

*Research Article*

## Estudio teórico de la dispersión de productos antiparasitarios en sistemas de baño cerrado utilizados por la industria salmonicultora en Chile

Alejandro León<sup>1</sup>, Hugo Robotham<sup>1</sup>, Juan-Carlos Quintanilla<sup>2</sup> & Sergio Contreras-Lynch<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería, Universidad Diego Portales, Santiago, Chile

<sup>2</sup>Instituto de Fomento Pesquero, Departamento de Salud Hidrobiológica

División de Investigación en Acuicultura, Puerto Montt, Chile

Corresponding author: Alejandro León (alejandro.leon@udp.cl)

**RESUMEN.** Se desarrolló e implementó un modelo teórico para el estudio de la dispersión de fluidos en los procedimientos de baños sanitarios en la industria del salmón. El modelo está basado en un autómata celular con el método redes de Lattice Boltzmann, ampliamente utilizado para la simulación de fluidos. El estudio contempla la simulación de incorporación del producto antiparasitario en un volumen de agua, y su posterior dispersión en el ambiente. Los resultados muestran que el procedimiento, utilizado en la actualidad por la industria del salmón, es eficiente para algunas configuraciones especiales de implementación del baño, alcanzando una cobertura de biomasa superior al 75%. El estudio de sensibilidad de parámetros en el modelo indicó que la densidad de peces ( $\text{kg m}^{-3}$ ), el diámetro (mm) de las perforaciones de las mangueras usadas para inyectar la mezcla antiparasitaria, el tamaño de la jaula y la distancia entre las perforaciones, no son determinantes en la eficiencia y eficacia del sistema para distribuir el producto. En cambio la potencia de la bomba, la forma y razón de aspecto de la jaula, y la disposición de las mangueras, influyen en la cobertura del tratamiento. Finalmente, los resultados de las simulaciones de dispersión del producto antiparasitario fuera de la jaula, indican que el principio activo sería indetectable entre 30 y 90 m corriente abajo de la ubicación de la jaula, pocos segundos después de retirada la lona del baño.

**Palabras clave:** salmón, piojo de mar, baño químico, simulación, autómata celular, Chile.

## Theoretical study of antiparasite products dispersion in closed systems baths used by salmon industry in Chile

**ABSTRACT.** A theoretical model was developed to study the dispersion of fluids in the sanitary bath procedures, currently used by the salmon industry. The model uses a cellular automaton with the Boltzmann's networks method, widely used for simulation of fluids. The study simulates the incorporation of the anti-parasite active ingredient in a volume of water and its subsequent dispersion in the environment. The results show that the sanitary bath procedure is efficient for some special configurations of bath implementation, achieving higher coverage of 75% biomass. For the range of values used in the model, the analysis of sensibility show that the densities of fishes, the diameters of the hose drilling, the size of the cage and the distance between drilling, are not determinant in the efficiency and effectiveness of the system for the distribution of the product. Instead, the power pumps, the shape and the ratio aspect of the cage and arrangement of the hoses, itself do influence on coverage. Finally the results of our simulations scattering outside the cage, shown that the active ingredient would be undetectable between 30 and 90 m of the location of the cage in the current flow direction, few seconds after removing the canvas.

**Keywords:** salmon, sea lice, chemical bath, simulation, cellular automaton, Chile.

### INTRODUCCIÓN

En acuicultura las principales variables y factores de riesgo asociados a la transmisión y diseminación de en-

fermedades infectocontagiosas, incluyendo las asociadas a parasitismos en las especies de cultivo, están relacionadas con las actividades productivas y manejo de los peces, como densidades de cultivo, tipo de espe-

cie y susceptibilidad a las enfermedades, entre otras (Krkošek *et al.*, 2007; Saksida *et al.*, 2011; Lafferty *et al.*, 2015). La liberación de químicos al medio marino en el tratamiento de infecciones puede tener impacto sobre otros organismos y su hábitat, lo cual está ampliamente descrito en la literatura (Boxshall & Bravo, 2000; Page *et al.*, 2000; Ernst *et al.*, 2001; Willis & Ling, 2004; Bravo *et al.*, 2005; Cabello, 2006; Burrige *et al.*, 2010). En particular, la Caligidosis es un problema que afecta la producción del salmón e impacta el medio cercano a los centros de cultivo (Marín *et al.*, 2009). Esta enfermedad es causada por el copépodo ectoparásito *Caligus rogercresseyi* (Boxshall & Bravo, 2000), o piojo de mar, que habita aguas marinas y salobres de Chile. Esta enfermedad causa importantes pérdidas económicas por la mortalidad de peces, aumento de infecciones secundarias y los costos que requiere su control y tratamiento (Carvajal *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 2004; Costello, 2006). Solo en el 2008, esta patología provocó pérdidas en la industria que alcanzaron en Noruega US\$187 millones, Chile US\$104 millones, Escocia US\$24 millones, Canadá US\$10 millones e Islas Faroe US\$6 millones (Aquanoticias, 2013).

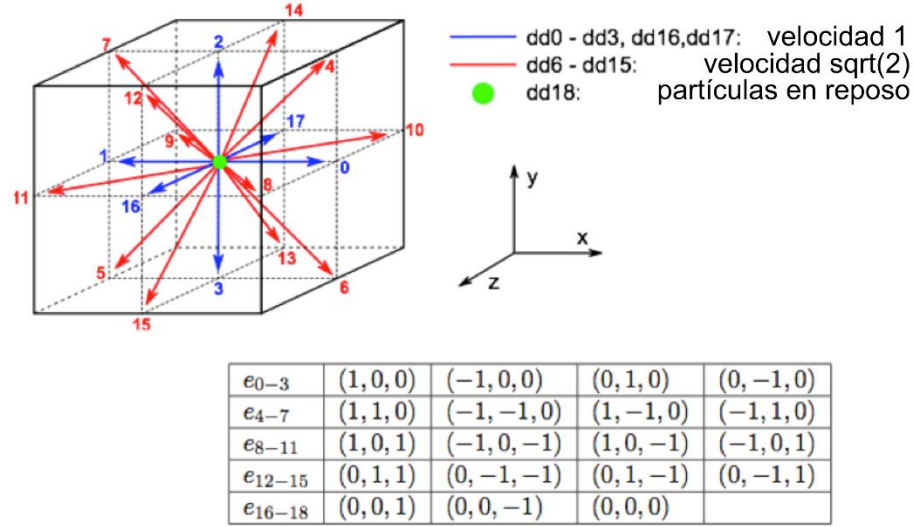
Los centros de cultivo son reservorios de este parásito, aumentando los niveles de infección en salmones y truchas silvestres (Krkošek *et al.*, 2007; Costello, 2009). Las alternativas de control autorizadas y utilizadas en Chile, para la Caligidosis consideran la utilización de tratamientos farmacológicos aplicados en el alimento y el uso de productos químicos por medio de baños. En esta segunda categoría, se encuentran los principios activos deltametrina y cipermetrina, ambos de la familia de los Piretroides, y azametifos de la familia de los Organofosforados. Al respecto, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile, en su Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis (PSEVC-Caligidosis; SERNA-PESCA, 2012), señala que en el tratamiento de la parasitosis, los centros de cultivo deberán implementar el tratamiento por baño utilizando sistemas cerrados, dentro de los que se encuentran el uso de wellboats y lonas.

Estudios sobre transporte y dispersión de la terapia para el piojo de mar en salmones mediante baños en jaulas y wellboats fueron analizadas y discutidas por Page & Burrige (2014). Estos autores revisaron algunas de las teorías clásicas sobre el transporte y dispersión de sustancias en el medio ambiente (Csanady, 1973) y entregaron información empírica para centros de cultivo de salmón localizados en el sudoeste de New Brunswick, Canadá. Para esta misma área, Page *et al.* (2000) y Ernst *et al.* (2001) indican resultados sobre la dispersión de pesticidas en el mar por el tratamiento mediante baños cerrados.

En un estudio reciente de dispersión y dilución en centros de cultivo en Chile (EULA, 2013) de cipermetrina y deltametrina, se señala que el mecanismo más importante de la dispersión del antiparasitario en la jaula, es el transporte advectivo según las corrientes predominantes. En este estudio, los autores se basaron en la información disponible de las propiedades físicas y químicas de compuestos piretroides (Mackay *et al.*, 2006) y del escenario ambiental. Posteriormente, Corner *et al.* (2007) analizaron los tratamientos de baños en centros de cultivo de Escocia para el piojo de mar usando modelos de dispersión para la descarga al medio ambiente. Uno de los aspectos abordados consistió en determinar la concentración de la cipermetrina durante el tratamiento y su distribución de corto plazo, una vez liberado al ambiente mediante una serie de experimentos de campo.

El uso de tratamientos por inmersión en acuicultura, implica ventajas y desventajas. Las desventajas, muestran que los tratamientos mediante baño son más difíciles de ejecutar que los tratamientos orales, pues requieren mayor mano de obra en su realización, equipamiento y procedimientos que deben estar claramente establecidos, además del uso de faldones o lonas dispuestas alrededor de la jaula para contener el producto antiparasitario. Además, debido a que se desconoce el volumen real de agua contenido en la jaula, no se garantiza que la concentración del producto activo y su distribución sea la apropiada (Woo & Buschmann, 2012; Page & Burrige, 2014). La aplicación de estos productos varía según las técnicas usadas en los centros de cultivo, siendo necesario el estudio de la eficiencia de los sistemas utilizados en su distribución (Bravo *et al.*, 2008; Marin *et al.*, 2014; Page & Burrige, 2014).

El presente estudio se efectuó para mejorar la comprensión de los procesos de dispersión de los tratamientos, analizando la eficacia de los sistemas utilizados para la distribución de los productos antiparasitarios en jaulas cerradas, ya que estos varían según las técnicas y mecanismos usados en los centros de cultivo. Para este estudio se diseñó un modelo que permite simular la dinámica de dispersión de la mezcla de agua y principios activos en función de la biomasa de peces en cultivo, dimensiones y razón de aspecto de la jaula, y los mecanismos para incorporar la mezcla en su interior. Los modelos de simulación basados en ecuaciones diferenciales de la teoría clásica que describen la dinámica de un fluido, se pueden utilizar para resolver diversos problemas en hidrodinámica; pero son ineficientes a la hora de incorporar condiciones de borde complejas, como es el caso de peces en movimiento. Debido a este tipo de limitantes, se postula que la forma más eficiente de realizar el estudio es formular una aproximación alternativa a los



**Figura 1.** Esquema D2Q19 de discretización del espacio en la red de Boltzmann utilizada.

métodos clásicos de dispersión de agentes antiparasitarios aplicados por baño cerrado, mediante un modelo hidrodinámico particular en redes de Lattice Boltzmann (LBM) (Chen & Doolen, 1998; Succi, 2001) basado en la arquitectura de autómatas celulares, plataforma teórica que es considerada exitosa para estudiar sistemas hidrodinámicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción del modelo

El Modelo Lattice Boltzmann (LBM) ampliamente utilizado en mecánica de fluidos (Succi *et al.*, 1988; Higuera *et al.*, 1989; Cancelliere *et al.*, 1990; Chen *et al.*, 1991; Wei *et al.*, 2003; Riff, 2004; Wang *et al.*, 2006; Begum & Abdul-Basit, 2008; Flórez *et al.*, 2008), es un autómata celular que discretiza el espacio como una grilla regular de celdas cuyo estado está representado por una población de “partículas” mesoscópicas. El estado de las partículas se representa por una función distribución  $f_i(\vec{x}, t)$  que representa la cantidad de partículas en la celda  $\vec{x}$  en el tiempo  $t$  moviéndose con velocidad  $\vec{u}_i$ . Las variables macroscópicas (*i.e.*, los observables físicos) se generan a partir de los momentos de  $f_i(\vec{x}, t)$  respecto de la variable  $\vec{u}_i$ . El objetivo del modelo LBM es simular computacionalmente el comportamiento de un fluido incompresible a nivel macroscópico, representando la interacción entre sus partículas. Para ello, se divide el espacio que se quiere simular en cierta cantidad de celdas, dependiendo del nivel de detalle requerido en los resultados, las cuales representarán la distribución de partículas del fluido en ese volumen/área determinado. A su vez, se establece una serie de fases que, a partir de una densidad y velocidad iniciales en cada celda, y

tomando en cuenta la viscosidad característica del fluido, calcula las nuevas distribuciones de partículas en el sistema.

Se utilizará como discretización del espacio el esquema conocido en la literatura técnica como D3Q19 (dimensión 3 y 19 direcciones para la velocidad) (Fig. 1).

La dinámica de este método está gobernada por la ecuación de Lattice Boltzmann:

$$f_i(\vec{x} + \Delta_x \vec{c}_i, t + \Delta_t) - f_i(\vec{x}, t) = \Omega_i(f) \quad (1)$$

donde el subíndice  $i$  recorre las 19 direcciones de la discretización,  $f_i$  representa la función de distribución de las partículas,  $\vec{x}$  es el vector que representa la posición de los nodos,  $\vec{c}_i$  representa los vectores de la red,  $\Delta_x$  es el espaciado de la red,  $\Delta_t$  es el paso del tiempo y  $\Omega_i(f)$  es el término de colisión. Este término de colisión se puede linealizar en torno a la solución de equilibrio local, por la expresión:

$$\Omega_i(f) = -\frac{1}{\tau} \left( f_i(\vec{x}, t) - f_i^{eq}(\rho, \vec{u}) \right), \quad (2)$$

donde  $\tau$  es el tiempo de relajación y  $f_i^{eq}$  es la distribución de equilibrio de las partículas, que depende de la densidad  $\rho$  y velocidad  $\vec{u}$  de las partículas. El tiempo de relajación está relacionado con los fenómenos de difusión en el problema, en este caso con la viscosidad del agua. La ecuación general de la función de distribución de equilibrio es:

$$f_i^{eq} = \rho \omega_i \left[ 1 + \frac{(\vec{c}_i \cdot \vec{u})}{c_s^2} + \frac{(\vec{c}_i \cdot \vec{u})^2}{c_s^4} - \frac{(\vec{u} \cdot \vec{u})}{2c_s^2} \right], \quad (3)$$

donde  $\omega_i$  son ponderaciones y  $c_s^2$  es la velocidad del sonido en la red. Los valores de estas cantidades en la discretización D3Q19, son:

$$c_s^2 = \frac{1}{3}, \quad \omega_0 = \frac{1}{3}, \quad \omega_{1-6} = \frac{1}{18}, \quad \omega_{7-18} = \frac{1}{36} \quad (4)$$

donde  $\omega_0$  está relacionado a las partículas en reposo. Reemplazando la ecuación (4) en la ecuación (3), se tiene la distribución de equilibrio para el modelo:

$$f_i^{eq} = \omega_i \left[ \rho + 3 \frac{(\vec{c}_i \cdot \vec{u})}{v^2} + \frac{9}{2} \frac{(\vec{c}_i \cdot \vec{u})^2}{v^4} - \frac{3}{2} \frac{(\vec{u} \cdot \vec{u})}{v^2} \right] \quad (5)$$

Para analizar sistemas reales, se debe poner la atención a escala macroscópica, donde las cantidades físicas son continuas. Luego se debe trabajar con la densidad y la velocidad, que están dadas por las expresiones:

$$\rho(\vec{x}, t) = \sum_{i=0}^{18} f_i(\vec{x}, t) \quad (6)$$

$$\vec{u}(\vec{x}, t) = \frac{1}{\rho(\vec{x}, t)} \sum_{i=0}^{18} f_i(\vec{x}, t) \vec{c}_i \quad (7)$$

El algoritmo de simulación se puede esquematizar, como se muestra en la Figura 2. El núcleo del algoritmo se basa en los pasos de propagación y colisión. Estas dos etapas se pueden calcular de forma independiente de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$f_i^*(\vec{x}, t + \Delta t) = f_i(\vec{x} - \Delta_x \vec{c}_i, t) \quad (8)$$

$$f_i(\vec{x}, t + \Delta t) = (1 - \tau) f_i^*(\vec{x}, t + \Delta t) + \tau f_i^{eq}(\rho, \vec{u}) \quad (9)$$

Los principales pasos del algoritmo de simulación son: las ecuaciones 8, 6, 7 y 9 definidas en la metodología.

Algoritmo I: D3Q19 LBM

- 1) Inicialización ( $t = 0$ ):
  - a)  $\rho(\vec{x}, 0) = 1.0$
  - b)  $\vec{u}(\vec{x}, 0) = (0, 0, 0)$
  - c)  $f_i(\vec{x}, 0) = f_i^{eq}(\rho, \vec{u})$
- 2) Ciclo principal ( $t = 1 \rightarrow t = t_{max}$ )
  - a) Paso de propagación (8)
  - b) Actualización de la densidad macroscópica (6) y la velocidad (7)
  - c) Paso de colisión (9)

La gran ventaja de los modelos basados en las redes de Boltzmann, es la incorporación de las condiciones de borde. En este caso, los bordes están dados por las paredes del sistema (jaula más lona) y la superficie de los peces. La forma en que se incorporan los bordes en el sistema, se indica en la Figura 2.

Finalmente, el modelo debe incorporar la fuerza de gravedad, que se logra usando la expresión:

$$\vec{u} = \vec{u} + \tau \vec{F}, \quad (10)$$

Cuando se implementa el algoritmo, se debe actualizar la velocidad macroscópica (7), sumando la fuerza externa dada por la ecuación (10). De esta forma

se puede incorporar cualquier fuerza constante, como la gravedad que actúa sobre las partículas.

### Parametrización del modelo

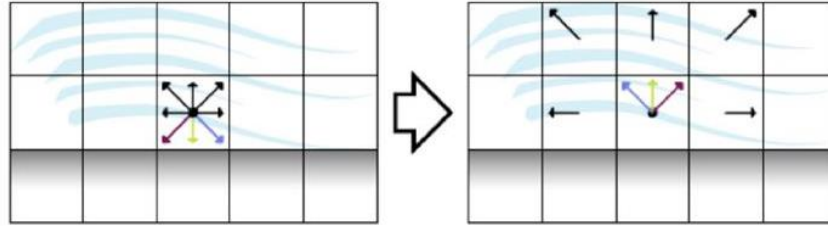
El estudio realizado por Quintanilla & Schulze (2014) entrega información de las condiciones en que se realizan los baños sanitarios en la industria chilena, proporcionando las variables y valores de mayor representatividad. Esta información se utilizó para parametrizar el modelo que contemplaba las características de borde, tamaño y forma de las piscinas, potencia de las bombas utilizadas, densidad de biomasa en las jaulas de cultivo, volumen de agua introducida con el agente antiparasitario, condiciones de las mangueras usadas, como forma, tamaño y distribución de las perforaciones. No hay estándares nacionales para este tipo de información, pero a partir de estos antecedentes se definió un conjunto de valores promedio y características de mayor frecuencia de uso, para cada una de estas variables consideradas como las más representativas en la industria (Tabla 1).

### Evaluación del modelo

El principal objetivo de este estudio es verificar la dispersión de los productos antiparasitarios durante los baños sanitarios. Se ha planteado como estrategia para lograr este objetivo, estudiar la cobertura obtenida en un volumen de agua para un sistema cerrado. Se estableció que la manera más eficiente de realizar el estudio, es a partir del diseño de un modelo particular para la dinámica del sistema (peces en movimiento, geometría de los bordes de las piscinas, disposición de las mangueras). Como se mostró en la descripción del modelo, utiliza una función de distribución de partículas, sin embargo el proceso global del algoritmo es determinista. Estos métodos podrían presentar inestabilidades numéricas para números altos de Reynolds y discretización del volumen inadecuado (Frisch *et al.*, 1987). Debido a la magnitud de las velocidades involucradas en los baños sanitarios en sistemas cerrados, el modelo está lejos de los valores del número de Reynolds para presentar inestabilidad. La discretización utilizada (división del espacio en celdas), los datos de la densidad y viscosidad del agua de mar, datos de la velocidad a que se mueven los peces durante el baño, permiten obtener dinámicas razonables de la dispersión y por lo tanto, el modelo permite estudiar el problema planteado.

### Análisis de sensibilidad

Como se mencionó anteriormente, en su comportamiento global el modelo es determinista, de modo que el estudio de sensibilidad consistió en fijar todas las variables, excepto la de interés, y variar su magnitud en los rangos cercanos al valor usado en la industria. Para



**Figura 2.** Forma en que el algoritmo incorpora los bordes del sistema.

**Tabla 1.** Variables y valores que serán considerados estándar para todo el estudio.

Variables	Valor
Largo, ancho, profundidad (m)	30, 30, 5
Caudal de trabajo de la bomba ( $L \text{ min}^{-1}$ )	200
Volumen de agua que se introduce (L)	500
Diámetro de las perforaciones (mm)	5
Distancia entre las perforaciones (cm)	80
Densidad de los salmones ( $kg \text{ m}^{-3}$ )	17
Disposición de la manguera	2

el análisis de sensibilidad del modelo respecto al conjunto de parámetros presentados en la Tabla 1, se consideraron varios escenarios que responden a los usados por la industria chilena; densidad de carga de peces que la industria usa actualmente entre 0 y  $17 \text{ kg m}^{-3}$ , que sería el valor máximo utilizado y las dos formas más comunes de jaulas, rectangular y circular con tamaños de base entre 20 y 30 m. En este trabajo se muestran resultados de jaulas con base cuadrada para compararlas con jaulas circulares. Entre los mecanismos para incorporar la mezcla dentro de la jaula, se consideraron los siguientes: perforaciones de la manguera considerando diámetros de los agujeros entre 2 y 20 mm, y distancia de separación en un rango de 20 a 100 cm, tres tipos de configuración de la manguera cuyas disposiciones se utilizan en la industria (Fig. 3), la potencia medida como el caudal de la bomba fue barrida de 50 a  $500 (L \text{ min}^{-1})$ . En este caso se realizó una modificación en el conjunto estándar de los parámetros, debido a que una bomba con caudal grande, requiere un volumen inicial mayor, que fue fijado en 2.000 L.

### Forma en que se incorporan los parámetros y variables físicas en el algoritmo

La forma del sistema jaula-lona se incorpora en el algoritmo a través de los nodos que forman los bordes (Fig. 2). Esto permite simular la geometría del sistema (base circular o cuadrada y profundidad). Los peces en reposo o en movimiento se incorporan en el algoritmo

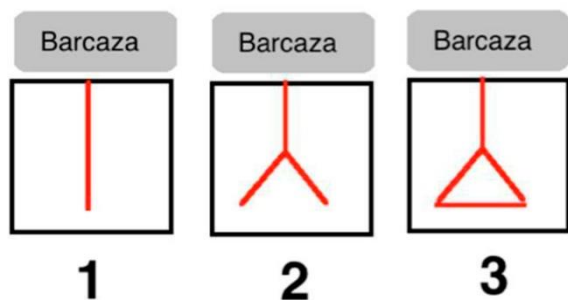
de igual forma, es decir, con un conjunto de nodos vecinos, tipo borde (con forma similar a un pez), que se desplazan a la velocidad promedio de los peces en la piscina. Los agujeros de las mangueras, por donde sale el agua con el principio activo, se incorporan en la simulación, de la siguiente manera: i) Dependiendo de la configuración que se esté estudiando (Fig. 3), se define una función de posición de todos los puntos que definen la manguera en el sistema jaula-lona, ii) para esta función de posición definida, se elige un conjunto de puntos que representará los agujeros; la distancia de separación entre los agujeros y su tamaño, dependerá de la situación que se esté simulando, y iii) en cada paso del algoritmo se actualiza la velocidad de entrada del agua, a través de estos puntos, de acuerdo a su tamaño y caudal de la bomba. El resto de condiciones de la simulación, están dadas por las condiciones iniciales del sistema (densidad y velocidad inicial del agua).

### Diseño de las simulaciones para abordar el objetivo

El protocolo utilizado por la industria salmonera considera varias etapas (SEPA, 2008). Se inicia subiendo la malla pecera dejándola a una profundidad promedio de 5 m. La malla pecera se rodea por completo con una lona cerrada a igual profundidad. Una vez los peces hayan alcanzado un estado de mayor confort en el volumen reducido de agua, el principio activo se disuelve en un volumen inicial de agua (1.000 L) y luego se inyecta a la jaula con una bomba de agua, a través de mangueras con perforaciones. Considerando las variables ya mencionadas y todas las condiciones que se presentan en el baño químico, se alimentará el modelo separando las simulaciones debido a la dispersión del ingrediente antiparasitario dentro y fuera de la jaula.

### Dispersión del ingrediente antiparasitario dentro de la jaula

Una estrategia para verificar la dispersión del agente antiparasitario en la jaula, es seguir la trayectoria de los elementos del agua que contiene los principios activos disueltos, que se incorporan a presión a la jaula. Para



**Figura 3.** Esquema de la vista superior de la jaula con tres tipos de configuración de la manguera.

lograr el objetivo propuesto se agregó un marcador al agua que ingresa a la jaula. Estas partículas ficticias, son arrastradas por el agua, pero no interfieren en su comportamiento. El algoritmo determinará en qué lugares de la jaula se encuentran estos marcadores, en función del tiempo. De acuerdo al mallado realizado para simular el sistema y las dimensiones físicas a analizar, se convirtieron todas las variables adimensionales del modelo, en magnitudes físicas con unidades reales. El paso computacional se normalizó para entregar el tiempo en minutos. Todas las distancias se trabajaron en metros y en general, el resto de las variables involucradas, se trabajaron con unidades del sistema internacional de medidas y sus derivadas. Se definió un indicador de cobertura para medir la eficacia respecto de la disminución de la carga parasitaria del tratamiento para todo el estudio, que consiste en la fracción de volumen de la jaula cubierto por el agua con el antiparasitario, en función del tiempo. En el modelo esto se logra, contabilizando los nodos del sistema por los cuales pasaron en algún instante, las partículas marcadoras. Se definió como medida de eficiencia, el tiempo que demora el sistema en alcanzar la cobertura.

### Dispersión del ingrediente antiparasitario fuera de la jaula

Finalmente, se realizó el análisis de la diseminación del principio activo fuera de la jaula de cultivo una vez levantada la lona de baño. El modelo determina el tiempo que demora en llegar la primera partícula a un hito determinado (en general, el final de la red) y la última. Como se conoce la velocidad de arrastre de los marcadores (que no es necesariamente la misma que la velocidad del canal), se estima la distancia donde las partículas están esparcidas. Con el conocimiento de la posición lateral y profundidad del conjunto de las partículas, se determina su concentración. La estrategia para este estudio consistió en desarrollar la siguiente metodología: i) El sistema estudiado tiene las dimensiones de un canal, con la jaula representada por un porcentaje de este volumen y se definen condiciones de

borde periódicas en la dirección de la corriente, ii) se consideró el peor escenario posible respecto de la cantidad de principio activo disponible, que supone que la dosis inicial del medicamento está 100% disponible para ser vertida al canal, cuando se saque la lona, iii) el volumen de agua que representa la jaula (con la lona), tiene un marcador para seguir la trayectoria de este volumen de agua, una vez que se retira la lona, iv) las condiciones iniciales corresponden al volumen de agua del canal moviéndose a la velocidad de la corriente ( $5$  y  $10 \text{ m s}^{-1}$ ) y el volumen de agua de la jaula con la lona en reposo. Luego se saca la lona, esto significa que computacionalmente el modelo retira los bordes físicos de la jaula, v) se determina la diseminación de los marcadores en el canal, y vi) se simula la medición del contaminante, determinando el volumen de agua que ocupan las partículas marcadoras a los 30, 60 y 90 m corriente abajo de la jaula.

## RESULTADOS

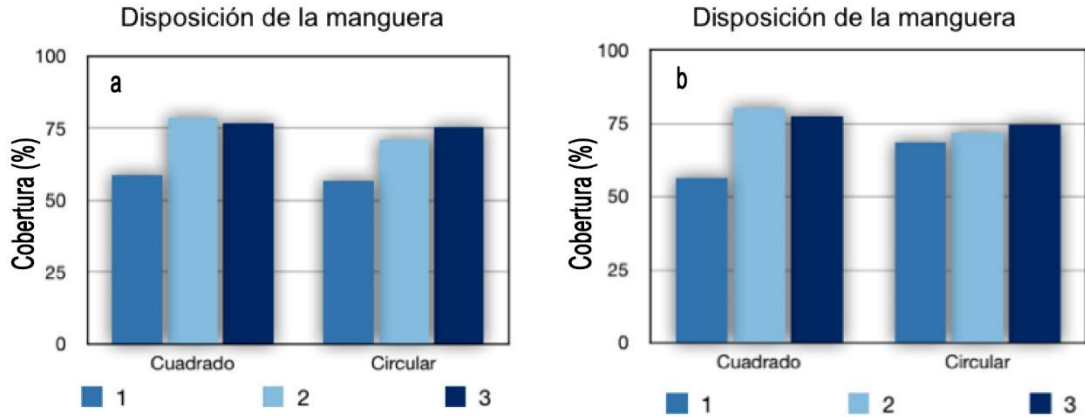
La dispersión del ingrediente antiparasitario dentro de la jaula se presenta en los casos denotados como 1-6 y la dispersión fuera de la jaula en el caso 7.

### Caso 1. Cobertura en función de disposición de la manguera

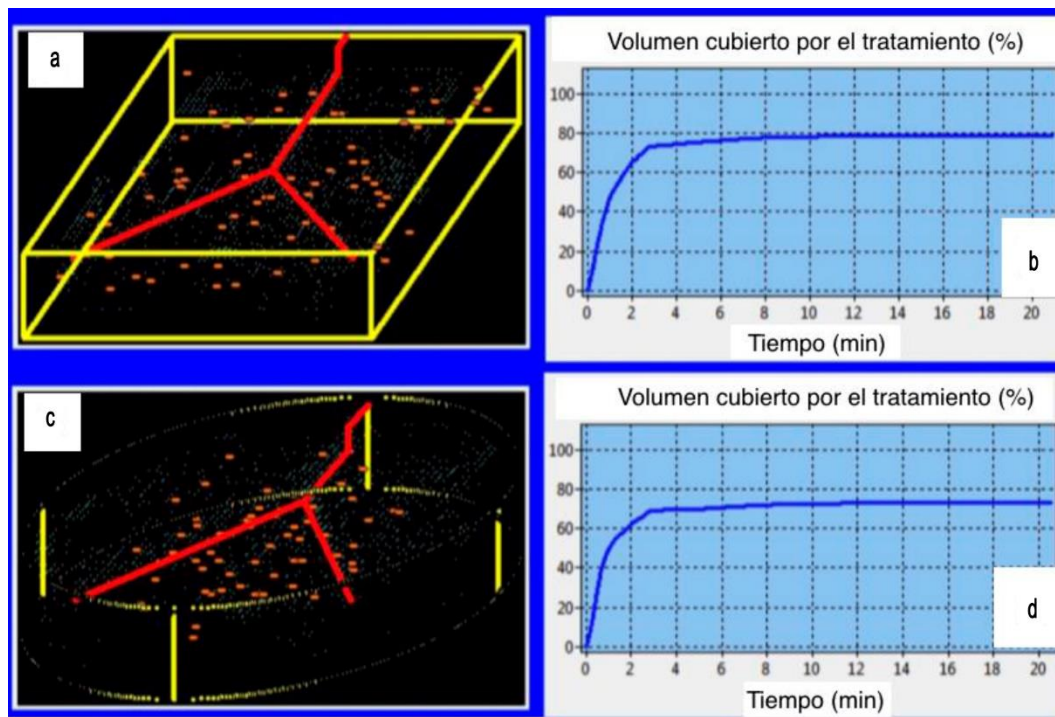
Usando los parámetros de entrada como estándares (Tabla 1) y haciendo variar las disposiciones de la manguera, los resultados indican una cobertura superior al 50%, siendo más eficientes las disposiciones 2 y 3 con valores de cobertura cercanos al 75% (Fig. 4). Las simulaciones muestran que en la mayoría de los ensayos realizados, la cobertura converge para tiempos superiores a 6 min, de tal forma que se registra la cobertura en el minuto 7, para todos los resultados mostrados en este trabajo. Una vez retirada las mangueras de la jaula, transcurridos aproximadamente entre 3-4 min de la incorporación de agua con el producto activo, el indicador de cobertura en la jaula cuadrada está sobre el 70% del volumen de la jaula, este indicador cuando se replica en jaulas de base circular alcanza un nivel inferior de cobertura, cercano al 65% (Fig. 5).

### Caso 4. Cobertura en función de la distancia entre las perforaciones en la manguera de alimentación

Al modificar la distancia de separación de las perforaciones en la manguera, manteniendo fijos los otros parámetros, se tiene un comportamiento similar a los resultados obtenidos con el diámetro de las perforaciones (Fig. 6d). Esto es, la cobertura no varía significativamente cuando varía la distancia entre los agujeros y al igual que en los casos previos analizados,



**Figura 4.** Cobertura a los 7 min de tratamiento, en función de la disposición de las mangueras. Todos los parámetros son los definidos como estándares y el tamaño de la base de la jaula es de a) 30 m para y b) 20 m.



**Figura 5.** a) Indica la secuencia de simulación para la piscina con base cuadrada, b) representación tridimensional de la jaula (amarillo), manguera (rojo), peces (naranja) y principio activo (celest), c) indica la cobertura en función del tiempo, d) muestra lo mismo para la piscina con base circular.

la cobertura en la jaula cuadrada es levemente superior a la circular.

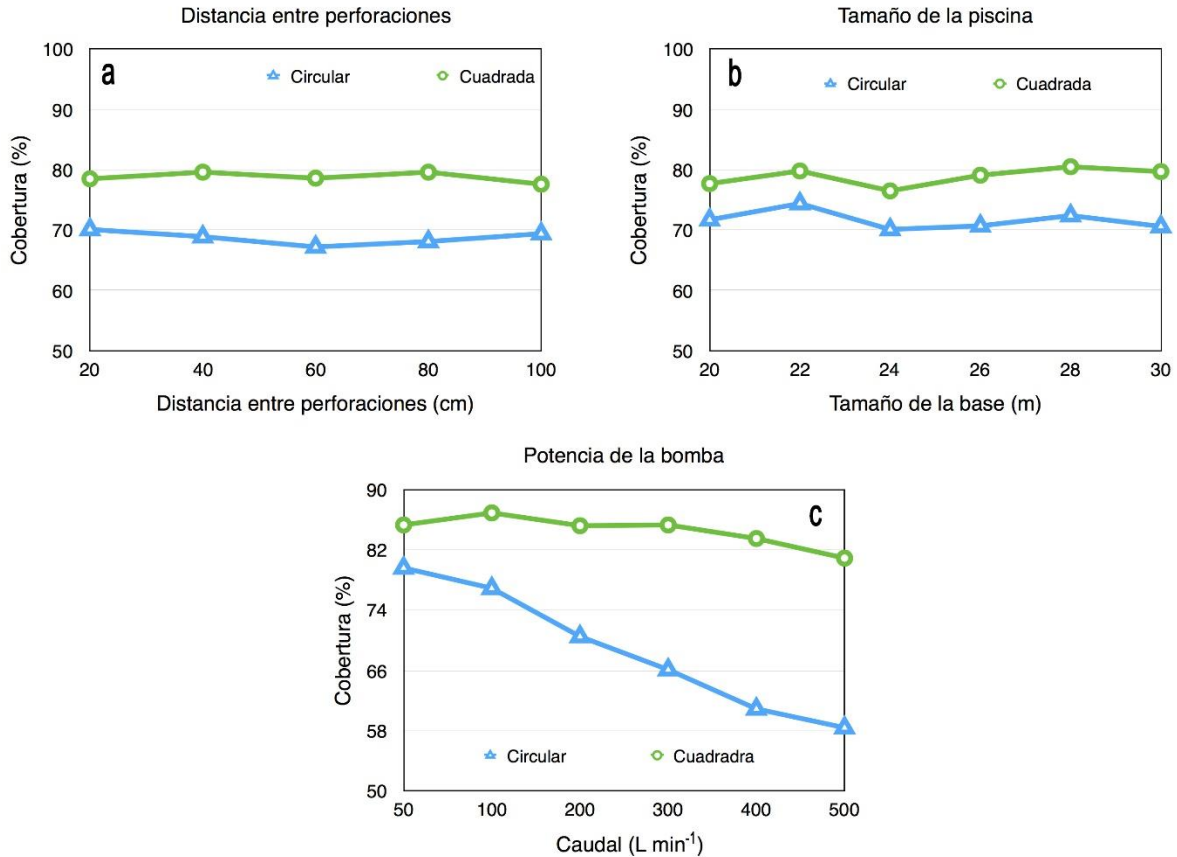
**Caso 5. Cobertura en función del tamaño de la base de la jaula**

Considerando como tamaño de la base de la jaula, el largo de la jaula de base cuadrada y el diámetro para la jaula de base circular, para un rango entre 20 y 30 m, se encontró que la cobertura es mayor en la jaula cuadrada (Fig. 6e). Esto se debe a que la razón de volumen entre la geometría con base cuadrada y con base circular es

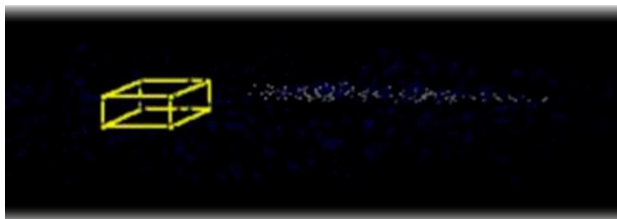
de  $4/\pi \approx 1,27$ , lo que explicaría estas diferencias. Lo importante es que en ambos escenarios (con los parámetros estándar) se logra una cobertura superior al 75% en el baño químico.

**Caso 6. Cobertura en función de la potencia de la bomba usada para introducir el principio activo**

Finalmente, se realizó un estudio de la cobertura en la jaula en función de la potencia de la bomba usada para introducir la mezcla de los principios activos diluidos previamente en un volumen inicial de agua (Fig. 6f). En



**Figura 6.** Porcentaje del volumen de agua cubierto por el tratamiento (cobertura) a los 7 min en función de los parámetros estándar, considerando el análisis de sensibilidad para las siguientes variables en la simulación de jaulas de base cuadrada o circular. a) Distancia entre las perforaciones (cm) para ambas geometrías, b) tamaño de la base (m) para ambas geometrías, c) caudal de la manguera (L min<sup>-1</sup>), que se relaciona con la potencia de la bomba, para ambas geometrías y un volumen inicial de tratamiento de 2.000 L.



**Figura 7.** Fase inicial de la dispersión en el canal.

la Tabla 2 se indican los resultados de esta simulación donde se puede apreciar que la cobertura disminuye, levemente en el caso de jaula cuadrada y significativamente en el caso circular. Esto es importante, pues la disminución se produce cuando aumenta el caudal (aumenta la potencia de la bomba). La explicación de este efecto se relaciona con el tiempo que le toma al agua, responder a los gradientes de velocidad y presión (inercia al movimiento que tiene relación con la viscosidad cinética del agua).

**Tabla 2.** Cobertura en función del caudal entregado por la bomba para un volumen inicial de tratamiento de 2.000 L.

Caudal (L min <sup>-1</sup> )	Cobertura (%) cuadrada	Cobertura (%) circular
50	85,3	79,6
100	86,9	76,9
200	85,2	70,5
300	85,3	66,1
400	83,5	60,9
500	80,9	58,4

### Caso 7. Dispersión fuera de la jaula, una vez retirada la lona

Los resultados de la dispersión en un canal con velocidades de 5 y 10 m s<sup>-1</sup> respectivamente, para distancias de 30, 60 y 90 m corriente abajo de la jaula y con una dosis inicial de 100 ppb, mostraron que el agua liberada de la lona, posterior al tratamiento, conteniendo el residual del producto químico utilizado, se



desplaza en dirección de la corriente dispersando el principio activo, cerca de la superficie (Fig. 7). Estos resultados sugieren, que dicha masa de agua con el principio activo, se dispersa en la fase inicial de la mezcla con el agua del canal (segundos después de que se saca la lona), y que posteriormente viaja con la corriente de agua, alejando el principio activo. Las simulaciones muestran que a distancias de 30, 60 y 90 m corriente abajo, las concentraciones estarían bajo del umbral de los instrumentos de medida, pocos segundos después de retirada la lona.

## DISCUSIÓN

En Chile para el tratamiento de la parasitosis, los centros de cultivo deben implementar el tratamiento por baño utilizando sistemas cerrados (SERNAPESCA, 2012), que es uno de los métodos autorizados para el tratamiento farmacológico de peces con Caligidosis. Los tratamientos son administrados con agua de mar mediante mangueras con fugas que son introducidas dentro de la jaula. La forma en que operan las empresas en la distribución del producto farmacéutico para los tratamientos con agua de mar en las jaulas no ha sido completamente analizada como factor de efectividad del tratamiento, (Bravo *et al.*, 2008; Woo & Buschmann, 2012; Marín *et al.*, 2014; Page & BurrIDGE, 2014).

A nivel internacional, en los tratamientos de baños se han usado diferentes sistemas; sistemas cerrados con lonas que cubren la jaula completa incluido el fondo, sistemas de faldones que a diferencia del anterior excluyen cierre en el fondo de la jaula y wellboats. Los sistemas abiertos o de faldones no parecen apropiados (SEPA, 2008), pero han sido usados como alternativos al sistema cerrado bajo ciertas circunstancias, principalmente, en Escocia y Noruega (Corner *et al.*, 2007). Un análisis teórico del potencial de este sistema alternativo fue evaluado por estos autores, que usando un diseño experimental a escala de laboratorio, concluyen para el tratamiento mediante baño con cipermetrina, bajo diferentes velocidades de flujos de corrientes, que la pérdida del producto a través de la zona abierta puede ser menor que la que se presume. Se estima que el tiempo requerido para que la concentración inicial se reduzca en  $1 e^{-1}$  (cerca de 0,37) del valor original varió entre 1 y 18 h, posterior al tratamiento. Además sugieren que un sistema de baño abierto se puede constituir en una alternativa viable de estrategia de tratamiento, especialmente en cultivos en grandes sitios con mayores exposiciones donde no es posible desplegar un sistema cerrado de baño. La revisión del tratamiento de baños terapéuticos para el piojo de mar en relación a los valores de cipermetrina

en el punto de descarga y la distribución de corto plazo en tres sitios típicos de Escocia (Corner *et al.*, 2007), concluye de las experiencias realizadas con cipermetrina en jaulas sin presencia de peces, que la reducción en la concentración en la jaula es pequeña, lo que sugiere que la remoción por parte de la red, lona y cualquier contaminación biológica presente fue baja, permaneciendo gran parte del principio activo en el agua. En contraste, las experiencias realizadas en jaulas con peces, logran reducir la concentración de cipermetrina entre 1/3 y 1/4 de la dosis nominal aplicada a las jaulas, consumo que ocurre en un período relativamente corto durante el periodo del tratamiento.

Page & BurrIDGE (2014) en su estudio sobre transporte y dispersión de las terapias de baños para el piojo de mar en el sudoeste de New Brunswick de Canadá, concluyen que las concentraciones de la terapia dentro de una jaula es incierta, y que las cantidades requeridas para alcanzar las cantidades especificadas oficiales está en manos del personal a cargo. Las concentraciones que se alcanzan dependen de la exactitud estimada del volumen de agua en la jaula y grado en que se logra la mezcla en todo el volumen de agua. Se sostiene que al realizar un examen preliminar de una serie de fotografías de las concentraciones del colorante utilizado en experiencias realizadas para el seguimiento de la terapia y las mediciones de fluorometría realizadas dentro de jaula con lona cerrada, indicaría preliminarmente, que no siempre se logra una buena mezcla del producto en el volumen cerrado de agua, lo que podría incidir en la efectividad del tratamiento.

En Chile, un estudio de dispersión y dilución de piretroides (EULA, 2013), realizado en jaulas de los centros de cultivo y sus alrededores midió su efecto en *Mitylus chilensis*. Los resultados sugieren que durante el baño sanitario en la jaula, el principal mecanismo de dispersión del compuesto activo, es el movimiento del agua y las corrientes generadas al interior del sistema cerrado (jaula más lona). Esto concuerda con el presente análisis, basado en leyes físicas, de la dinámica de dispersión de estos elementos en el sistema.

Además se verificó en el estudio que la potencia de la bomba utilizada para impulsar el agua con el principio activo, forma y razón de aspecto de la jaula y disposición de las mangueras, influyen en la cobertura del tratamiento.

Las bombas de menor potencia presentaron la mejor cobertura, sobre todo en jaulas circulares. El parámetro usado para simular esta potencia, medido como caudal de la bomba fue barrido de 50 a 500 (L min) en un volumen de agua igual a 1.000 L. En el caso de jaula cuadrada este efecto es menor, pero se comporta

cualitativamente similar que el circular. Los bordes en la jaula cuadrada causan una mayor dinámica de vórtice, que explicarían la diferencia con la geometría de la jaula circular.

Considerando la forma y razón de aspecto de la jaula, es interesante que para efectos de eficiencia de la dispersión del producto químico aplicado por baño, en la mayoría de las simulaciones, se obtienen mejores resultados con la geometría cuadrada. Esto se explicaría por la combinación de la disposición de las mangueras y la geometría de la jaula. Con las disposiciones 2 y 3 de mangueras en una jaula circular (Fig. 3), se obtiene un régimen estable de corriente, impidiendo una mejor mezcla (fracciones de agua de la jaula permanecen en reposo), en cambio con la geometría cuadrada, se presenta una mayor componente aleatoria de posibles corrientes, permitiendo una mayor mezcla.

En términos de eficiencia, la cobertura converge sobre los 6 min una vez retirada las mangueras de la jaula y se requiere de 3-4 min para que la cobertura en la jaula cuadrada supere el 70%. Las disposiciones 2 y 3 de las mangueras fueron las más eficientes alcanzando una cobertura al interior de la jaula *ca.* 75%. El indicador de cobertura en la jaula cuadrada está sobre 70% del volumen de la jaula, mientras que para la jaula circular es inferior.

Para las otras variables estudiadas como densidad de peces en la jaula, diámetro de las perforaciones y distancia en la manguera de alimentación, no se observaron cambios significativos en la dinámica.

Finalmente, los resultados de estas simulaciones de dispersión una vez liberado al medio el producto antiparasitario, indican que el principio activo, se encontraría en una concentración tan baja, que sería indetectable por los instrumentos disponibles, a distancias entre 30 y 90 m corriente abajo de la ubicación de la jaula, pocos segundos después de retirada la lona. Sin embargo, los marcadores individuales adheridos computacionalmente al agua, permanecen en la corriente, durante todo el periodo que dura la simulación. Este último resultado, estaría de acuerdo con los estudios en New Brunswick, Canadá (Page *et al.*, 2000; Ernst *et al.*, 2001) quienes usaron colorantes adheridos en los compuestos farmacológicos que muestran que el principio activo se pudo detectar después de liberados en periodos de entre 2 y 5,5 h, donde las distancias recorridas por el colorante de la mancha variaron entre 900 y 3000 m. Un estimado de concentración en tres sitios estudiados en 1997 con salmón (*Salmo salar*) en New Brunswick, indicó que al comparar las concentraciones originales con las liberadas, las concentraciones finales alcanzan a una reducción del orden de magnitud de tres, entre 3 y 5 h después de la liberación. Recientemente, Page &

Burridge (2014) reconocen la gran cantidad de factores que influirían sobre el transporte, dispersión y dilución de pesticidas liberados en el tratamiento de baños desde la jaula, entre los cuales se mencionan la forma, tamaño y volumen del tratamiento del baño, volumen del pesticida utilizado, concentración, comportamiento del pesticida, duración del tratamiento, interacción con el fondo marino, entre varias otras.

Con estos resultados, se puede concluir, que la forma en que se realizan los baños sanitarios en la industria chilena, permite inyectar el principio activo a las jaulas, cubriendo al menos el 70% de su volumen; es decir, que en términos de diseminación en la jaula, el procedimiento actual utilizado por las empresas es correcto. Además, se muestran algunos resultados de la dispersión fuera de la piscina al liberar el producto antiparasitario al medio. En un trabajo futuro se pretende diseñar un experimento a escala, con el control de todas las variables involucradas en el procedimiento sanitario, para obtener mediciones reales y compararlas con este estudio teórico.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura que financió el proyecto "Elaboración y validación de protocolos para la aplicación de productos antiparasitarios en tratamientos mediante baños para el control de la caligidosis en salmónidos de cultivo". Código 2013-50-DAC-26. Además, agradecen las sugerencias y alcances realizados por tres revisores anónimos del trabajo, que permitieron mejorar significativamente el documento.

## REFERENCIAS

- Aquanoticias. 2013. Control de *Caligus*: taller de Novartis aborda buenas prácticas para baño con lona cerrada. [<http://www.aqua.cl/2013/08/01/control-de-caligus-taller-de-novartis-abordo-buenas-practicas-para-banos-con-lona-cerrada/>]. Revisado: 10 diciembre 2015.
- Begum, R. & M. Abdul-Basit. 2008. Lattice Boltzmann method and its applications to fluid flow problems. *Eur. J. Sci. Res.*, 22(2): 216-231.
- Boxshall, G.A. & S. Bravo. 2000. On the identity of the common *Caligus* (Copepoda): Siphonostomatoida: Caligidae) from salmonid net pen systems in southern Chile. *Contrib. Zool.*, 69: 137-146.
- Bravo, S., S. Sevatdal & T.E. Horsberg. 2008. Sensibility assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectine benzoate in Chile. *Aquaculture*, 282: 7-12.
- Bravo, S., H. Dolz, M.T. Silva, C. Lagos, A. Millanao & M. Urbina. 2005. Diagnóstico del uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura. Universi-

- dad Austral de Chile. Facultad de Pesquerías y Oceanografía, Instituto de Acuicultura, Puerto Montt, Chile. Informe Final Proyecto N°2003-28: 256 pp.
- Burridge, L., J.S. Weis, F. Cabello, J. Pizarro & K. Bostick. 2010. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306: 7-23.
- Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.*, 8: 1137-1144.
- Cancelliere, A., E. Chan, E. Fotu, D. Rothman & S. Succi. 1990. The permeability of a random media: comparison of simulation with theory. *Phys. Fluids A*, 2(12): 2085-2088.
- Carvajal, J., L. González & M. George-Nascimento. 1998. Native sea lice Copepoda: Caligidae infestation in salmonids reared in net pen systems in southern Chile. *Aquaculture*, 166: 241-246.
- Centro de Ciencias Ambientales (EULA). 2013. Determinación del posible impacto de la cipermetrina y deltametrina en el medio marino y su efecto en *Mytilus chilensis*. Informe Final, Centro EULA Chile, Universidad de Concepción, Concepción, 84 pp.
- Chen, S. & G.D. Doolen. 1998. Lattice Boltzmann method for fluid flows. *Annu. Rev. Fluids Mech.*, 30: 329-364.
- Chen, S., H. Chen, D. Martinez & W. Mattaues. 1991. Lattice Boltzmann Model for simulation of magneto hydrodynamics. *Phys. Rev. Lett.*, 67(27): 3776.
- Corner, R.A., J. Marshall, B. Hadfield, K. Gowrie, C. Wallace, P. Davis, C. Price & T.C. Telfer. 2007. A review of the sea lice bath treatment dispersion model used for discharged consenting in Scotland. University of Stirling, 63 pp. [<http://www.sarf.org.uk/cms-assets/documents/28803-733100.sarf023-final-report-may-2008.pdf>]. Revisado: 20 noviembre 2015.
- Costello, M.J. 2006. Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends Parasitol.*, 22: 475-483.
- Costello, M.J. 2009. How sea lice from salmon farms may cause wild salmonid declines in Europe and North America and be a threat to fishes elsewhere. *Proc. Biol. Sci.*, 276: 3385-3394.
- Csanady, G.T. 1973. Turbulent diffusion in the environmental. D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, 248 pp.
- Ernst, W., P. Jackman, K. Doe, F. Page, G. Julien, K. Mackay & T. Sutherland. 2001. Dispersion and toxicity to non-target aquatic organisms of pesticides used to treat sea lice on salmon in net-pen enclosures. *Mar. Pollut. Bull.*, 42(6): 433-444.
- Flórez, E., I. Cuesta & C. Salueña. 2008. Flujo de Poiseuille y la cavidad con pared móvil calculado usando el método de la ecuación de Lattice Boltzmann. *Rev. Cient. Ing. Des.*, 24: 117-132.
- Frisch, U., D. d'Humieres, B. Hasslacher, P. Lallemand, Y. Pomeau & J.P. Rivet. 1987. Lattice gas hydrodynamics in two and three dimension. *Complex Syst.*, 1: 649-707.
- Higuera, S., S. Succi & E. Foti. 1989. 3-dimensional flows in complex geometries with the Lattice Boltzmann Method. *Europhys. Lett.*, 10(5): 433-438.
- Johnson, S.C., J.W. Treasurer, B. Bravo, K. Nagasawa & Z. Kabata. 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zool. Stud.*, 43(2): 229-243.
- Krkošek, M., J.S. Ford, A. Morton, S. Lele, R.A. Myers & M.A. Lewis. 2007. Declining wild salmon populations in relation to parasites from farm salmon. *Science*, 318: 1772-1775.
- Lafferty, K.D., C.D. Harvell, J.M. Conrad, C.S. Friedman, M.L. Kent, A.M. Kuris, E.N. Powell, D. Rondeau & S.M. Saksida. 2015. Infectious diseases affect marine fisheries and aquaculture economics. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 2015. 7: 471-496. [<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015646>]. Revisado: 1 diciembre 2015.
- Mackay, D., S. Wan-Ying, M. Kuo-Chin & S. Chi-Lee. 2006. Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Taylor & Francis Group, Boca Ratón, Vol. 1-4: 4.216 pp.
- Marín, S., J. Carvajal, A. Manriquez & M. Mancilla. 2009. Effects of experimental infection by *Caligus rogercresseyi* (Copepoda: Caligidae) on the common jollytail, *Galaxias maculatus* (Osmeriforme: Galaxiidae) (Jenyns, 1842) in Chile. *Aquaculture*, 295: 138-141.
- Marín, S., R. Martin & R. Lewis. 2014. Effects of *Caligus rogercresseyi* (Boxshall & Bravo, 2000) chalimus stage condition condition (dead, moribund, live) on the estimates of Cypermethrin BETAMAX® efficacy. *Aquacult. Res.*, 46: 30-16.
- Page, F., B. Chang, W. Ernst, G. Julien & R. Losier. 2000. Research on the dispersion of sea louse pesticides in the marine environment. In: Science Review 1996 & 1997 of the Bedford Institute of Oceanography, Gulf Fisheries Centre, Halifax Fisheries Research Laboratory, and the St. Andrews Biological Station. Fisheries Research Maritimes Region, Dartmouth, NS. <http://www2.mar.dfo-mpo.gc.ca/science/review/1996/Page/Page%20e.html>]. Revisado: 12 diciembre 2015.
- Page, F.H & L.E. Burridge. 2014. Estimates of the effects of sea lice chemical therapeutants on non-target organism associated with releases of therapeutants from tarped net-pens and well-boat bath treatments: a discussion, DFO Can, Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2014/103. [<http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/publi>]

- cations/resdocs-docrech/2014/2014\_103-eng.pdf]. Revisado: 13 diciembre 2015.
- Quintanilla, J.C & F. Schulze. 2014. Elaboración y validación de protocolos para la aplicación de productos antiparasitarios en tratamientos mediante baños para el control de la caligidosis en salmónidos de cultivo. Informe Final, Instituto de Fomento Pesquero. Valparaíso, Chile, 128 pp. [[http://biblioteca.ifop.cl/exlibris/aleph/a20\\_1/apache\\_media/76VCYQAV79DNXRU739G9ANQG4M6GHR.pdf](http://biblioteca.ifop.cl/exlibris/aleph/a20_1/apache_media/76VCYQAV79DNXRU739G9ANQG4M6GHR.pdf)]. Revisado: 5 diciembre 2015.
- Riff, C. 2004. Computational fluid dynamics (CFD). Modeling [[http://www.uic.edu/labs/AMReL/RETreport12-31\\_Chris.Riff.pdf](http://www.uic.edu/labs/AMReL/RETreport12-31_Chris.Riff.pdf)]. Revisado: 10 diciembre 2015.
- Saksida, S.M., D. Morrison, M. Sheppard & I. Keith. 2011. Sea lice management on salmon farms in British Columbia, Canada. In: S. Jones & R. Beamish (eds.). Salmon lice: an integrated approach to understanding parasite abundance and distribution. Wiley-Blackwell, Chichester, pp. 235-278.
- Scottish Environment Protection Agency (SEPA). 2008. Fish farm manual Annex G Bath treatment model assessment version 2.2 dated October 2008 and Attachment VIII Site and Hydrographic survey Requirements for Applications for Consent to Discharge from Marine Cage Salmon Farms. [[www.sepa.org.uk/media/114774/ffm\\_anx\\_g.pdf](http://www.sepa.org.uk/media/114774/ffm_anx_g.pdf)]. Revisado: 15 noviembre 2015.
- Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). 2012. Res. EX N° 1141. EPASChile. [[http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com\\_remository&Itemid=246&func=fileinfo&id=5978](http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=fileinfo&id=5978)]. Revisado: 10 diciembre 2015.
- Succi, S. 2001. The Lattice Boltzmann equation for fluid dynamics and beyond. Numerical mathematics and scientific computation. Clarendon Press, Oxford, 308 pp.
- Succi, S., P. Santangelo & R. Benzi. 1988. High resolution lattice-gas simulation of two-dimensional turbulence. Phys. Rev. Lett., 60: 2738-2741.
- Wang, C., Z. Wang, T. Xia & Q. Peng. 2006. Real-time snowing simulation. Visual. Comput., 22: 315-323.
- Wei, X., Y. Zhao, Z. Fan, W. Li, S. Yoakum-Stover & A. Kaufman. 2003. Blowing in the wind. Proceedings of Eurographics Symposium on Computer Animation, pp. 75-85.
- Willis, K.J. & N. Ling. 2004. Toxicity of the aquaculture pesticide cypermethrin to planktonic marine copepods. Aquacult. Res., 35(3): 263-270.
- Woo, P.T.K. & K. Buschmann. 2012. Fish parasites: pathobiology and protection. British Library, London, 371 pp.

*Received: 13 January 2015; Accepted: 12 September 2016*