado por el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, participando activamente en su desarrollo como contraparte técnica la Subsecretaría de

Figura 5 • Mortalidad (n° de peces) anual clasificada como flavobacteriosis causada por *Flavobacterium psychrophilum* en las pisciculturas de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes en los años productivos entre 2015 a 2018.



Pesca y Acuicultura, contando, con el apoyo permanente del Sernapesca. El programa, que se inició en 2014, tiene como objetivo general el desarrollar vigilancia del fenómeno de resistencia de los agentes patógenos a los antimicrobianos de uso habitual en la salmonicultura nacional.

Para ello, es imprescindible realizar con los aislados bacterianos recuperados a partir de los salmones enfermos el ensayo *in vitro* de concentración mínima inhibitoria (CMI) o antibiograma, el cual nos permitirá conocer los niveles de susceptibilidad a los antimicrobianos y recién tomar la decisión de tratamiento y dosis a emplear. En el caso de la flavobacteriosis, los datos generados por el equipo del IFOP y publicados por Miranda y col. (2016) coinciden con la sugerencia de Henríquez-Núñez y col. (2012)

que el método de antibiograma es poco preciso e inadecuado para investigar la susceptibilidad de los aislados de *F. psychrophilum*. Es imprescindible destacar que el valor de CMI no es una información superflua, muy por el contrario, al multiplicar 10 veces su valor nos permite farmacocinéticamente determinar la dosis apropiada de tratamiento y evitar usar más antibiótico de lo necesario como operativamente se realiza. Miranda y col. (2016) establecen para una población de 125 aislamientos chilenos de *F. psychrophilum* los valores de corte epidemiológico específicos, proponiendo valores de $\leq 0,125$, ≤ 2 y $\leq 0,5$ $\mu\text{g/mL}$ para amoxicilina, florfenicol y oxitetraciclina, respectivamente; mientras que, para quinolonas, los valores fueron ≤ 1 , $\leq 0,5$ y $\leq 0,125$ $\mu\text{g/mL}$ para ácido oxolínico, flumequina y enrofloxacin, respectivamente. A

modo de ejemplo, un aislado con valor de CMI para florfenicol de 1 $\mu\text{g/mL}$ es considerado una bacteria silvestre y su tratamiento debería ser 10 mg/Kg (10 veces x CMI del aislado) durante 10 a 15 días, pero siempre observando la evolución del brote. Sin embargo, comúnmente se empleará la dosis máxima permitida, es decir, 20 mg/Kg durante 15 días. Por el contrario, si el valor de CMI es mayor de 2 $\mu\text{g/mL}$, el aislado cae en la categoría de no silvestre y la dosis a aplicar no debería generar ningún control de la infección, por lo que no es conveniente realizar una terapia antimicrobiana.

Por tanto, operativamente el jefe de la piscicultura y su médico veterinario al momento de enfrentar a un brote infeccioso debe considerar como primer paso el aislar la bacteria y luego solicitar al laboratorio el estudio de los valores de CMI a

antibióticos para tomar una decisión informada sobre el tipo a utilizar y dosis a emplear. Sin embargo, como se ha señalado previamente, el diagnóstico se realiza por PCR y el médico veterinario se sustenta en el uso metafiláctico de antimicrobianos, es decir, el tratamiento de animales con antimicrobianos después de la aparición de una infección bacteriana en algunos animales del grupo, con objeto de proteger a los otros animales del grupo que aparentemente son sanos. Desafortunadamente, los antecedentes asociados a la eficacia del tratamiento con antibióticos son

desconocidos para la autoridad, ya que las empresas cultivadores no lo informen, por lo que no se pueden proponer mejoras en este procedimiento.

Evidentemente a diferencia de lo que ocurre con *P. salmonis*, *F. psychrophilum* es una bacteria incapaz de permanecer dentro de la célula huésped, y las condiciones ambientales son ideales para que la bacteria se vuelva ubicua y endémica de las piscifactorías chilenas. Por tanto, el uso de antibióticos no es la respuesta de tratamiento más sostenible, ni desde

una perspectiva medioambiental ni en lo que respecta a la presión genómica ejercida sobre la bacteria. Por tanto, si Chile realmente quiere reducir el uso de antibióticos en la industria del salmón, el primer paso debería ser prohibir la aplicación inapropiada de toneladas de antibióticos para contrarrestar la flavobacteriosis. De hecho, otros países competidores mitigaron la aparición de *F. psychrophilum* a través de inversiones en tecnología de cultivos, específicamente la incorporación de sistemas de filtrado y/o el cambio de sistemas abiertos a sistemas de recirculación.

Vacunas

El desarrollo de la acuicultura sostenible requiere un mejor conocimiento epidemiológico de los patógenos circulantes y de su diversidad genéticas/antigénicas. Para reducir brotes de flavobacteriosis y desarrollar productos biológicos candidatos a vacunas, Valdebenito y Avendaño-Herrera (2009) llevaron a cabo el primer estudio antigénico. Estos autores reportaron la existencia de una homogeneidad antigénica entre 20 aislamientos chilenos de *F. psychrophilum* recolectados a partir de salmón del Atlántico y trucha arcoíris enfermos, proponiendo que los brotes en las pisciculturas chilenas estaban dominados por dos grupos de cepas estrechamente relacionados. Estos resultados son la base para el desarrollo de una vacuna comercial chilena, la cual se registró en el año 2013 en el Servicio Agrícola y Ganadero como

Flavomune® (SAG N°2160-BP). Esta vacuna de inmersión contiene células completas inactivadas con formaldehído de los dos tipos dominantes. Sin embargo, han transcurrido siete años desde la primera aplicación de esta vacuna y las solicitudes para vacunar los peces en las pisciculturas han disminuido, ya que se ha observado una disminución de la eficacia en condiciones de campo.

Por lo tanto, recientemente investigadores del INCAR realizaron un estudio de actualización sobre el conocimiento antigénico de *F. psychrophilum* y así clarificar la situación antigénica para que las empresas farmacéuticas puedan desarrollar nuevos productos biológicos y/o la mejora de los existentes. Se analizaron 118 aislados de *F. psychrophilum* recuperados de trucha arcoíris,

salmón del Atlántico y salmón Coho colectadas entre 2006 a 2018 y muestreados directamente en el campo o enviados por laboratorios de diagnóstico. El estudio se realizó aplicando dos técnicas, la misma empleada en la investigación del 2009 y un PCR múltiple descrito por investigadores franceses para los aislados a nivel mundial (Rochat y col., 2017).

Los resultados obtenidos por Avendaño-Herrera y col. (2020), tanto por aglutinación en portaobjetos como por PCR múltiple, evidencian una heterogeneidad antigénica mucho mayor que la encontrada en 2009 (de 4 a 14 grupos antigénicos). Además, la tipificación basada en PCR múltiple demostró ser muy ventajosa para los aislados chilenos, revelando la presencia de cuatro tipos antigénicos, codificados como 0, 1, 2 y 4. Cabe señalar que el tipo

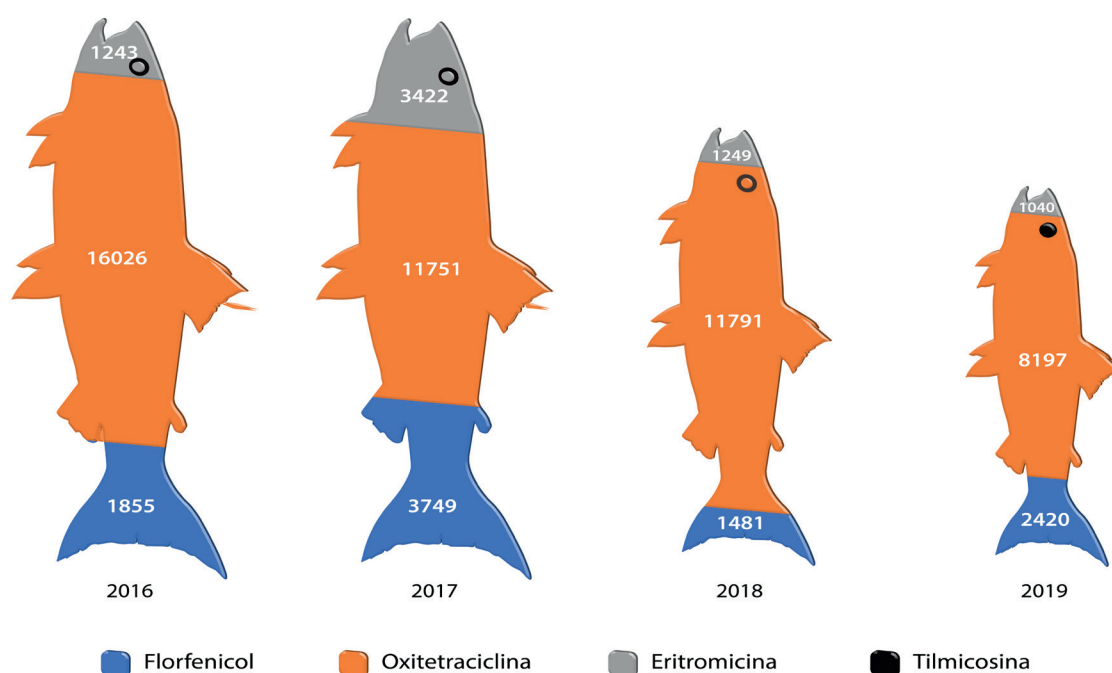
4 es exclusivo para aislados chilenos de *F. psychrophilum*, siendo identificado a partir de las secuencias genómicas completas codificadas en las diferentes polimerasas del antígeno somático "O" de aislados nacionales. Con el fin de explicar la actual variabilidad antigénica, se podría asociar a la presión ejercida por rangos de hospedadores superpuestos, particularmente porque la mayoría de las pisciculturas en Chile albergan poblaciones mixtas de diferentes salmónidos (por ejemplo, salmón del Atlántico, trucha arcoíris y salmón Coho) (Avendaño-Herrera y col., 2014). De hecho, 37 de las 136 pisciculturas que reportan producción de peces en 2019, producen al menos dos especies de peces en sus instalaciones y en distintos estados de crecimiento (ovas, alevines y/o smolt)².

De hecho, en Chile se practica aún la maquila que es un sistema que consiste en la existencia de relaciones comerciales entre distintas empresas salmonicultoras que operan y producen peces en sus propias pisciculturas y empresas que solicitan el servicio de maquila³ para producir, es decir, que un tercero realice en su centro el cultivo no solo de distintas especies sino también de distintas etapas de cultivo (e.g. alevinaje y juveniles). Además, los movimientos de peces son parte integral del ciclo de producción de la salmonicultura chilena (Mardones y col., 2014). Entonces, las prácticas de piscicultura chilena significan que la mayoría de los peces son transportados una o dos veces durante su vida para completar su desarrollo, a menudo a largas distancias (> 380 km) (Godoy y Avendaño-Herrera, 2012). Este transporte también de

una u otra forma afecta la calidad sanitaria de los peces, dejando a los peces susceptibles a distintas enfermedades.

Probablemente, el uso de una misma vacuna comercial durante más de cinco años ha ejercido una presión en los aislados de *F. psychrophilum*, provocando cambios en los serotipos o grupos serológicos predominantes en Chile (Avendaño-Herrera y col., 2020). De hecho, el uso rutinario de la misma vacuna para prevenir la yersiniosis, otra enfermedad en agua dulce que afecta la producción de salmónidos provocó cambios en *Yersinia ruckeri* (Bastardo y col., 2011). Otra medida preventiva al uso de Flavomune® es la solicitud de producción de bacterinas de inmersión autóctonas o también llamadas autovacunas, las cuales se han utilizado desde mediados de la década del 2000 (Bravo y Midtlyng,

Figura 6 • Volúmenes anual de antibióticos según principio activo (kilogramos) usado en pisciculturas de agua dulce entre los años 2016 a 2019.



² Solicitud SIAC N°460192819.

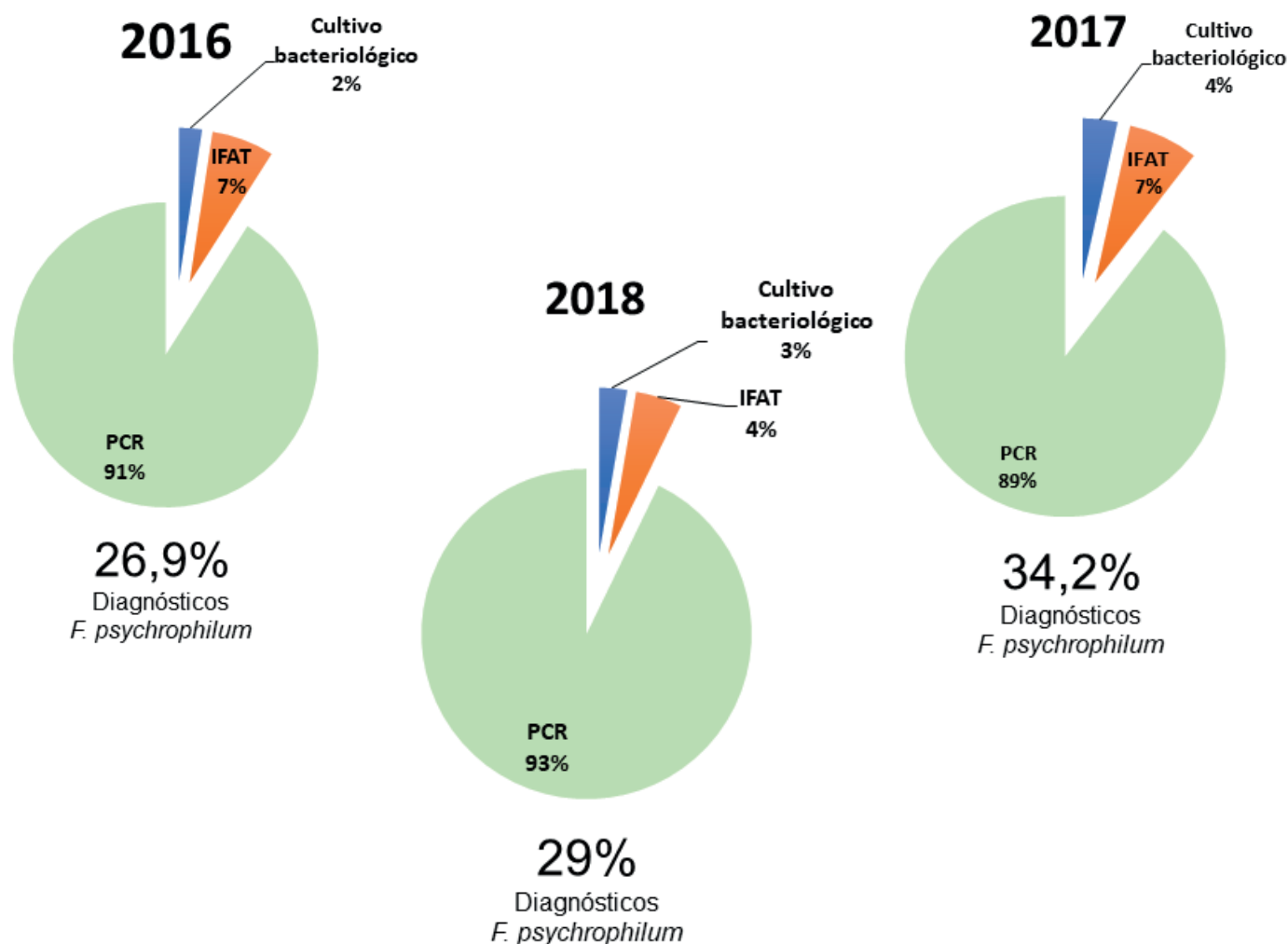
³ Este concepto define la externalización de la producción de salmones a empresas que prestan servicios de cultivo o mantención de los peces en unidades de agua dulce, propias o arrendadas porque la empresa mandante no es capaz de procesar todo lo que produce

2007). No obstante, la para preparar estas bacterinas se requiere tener los aislados puros que generan los brotes de flavobacteriosis y, en última instancia, los métodos de diagnósticos empleados masivamente es el PCR o sus variantes (Figura 7). En consecuencia, no se está aislando las bacterias responsables de las muertes de los peces y, además, se carece de información sobre la eficacia de la vacunación en términos de la supervivencia relativa.

Tomando en consideración los estudios antes señalados, se requiere de un producto biológico que sea capaz de prevenir los cuadros infecciosos asociados al grupo de *F. psychrophilum* del tipo 4. Desafortunadamente, la modificación de un registro biológico como Flavomune® (SAG N°2160-BP), es decir, la inclusión de un nuevo aislado representativo del tipo 4 de *F. psychrophilum* en la vacuna requiere prácticamente comenzar de cero.

En este sentido, la modificación de productos de prevención como las vacunas inactivadas debieran tener una normativa que permita modificarlas con mayor rapidez, considerando la situación sanitaria de la flavobacteriosis. Por ende, es necesaria la participación de los actores público-privados y fundamentados en el conocimiento científico-técnico.

Figura 7 • Porcentaje promedio de análisis diagnóstico de acuerdo a la técnica empleada por los laboratorios de diagnósticos acreditados por el Sernapesca, conforme al Programa de Vigilancia Pasivo (Res. (E) N°63/2003/Sernapesca), desde 2016 a 2018.



Recomendaciones para las políticas públicas y privadas

•Las entidades gubernamentales y privadas en Chile deben priorizar la investigación sobre los cambios que ocurren durante la etapa de agua dulce de la salmonicultura. Este reenfoque de la investigación debe propiciar un entorno más receptivo para mejorar aspectos reguladores como la densidad de cultivo, el tratamiento del agua antes y después de su uso y, más específicamente, en obligar a que los medicamentos solo se administren en base a determinaciones de concentración mínima inhibitoria.

•Estos objetivos requieren que se establezca un Programa de Monitoreo Activo para *F. psychrophilum*, el principal patógeno de la etapa de agua dulce.

•El transporte de los peces a través del país durante la etapa de agua dulce debe ser revisado y considerado como premisa el estatus sanitario de la piscicultura que solicita el movimiento, así como del centro que recibe, ya que puede convertirse en factor de riesgo sanitario. Ello debido a que en el transporte no solo se mueven los peces sino los microorganismos que son parte de su microbiota, lo que puede traer como consecuencia la transmisión de patógenos entre las pisciculturas y/o la recombinación involuntaria de genes entre microorganismos de distintas áreas geográficas.

•El diagnóstico de *F. psychrophilum* y otros microorganismos no pueden basarse en una simple confirmación de presencia/ausencia mediante técnicas moleculares como la PCR. En cambio, el aislamiento del agente causal debe ser un paso obligatorio antes de administrar el tratamiento, independientemente de la bacteria sospechosa. La implementación y adopción de este tipo de medida debe ser generalizada y respaldada por los sectores de la acuicultura público y privado.

•Todas estas consideraciones son imprescindibles para garantizar la salud de los peces, la sostenibilidad del cultivo de salmónidos y el bienestar del medio ambiente dulce acuícola. Un óptimo cultivo de los peces en la etapa de piscicultura puede tener un impacto relevante en el bienestar sanitario de los salmones durante la engorda en mar.

Referencias

Atland A & Bjerknes V (2009) Calidad de agua para el cultivo de smolts en Chile. Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Chile, SA. 139 p.

Avendaño-Herrera R (2018) Proper antibiotics use in the Chilean salmon industry: Policy and technology bottlenecks. *Aquaculture* 495:803-805.

Avendaño-Herrera R, Araya P & Fernández J (2009) Molecular analysis of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from salmonid farms in Chile. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 29:184-192.

Avendaño-Herrera R, Houel A, Irgang R, Bernardet JF, Godoy M, Nicolas P & Duchaud E (2014) Introduction, expansion and coexistence of epidemic *Flavobacterium psychrophilum* lineages in Chilean fish farms. *Vet Microbiol* 170:298-306.

Avendaño-Herrera R, Tapia-Cammas D, Duchaud E & Irgang R (2020) Serological diversity in *Flavobacterium psychrophilum*: A critical update using isolates retrieved from Chilean salmon farms. *J Fish Dis* 43:877-888.

Bastardo A, Bohle H, Ravelo C, Toranzo AE & Romalde JL (2011) Serological and molecular heterogeneity among *Yersinia ruckeri* strains isolated from farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. *Dis Aquat Org* 93:207-214.

Bravo S & Midtlyng PJ (2007) The use of fish vaccines in the Chilean salmon industry 1999-2003. *Aquaculture* 270:36-42.

Bustos PA, Calbuyahue J, Montaña J, Opazo B, Entrala P & Solerisenc R (1995) First isolation of *Flexibacter psychrophilus*, as causative agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS), producing rainbow trout mortality in Chile. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 15:162-164.

Figueroa D, Aguayo C, Valdivia P, Encina-Montoya F, Nimptsch J & Esse C (2017) Evaluación y análisis de los posibles parámetros ambientales a ser incorporados en las normas de emisión y/o de calidad de aguas fluviales y lacustres, destinados a centros de cultivo ubicados en tierra. Informe Final. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura FIP N°2015-05.

Frisk M, Høyland M, Zhang L, Vindas MA, Øverlid Ø & Johansen IB (2020) Intensive smolt production is associated with deviating cardiac morphology in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 529:735615.

Godoy M & Avendaño-Herrera R (2012) Pathological, diagnostic, therapeutic and epidemiological aspects of cold-water disease in Chile. Third Conference *Flavobacterium* 2012 (pp. 5-7). Turku-Finlandia.

Henríquez-Núñez H, Evrard O, Kronvall G & Avendaño-Herrera R (2012) Antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of *Flavobacterium psychrophilum* strains isolated in Chile. *Aquaculture* 354-355:38-44.

Kamjunke N, Nimptsch J, Harir M, Herzsprung P, Schmitt-Kopplin P, Neu TR, Graeber D, Osorio S, Valenzuela J, Reyes JC, Woelfi S & Hertkorn N (2017) Land-based salmon aquacultures change the quality and bacterial degradation of riverine dissolved organic matter. *Scientific Reports* 7 (43739):1-15.

Lillehaug A, Børnes C & Grave K (2018) A pharmaco-epidemiological study of antibacterial treatments and bacterial diseases in Norwegian aquaculture from 2011 to 2016. *Dis Aquat Organ* 128:117-125.

Mardones FO, Martinez-Lopez B, Valdes-Donoso P, Carpenter TE & Perez AM (2014) The role of fish movements and the spread of infectious salmon anemia virus (ISAV) in Chile, 2007-2009. *Prev Vet Med* 114:37-46.

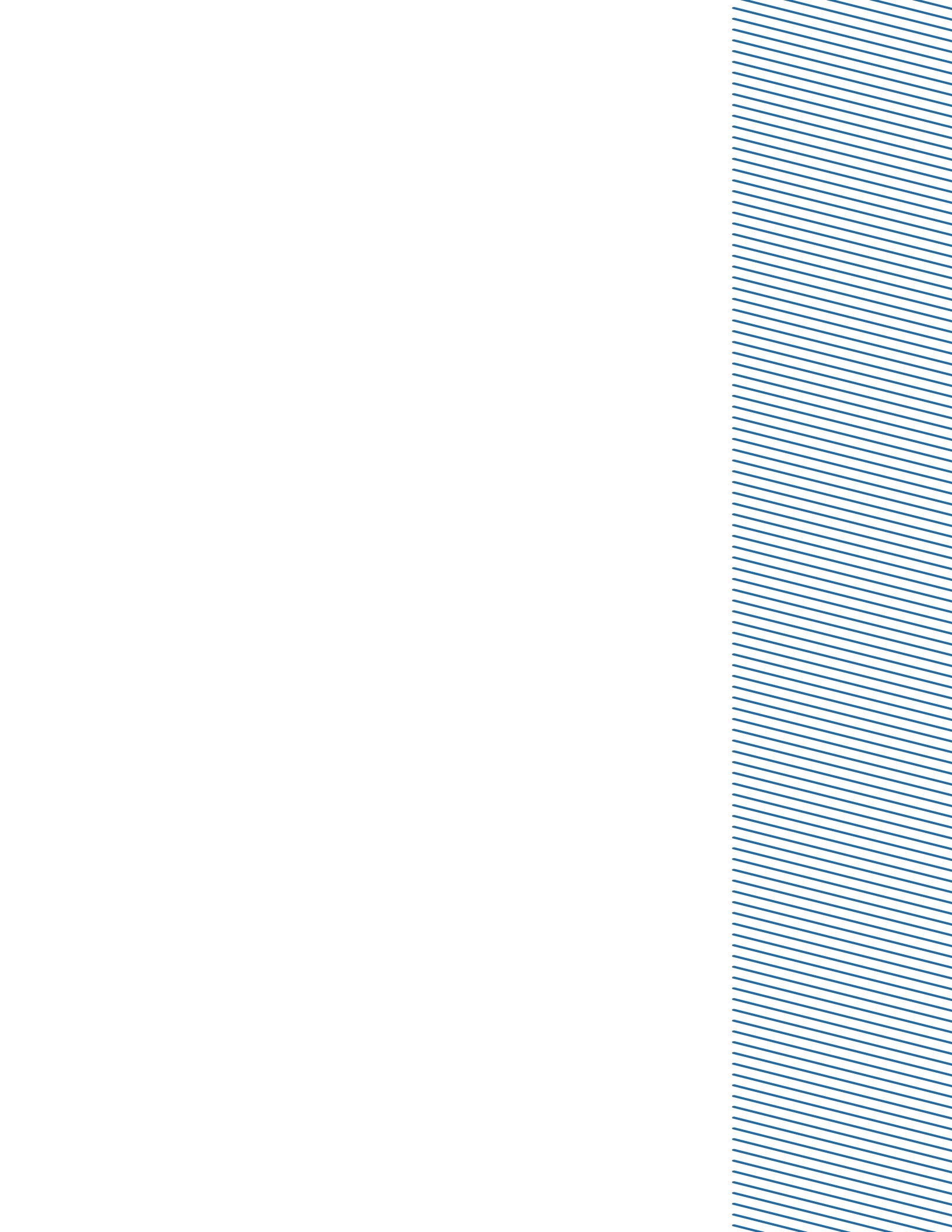
Miranda CD, Smith P, Rojas R, Contreras-Lynch S & Vega JM (2016) Antimicrobial susceptibility of *Flavobacterium psychrophilum* from Chilean salmon farms and their epidemiological cut-off values using agar dilution and disk diffusion methods. *Front Microbiol* 7:1880.

Rochat T, Fujiwara-Nagata E, Calvez S, Dalsgaard I, Madsen L, Calteau A, Lunazzi A, Nicolas P, Wiklund T, Bernardet J-F & Duchaud E (2017) Genomic characterization of *Flavobacterium psychrophilum* serotypes and development of a multiplex PCR-based serotyping scheme. *Front Microbiol* 8:1752.

Rosenfeld C & Manley L (2010) Informe Final: diagnóstico de bioseguridad en centros acuícolas. Universidad Austral de Chile. 26 p.

Valdebenito S & Avendaño-Herrera R (2009) Phenotypic, serological and genetic characterization of *Flavobacterium psychrophilum* strains isolated from salmonids in Chile. *J Fish Dis* 32:321-333.

Valenzuela C, Ponce C, Zuloaga R, González P, Avendaño-Herrera R, Valdés JA & Molina A (2020) Effects of crowding on the three main proteolytic mechanisms of skeletal muscle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Vet Res* 16:294.





www.incar.cl