



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA
MORTALIDAD POR SEPTICEMIA RICKETTSSIAL DEL SALMÓN
EN LAS REGIONES DE LOS LAGOS Y DE AYSÉN, CHILE**

CATALINA DE LA PAZ FLORES ARIAS

Memoria para optar al
Título Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: DR. SANTIAGO URCELAY VICENTE

**SANTIAGO, CHILE
2012**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA MORTALIDAD POR SEPTICEMIA RICKETTSIAL DEL SALMÓN EN LAS REGIONES DE LOS LAGOS Y DE AYSÉN, CHILE

CATALINA DE LA PAZ FLORES ARIAS

Memoria para optar al
Título Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva Animal

	CALIFICACIÓN	FIRMA
PROFESOR GUÍA: DR. SANTIAGO URCELAY V.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO: DR. LUIS IBARRA M.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO: DR. PEDRO SMITH S.	_____	_____

SANTIAGO, CHILE
2012

*A mis padres, por su apoyo y amor
siempre incondicionales...*

I. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a todas las personas que me prestaron su ayuda en la elaboración de este proyecto. A mi profesor guía, el Dr. Santiago Urcelay y su colaborador, el Dr. Gabriel Arriagada, por su orientación y apoyo durante esta investigación. Al Dr. Luis Ibarra, por su buena disposición para colaborar con la interpretación del análisis estadístico. Al Dr. Pedro Smith, por sus consejos y comentarios en cuanto a los resultados obtenidos, y al Dr. Julio Di Rienzo, de la Universidad de Córdoba, Argentina, por su colaboración en el análisis estadístico de los datos y construcción del modelo.

También les agradezco a todos mis amigos y compañeros, por sus consejos, apoyo y amistad durante todos mis años de estudio en esta escuela, y con quienes compartí una de las etapas más importantes de mi vida.

Finalmente, y no menos importante, quisiera agradecer de manera muy especial, a todos los miembros de mi familia que han estado conmigo a través de mis años de estudio. A mis padres, Mario y Rosenda, por el infinito esfuerzo que hicieron para brindarme la mejor educación, tanto valórica como académica. A mi hermana Paulina por su buena voluntad para ayudarme, apoyarme y aconsejarme cuantas veces fue necesario. A mi novio Víctor, quien me ha brindado su apoyo y consejo de forma incondicional durante este proceso. Sé que seguirán haciéndolo en esta nueva etapa de mi vida, con el cariño de siempre.

II. RESUMEN

El inicio de la producción comercial de salmónidos en Chile, trajo consigo la emergencia de una serie de patologías que afectaron enormemente esta industria, siendo la piscirickettsiosis una de las más emblemáticas a nivel nacional.

En este estudio se estimaron los principales factores de riesgo para la presentación de la septicemia rickettsial del salmón (SRS) en las regiones de Los Lagos y Aysén, y la eficacia que tiene la vacunación en condiciones productivas, en salmón coho y trucha arcoíris.

Para llevar a cabo la estimación de los factores de riesgo se realizó un estudio observacional retrospectivo del período 2006 – 2007, describiéndose la relación existente entre factores ambientales y de manejo con el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS, mediante una regresión lineal múltiple. Los factores incluidos en el modelo fueron especie cultivada, tipo de instalación de origen de los “smolts”, vacunación contra SRS, presencia de otra patología durante el ciclo de engorda, porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a rezago, porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas, número de terapias antimicrobianas aplicadas y semanas de descanso de las jaulas.

Como resultado del estudio se obtuvo un promedio de porcentaje mortalidad acumulada atribuible a SRS de 10,4%. Los factores asociados a un mayor porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS fueron la especie trucha arcoíris, las instalaciones de origen de los “smolts” de tipo estuario, lago y mixto, la presencia de síndrome icterico como otra patología asociada al ciclo de engorda y las mortalidades acumuladas atribuibles a rezago y causas físicas. Se asoció a un menor porcentaje de mortalidad a causa de piscirickettsiosis sólo un mayor número de semanas de descanso de las jaulas. La variable vacunación contra SRS trajo resultados confusos y no se asoció de forma significativa a la mortalidad por esta patología.

III. SUMMARY

The beginning of the salmonid fish commercial production in Chile brought with self the emerging of a group of pathologies witch enormously affected this industry, being piscirickettsiosis one of the most national emblematic ones.

In this study the mayor risk factors for the rickettsial salmon septicemia (SRS) presentation in Los Lagos and Aysén regions, plus the vaccination efficacy in productive conditions in coho salmon and rainbow trout were estimated.

To accomplish the risk factor estimation a retrospective observational study from the 2006 – 2007 period was realized, describing the relationship that exists between ambient and management factors and the accumulate mortality percent attributable to SRS, through a multiple linear regression analysis. The risk factors included in this model were cultivated species, kind of “smolts” origin installation, vaccination against SRS, presence of other pathology during the fattening period, accumulate mortality percent attributable to drop, accumulate mortality percent attributable to physical causes, number of antibiotic therapies applied and rest weeks from cages.

As result from this study a media of 10,4% of accumulate mortality percent attributable to SRS was obtained. The risk factors associated with a mayor accumulate mortality percent attributable to SRS were the rainbow trout specie, the “smolts” origin installation estuary, lake and mixed ones, the presence of jaundice syndrome as other pathology associated during the fattening period and the accumulate mortalities percents attributable to drop and physical causes. A mayor rest period from the cages was associated to a minor accumulate mortality percent attributable to piscirickettsiosis. The variable vaccination against SRS brought confounding results and wasn't statistically associated with the mortality by this pathology.

VI. ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
A. HISTORIA.....	3
B. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	3
C. AGENTE CAUSAL.....	4
D. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	5
E. PATOLOGÍA	8
G. TRATAMIENTO	11
H. CONTROL.....	11
I. PREVENCIÓN.....	13
J. SITUACIÓN NACIONAL.....	14
3. OBJETIVOS.....	17
4. MATERIAL Y MÉTODOS	18
A. DEFINICIÓN DEL TIPO DE ESTUDIO.....	18
B. DISEÑO DEL ESTUDIO	18
C. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS	21
D. CONSTRUCCIÓN DEL MODELO	22
E. VALIDACIÓN DEL MODELO	23
5. RESULTADOS.....	25
A. ANÁLISIS DE LA VARIABLE RESPUESTA.....	25
B. REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE VARIABLES PREDICTORAS.....	26
i. <i>Variables con alto número de datos faltantes</i>	26
ii. <i>Análisis de asociaciones incondicionales</i>	27
iii. <i>Análisis de correlación univariado</i>	28
C. ESPECIFICACIÓN DE LA ESTRATEGIA DE SELECCIÓN DE VARIABLES	28

D. MODELO DE REGRESION LINEAL MÚLTIPLE.....	29
<i>i. Interpretación de variables categóricas.....</i>	31
<i>ii. Interpretación de variables continuas.....</i>	32
E. VALIDACION DEL MODELO.....	33
6. DISCUSIÓN.....	35
7. CONCLUSIONES.....	42
8. BIBLIOGRAFÍA.....	44

VII. ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1: Predictores del modelo estadístico, descripción y justificación.</i>	<i>19</i>
<i>Tabla 2: Medidas resumen de estadística descriptiva de la variable “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS” (mort_srs).</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 3: Número de observaciones y datos faltantes de las variables que fueron eliminadas del modelo.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 4: Variables predictoras que presentaron asociación incondicional con el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (mort_srs).</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 5: Análisis de regresión lineal.</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 6: Coeficientes de regresión y estadísticos asociados.....</i>	<i>30</i>

VII. ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Histograma de distribución de frecuencias de la variable “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS” (mort_srs).26

Ilustración 2: Histograma de frecuencia relativa versus residuos del logaritmo natural del porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (ln_mort_srs).33

Ilustración 3: Gráfico cuantil-cuantil de cuantiles de los residuos versus cuantiles de una distribución normal.33

1. INTRODUCCIÓN

Cuando se inició la producción de salmónidos a nivel comercial en el país en la década de los 80 (Cubillos *et al.*, 2001), comenzó el auge de una serie de patologías que nunca antes se habían presentado en el país. Este hecho fue debido al ingreso de especies exóticas que no presentaban los mecanismos naturales de defensa contra patógenos endémicos, o bien debido al estrés producto del confinamiento en los sistemas productivos (Mauel y Miller, 2002). Una de estas enfermedades es la piscirickettsiosis, también conocida como “septicemia rickettsial del salmón” (SRS).

La piscirickettsiosis es una enfermedad septicémica producida por la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, la cual fue descubierta en las costas de la región de Los Lagos en el año 1989 (Fryer *et al.*, 1992). Esta bacteria fue el primer microorganismo “rickettsia-like” (grupo de bacterias intracelulares obligadas) reconocido como un agente patógeno en peces cultivados (Mauel y Miller, 2002).

En los salmónidos produce un cuadro multisistémico, cuya peculiaridad es la producción de una anemia marcada y hemorragias viscerales, las cuales finalmente determinan una elevada mortalidad, principalmente en etapa de engorda, que en los peores casos ha llegado a superar el 90% (Fryer y Hedrick, 2003), siendo la principal enfermedad que causa problemas en la acuicultura chilena (Mauel y Miller, 2002).

Debido a esto, es que resulta de vital importancia, desde el punto de vista productivo, la introducción de medidas de control eficaces para disminuir las pérdidas económicas producidas por esta enfermedad, tanto por la mortalidad que produce como por gastos en tratamientos.

Múltiples terapias antimicrobianas se han utilizado durante los últimos años, sin embargo, ninguna de ellas ha tenido resultados satisfactorios para la industria. Es

por esto que múltiples autores han investigado acerca de la utilización de vacunas como método de prevención de la piscirickettsiosis (Fryer y Hedrick, 2003).

A causa de lo mencionado anteriormente, es que resulta fundamental determinar los factores de riesgo tanto ambientales como de manejo que inciden en la presentación de esta patología, así como la efectividad en terreno de la vacunación contra *P. salmonis*, para de esta forma proponer estrategias de control efectivas y atingentes a la realidad nacional, ya que tanto la piscirickettsiosis como otros síndromes causados por bacterias similares, son un grupo de enfermedades emergentes que afectarán, sin duda, la industria productiva del salmón en nuestro país (Mauel y Miller, 2002).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. HISTORIA

La piscirickettsiosis, también conocida como síndrome rickettsial del salmón (SRS), es una enfermedad que afecta a los salmónidos produciendo elevadas mortalidades. Fue descubierta en Chile en el año 1989, en el canal de Huito, Calbuco, produciendo la muerte de 1.500.000 peces en tamaño comercial (Fryer *et al.*, 1992; Almendras y Fuentealba, 1997).

En un inicio, se sospechó que el agente causal de esta patología asociada a los salmónidos pertenecía a una bacteria de la familia *Rickettsiaceae*. Sin embargo, luego de un análisis taxonómico exhaustivo, Fryer y colaboradores determinaron que las características de este agente no eran atribuibles a la familia mencionada, ya que pertenecía a las gamma proteobacterias, incluyéndola así en una nueva familia llamada *Piscirickettsiaceae* (Fryer *et al.*, 1992). A pesar de esto, estudios estructurales recientes indican que esta bacteria presenta un fuerte parecido a una enterobacteria endotóxica (Olivares y Marshall, 2010), por lo que probablemente sea reclasificada nuevamente.

Así, esta bacteria se convierte en el primer patógeno Gram-negativo e intracelular aislado de salmónidos, siendo una causa significativa de mortalidad (Fryer y Hedrick, 2003).

B. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Se describe a esta enfermedad como endémica en la mayoría de los centros de cultivo de la Región de Los Lagos, Chile (Larenas *et al.*, 2000). También se ha descrito la patología en salmones de los mares de Irlanda, Escocia, Noruega, en ambas costas de Canadá (Fryer y Hedrick, 2003) y recientemente en Tasmania (McCarthy *et al.*, 2008).

Además, se establece la presencia de la bacteria en peces no salmónidos cultivados, como la corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) en los Estados Unidos de América y la corvina europea (*Dicentrarchus labrax*) en las costas de Grecia (McCarthy *et al.*, 2008).

C. AGENTE CAUSAL

El agente causal de esta enfermedad septicémica es la bacteria *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov. La cepa de referencia corresponde a la cepa LF-89, la cual corresponde al primer aislado realizado en Chile en 1989, por Fryer y colaboradores (Fryer *et al.*, 1992). Este aislado corresponde a la cepa más virulenta de todas las cepas aisladas a nivel mundial, llegando incluso a pérdidas de un 97% (Fryer y Hedrick, 2003). Las mortalidades asociadas a este agente varían dependiendo de la región geográfica y de la especie hospedera (Mauel *et al.*, 1999).

P. salmonis fue hasta hace poco tiempo considerada un patógeno intracelular obligado (Fryer *et al.*, 1992), sin embargo estudios recientes dan cuenta que en realidad es un patógeno intracelular facultativo, ya que fue cultivado en agar sangre enriquecido, lo que facilita enormemente su cultivo y aislamiento en el laboratorio (Mauel *et al.*, 2008).

Se clasifica como un microorganismo Gram-negativo, inmóvil, no encapsulado, pleomórfico, habitualmente cocoide, en pares o en forma de anillos y de un tamaño variable entre 0,5 – 1,5 μm de diámetro. Replica por fisión binaria dentro de las células del hospedero mediante inclusiones citoplasmáticas unidas a la membrana o en cultivos celulares, produciendo efecto citopático (Fryer *et al.*, 1992; Fryer y Hedrick, 2003).

D. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

En un inicio se pensó que la piscirickettsiosis estaba asociada sólo al salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), sin embargo estudios posteriores de infectividad determinaron que también afecta a la trucha arcoíris (*O. mykiss*), al salmón japonés (*O. masou*) y al salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Fryer *et al.*, 1992). Posteriormente se estableció también la presencia de casos crónicos de SRS en el salmón real (*O. tshawytscha*) y en el salmón rosado (*O. gorbuscha*) (Fryer y Hedrick, 2003).

A pesar de afectar a variadas especies de salmónidos, la principal especie afectada por esta patología es el salmón coho (Fryer y Hedrick, 2003), con las tasas de mortalidad más elevadas (Fryer y Mael, 1997).

Los primeros brotes de la enfermedad se relacionaron con un periodo posterior a estrés ambiental. Las epizootias se presentan especialmente entre otoño y primavera cuando las temperaturas oscilan entre los 9 – 16°C (Larenas *et al.*, 2000).

Las mortalidades por piscirickettsiosis se presentan dentro de seis a doce semanas luego de introducir los salmones a jaulas de mar (Fryer *et al.*, 1992), lo que sugiere que *P. salmonis* es una bacteria de origen marino, y posiblemente proveniente de un reservorio del mismo origen (Fryer y Hedrick, 2003). Sin embargo, hasta la fecha no se ha podido establecer la importancia de reservorios o vectores marinos en la diseminación del agente, aunque se ha observado la presencia esta bacteria en tejidos de moluscos, peces silvestres y crustáceos (Larenas *et al.*, 2000).

Se han visto casos de piscirickettsiosis en estuarios, y con bastante menor frecuencia en agua dulce (Larenas *et al.*, 2005).

Los “smolts” (salmónido en estado juvenil, en periodo pre-adaptación fisiológica y física para la vida marina) (Crespi y Coche, 2008) de estuario tienen más

posibilidades de presentar brotes tempranos de SRS que aquellos provenientes de centros de agua dulce. Además hay que señalar que esta probabilidad aumenta significativamente si se trata de “smolts” de estuarios trasladados a engorda en los meses de mayor temperatura y que han permanecido por periodos de tiempo prolongados en ambiente estuarino (mayor a 2 – 3 meses) (Leal y Woywood, 2007).

La transmisión horizontal ocurre en agua salada gracias a que *P. salmonis* presenta una gran sobrevivencia en este ambiente (Larenas *et al.*, 2005). La eliminación de la bacteria ocurre a través de las heces y la orina de los peces infectados, y en especial por aquellos que presentan signos clínicos de la enfermedad (Larenas, 1999).

Sin embargo, debido a que existe transmisión horizontal del agente en agua dulce, se especula que existe un mecanismo para proteger a la bacteria del ambiente hipotónico (Larenas *et al.*, 2005).

En forma experimental se demostró que *P. salmonis* puede ingresar a su hospedero a través de las agallas y la piel sin lesiones, siendo ésta última la vía de ingreso más efectiva del patógeno (Smith *et al.*, 1999).

El ingreso de la bacteria por vía oral no es una importante ruta de transmisión de esta enfermedad, lo cual puede ser debido al pH del estómago o las enzimas digestivas. El ingreso a través del intestino es más efectivo, sin embargo infecciones ascendentes a través del orificio anal o el ingreso de la bacteria sin inactivarse en el estómago previamente son poco probables en el ambiente natural (Smith *et al.*, 1999).

Por otra parte, se estableció que la inoculación experimental de forma subcutánea del agente produce elevadas mortalidades, por lo que se piensa que debido a la elevada sobrevivencia del microorganismo en agua salada, junto a la presencia de

ectoparásitos como *Caligus sp.* y *Ceratothoa gaudichaudii* o lesiones traumáticas en la piel, favorecerían la diseminación de la infección (Smith *et al.*, 1999).

Es importante señalar que tanto en *Caligus sp.* como en *C. gaudichaudii* se ha detectado la presencia de *P. salmonis* mediante el test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) (Smith *et al.*, 1999; Fryer y Hedrick, 2003), hecho que podría jugar un rol importante en la transmisión de la enfermedad, pero que no se ha probado.

En cuanto a la transmisión vertical, hay estudios que señalan que *P. salmonis* puede ser transmitida de forma experimental, ya sea de machos o hembras a la progenie en trucha arcoíris. Sin embargo sólo se ha detectado hasta la fase “alevín ojo” (estado larval del pez) (Crespi y Coche. 2008), desconociéndose la persistencia de la bacteria en etapas posteriores del desarrollo (Larenas *et al.*, 2003).

Posteriormente se demostró que el agente puede penetrar ovas de trucha arcoíris de forma experimental durante el periodo de fertilización, ya que la bacteria se ha encontrado en fluido celómico y seminal. Esto ocurre mediante la unión inicial de la bacteria a las ovas mediante estructuras que han sido denominadas “complejo de adhesión piscirickettsial” o CAP, las cuales se forman a partir de la membrana externa de la bacteria hacia el corion del óvulo. A partir de estas ovas se obtuvo alevines viables que no presentaron signos clínicos de la infección, los cuales pueden ser refractarios a la enfermedad o bien actuar como portadores asintomáticos (Larenas *et al.*, 2003).

Sin embargo aún no hay antecedentes de transmisión vertical en salmones de cultivo como el salmón coho, salvo por un estudio que indicó aproximadamente un 12% de infectividad en ovas provenientes de padres infectados (Larenas *et al.*, 2005).

Hasta la fecha no hay antecedentes de individuos adultos con signología clínica de piscirickettsiosis, sean o no positivos a la bacteria mediante serología. Esto permite

suponer que el individuo adulto es menos susceptible a la enfermedad clínica, y puede actuar como un portador asintomático (Larenas *et al.*, 2003).

Es importante considerar el rol que juegan otras patologías en la severidad de los cuadros de SRS. Larenas (1999) descubrió que peces infectados con *Renibacterium salmoninarum*, agente causal de la “enfermedad bacteriana del riñón” (BKD), presentan cuadros más severos de piscirickettsiosis, ya que a esta bacteria se le atribuyen propiedades inmunosupresoras.

El síndrome icterico, otra patología frecuente de encontrar asociada a SRS, acentuaría la severidad de los brotes de piscirickettsiosis, e incluso actuaría como un factor predisponente (Valdenegro, 2005).

E. PATOLOGÍA

La patología de esta enfermedad consiste en una infección sistémica, la cual es demostrada gracias a la presencia de macrófagos infectados en los frotis de sangre obtenidos de individuos con un cuadro severo de SRS (Fryer y Hedrick, 2003).

La enfermedad se inicia cuando la bacteria es capaz de romper las barreras iniciales del ingreso del agente, que son la piel y las agallas. Luego se produce una replicación de la bacteria y su dispersión en el organismo vía hematogena, produciendo el cuadro sistémico (Fryer y Hedrick, 2003).

Algunos autores sugieren que *P. salmonis* es una agente inmunosupresor que podría predisponer a la acción de otros patógenos, debido a la necrosis que produce en los tejidos inmunoematopoyéticos (Larenas, 1999).

El signo externo más evidente durante la infección con *P. salmonis*, son las branquias pálidas debido a una anemia significativa, sin embargo no es un signo patognomónico de la enfermedad (Corbeil y Crane, 2009). El hematocrito en los

peces afectados puede disminuir hasta alcanzar valores tan bajos como un 2%, siendo el valor promedio un hematocrito de 18,5%, comparado con el valor del hematocrito de un pez sano que varía entre un rango de un 35 a un 50% (Fryer y Hedrick, 2003).

En los peces gravemente infectados se puede observar que presentan un color oscuro en la piel, anorexia, letargo y distrés respiratorio. En ellos también pueden aparecer lesiones blancas en la piel (las cuales podrían convertirse en úlceras superficiales), hemorragias perianales y perioculares, petequias en el abdomen, así como afecciones en el cerebro que provocan cambios conductuales en los peces, como un comportamiento anormal al nadar. Adicionalmente pueden presentarse exoftalmia bilateral y estomatitis ulcerativa. Individuos con una afección leve pueden no presentar signos externos (Almendras y Fuentealba, 1997; Fryer y Hedrick, 2003).

Los signos internos son riñón inflamado y descolorido y bazo agrandado, ascitis en el peritoneo y hemorragias en la grasa visceral, el estómago, la vejiga natatoria y la musculatura corporal (Fryer y Hedrick, 2003). En el hígado aparecen nódulos piogranulomatosos agrupados, multifocales, de color blanquecino o amarillento (Corbeil y Crane, 2009), las cuales se presentan en los individuos severamente afectados, que corresponden a menos del 20% del total de afectados de la población (Fryer y Hedrick, 2003).

Microscópicamente se puede encontrar necrosis multifocal de los hepatocitos en el hígado; necrosis vascular y perivascular en el hígado y coagulación intravascular; células hematopoyéticas en el parénquima riñón y del bazo (señales de la fase aguda de la enfermedad); necrosis y posterior inflamación granulomatosa en el intersticio del riñón y del bazo; necrosis, hemorragia e inflamación crónica en la lámina propia del intestino; también puede observarse meningitis, endocarditis, peritonitis, pancreatitis, y bronquitis asociados a cambios vasculares; y también se

ha reportado que el ovario se ve afectado en algunas infecciones en salmón coho (Fryer y Hedrick, 2003).

F. DIAGNÓSTICO

Es posible obtener un diagnóstico preliminar mediante un examen histológico, donde se puede encontrar el microorganismo en vacuolas dentro del citoplasma las células afectadas de hígado, riñón, bazo o cultivos celulares, mediante las tinciones de hematoxilina y eosina (H&E), Gram, Giemsa, naranja de acridina y azul de metileno (Fryer y Mael, 1997; Fryer y Hedrick, 2003).

Para la confirmación de *P. salmonis* pueden realizarse pruebas serológicas a partir de las mismas muestras, ya sea mediante inmunofluorescencia o inmunohistoquímica (Fryer y Mael, 1997). También se describe el uso del PCR anidado para el diagnóstico del agente, el cual es más sensible, específico y rápido que los otros métodos diagnósticos, y puede realizarse a partir de muestras obtenidas de peces infectados o cultivos celulares (Mael *et al.*, 1999).

Otro método para llegar al diagnóstico definitivo de SRS es mediante el aislamiento de *P. salmonis* en cultivo celular (Fryer y Hedrick, 2003), o bien en un medio de cultivo enriquecido que permite el aislamiento de la bacteria en 2 ó 3 días (Mael *et al.*, 2008). Los tejidos apropiados para llevar a cabo este procedimiento son el riñón, el hígado y la sangre obtenidos durante la etapa activa de infección, y para el transporte de estos tejidos no debe usarse ningún antibiótico (Fryer y Hedrick, 2003). Sin embargo, este método resulta ser más engorroso que el descrito anteriormente, debido a la sensibilidad de la bacteria a los antimicrobianos comúnmente usados en los cultivos celulares y medios de transporte (Fryer y Mael, 1997).

G. TRATAMIENTO

En cuanto al tratamiento, la terapia antibacteriana proporciona beneficios, pero no es totalmente efectiva para el control de la enfermedad (Corbeil y Crane, 2009). Esto se debe a la aparición de resistencia antimicrobiana de algunas cepas, y a la variabilidad en los tiempos y dosis de administración de las drogas (Larenas *et al.*, 2000), junto con la dificultad para alcanzar concentraciones intracelulares suficientes de la droga para eliminar o destruir la bacteria (Fryer y Hedrick, 2003). A su vez, hay estudios que indican que algunos antibacterianos usados en acuicultura son antagonizados por los cationes del agua de mar, o bien son inactivados en el intestino de los peces tratados, pese a las elevadas cantidades utilizadas (Almendras y Fuentealba, 1997).

Actualmente se utilizan el ácido oxolínico y la oxitetraciclina vía oral para el tratamiento de SRS, sin embargo, la eficacia de este tratamiento es inconsistente, lo cual puede deberse a que la respuesta a estos medicamentos es lenta y se requieren repetidas aplicaciones para asegurar su eficacia (Fryer y Hedrick, 2003).

H. CONTROL

Para disminuir las pérdidas por piscirickettsiosis es recomendable disminuir la densidad poblacional por jaula, existiendo una aparente relación entre la densidad y la temperatura del agua, siendo 14° C y 20 kg/m³ los valores óptimos para la aparición de la enfermedad (Larenas *et al.*, 1997). A esta medida se puede adicionar criar individuos de una misma edad en cada sitio (Fryer y Hedrick, 2003).

También como medida de manejo se debe disminuir al mínimo las condiciones de estrés, como vacunaciones, cambios de redes, tratamientos inyectables, desparasitaciones externas, etcétera. Además es necesario hacer una pronta extracción de los peces moribundos ya a que ellos eliminan la bacteria al ambiente (Larenas *et al.*, 2000).

A su vez, se recomienda evitar la presentación de factores primarios que produzcan lesiones en la piel, como erosiones y úlceras, ya sean de origen traumático como causadas por ectoparásitos (Larenas *et al.*, 2000). Junto a esto último, es indispensable hacer un adecuado control de ectoparásitos, ya que podrían actuar como vectores de la enfermedad (Fryer y Hedrick, 2003).

También es importante controlar infecciones concomitantes a la piscirickettsiosis (Larenas *et al.*, 2000), reducir el período de engorda en jaulas de mar junto con el ingreso de “smolts” de buen tamaño (Leal y Woywood, 2007), chequear los fluidos seminal y ovárico de reproductores debido a la posible transmisión vertical (Larenas *et al.*, 2003), y trasladar los “smolts” directamente desde centros de agua dulce a mar, evitando el paso por estuario (Leal y Woywood, 2007).

Otra alternativa es reducir la permanencia de los “smolts” en los estuarios, de esta manera ingresan peces de mayor peso a la engorda (30 – 50 g), momento en que se produce el primer contacto con *P. salmonis*, y se acorta el periodo de cultivo en ambiente estuarino (Leal y Woywood, 2007).

Es importante señalar que la fase de agua dulce en el proceso productivo del salmón, puede afectar el desempeño sanitario de la etapa de engorda desde diversos puntos de vista. El peso del “smolt” que ingresa a engorda juega un rol importante, ya que uno de mayor calibre resiste de mejor manera el estrés del cambio de ambiente y el parasitismo temprano por *Caligus sp.* También influyen manejos como la dispersión de tallas al ingreso (manejos de selección), la correcta determinación del grado de avance del proceso de “smoltificación” (serie de cambios fisiológicos y físicos promovidos por hormonas, que se realizan en los peces anádromos, los cuales les permite desplazarse del agua dulce al agua salada) (Crespi y Coche, 2008), la adecuada vacunación y el posterior desarrollo de la respuesta inmune, entre otros factores. El traslado mismo a la engorda, en condiciones inadecuadas para los peces, también es un factor de estrés importante a considerar (Leal y Woywood, 2007).

Finalmente, Olivares y Marshall (2010) proponen un periodo de descanso de las jaulas de mar de 50 días, ya que de esta forma disminuye la carga bacteriana de las instalaciones a cero.

I. PREVENCIÓN

Debido a que el uso de antibióticos de forma profiláctica puede prevenir, pero no del todo, la presentación de piscirickettsiosis (Olivares y Marshall, 2010), la elaboración de una vacuna efectiva puede ser una estrategia posible para el control de la enfermedad. Sin embargo, son necesarias mayores investigaciones en relación a la respuesta inmunoprotectiva que ellas puedan generar (Larenas *et al.*, 2000), sobre todo considerando que la respuesta humoral ante la exposición a la bacteria es débil, pese a que se han encontrado anticuerpos anti *P. salmonis* en salmones coho convalecientes (Fryer y Hedrick, 2003).

Se han identificado antígenos de *P. salmonis* con una importancia potencial para el desarrollo de vacunas mediante el uso de anticuerpos policlonales y monoclonales, mediante su reacción con suero de salmones convalecientes a la enfermedad (Fryer y Hedrick, 2003).

En condiciones experimentales se ha observado una disminución de la mortalidad en peces vacunados con una bacterina preparada con la cepa LF-89 (Larenas *et al.*, 2000), pero la respuesta inmunoprotectiva que genera no es suficiente (Corbeil y Crane, 2009). Esto puede deberse a la pérdida de importantes antígenos de superficie mediante los procesos de cultivo del microorganismo y su inactivación (Wilhelm *et al.*, 2006).

Estos resultados sugieren que existe una respuesta inmunoprotectiva, sin embargo las variaciones genéticas y antigénicas de *P. salmonis* deben ser consideradas en estrategias futuras para el desarrollo de preparados vaccinales (Larenas *et al.*, 2000).

Por otro lado las vacunas realizadas usando la tecnología del ADN recombinante han demostrado mayores niveles de eficacia en los laboratorios (Corbeil y Crane, 2009), llegando incluso a porcentajes relativos de supervivencia por sobre un 83% (Fryer y Hedrick, 2003). El uso de variados antígenos recombinantes en el preparado de una vacuna incrementa sustancialmente su eficacia, llegando hasta un 95% de respuesta protectora (Wilhelm *et al.*, 2006).

Las vacunas de tipo oral son poco efectivas, debido a la degradación ácida de los antígenos de *P. salmonis* en el estómago de los peces (Smith *et al.*, 1999). Sin embargo, recientemente se desarrolló una vacuna oral que genera una buena respuesta protectora, la cual reduce el estrés producido mediante el proceso de inyección intraperitoneal de las otras vacunas, y es factible de ser utilizada para revacunar a los peces luego de ser introducidos a las jaulas de mar, para evitar un segundo brote de SRS, el cual tiende a ser más agresivo que el primero (Tobar *et al.*, 2011).

J. SITUACIÓN NACIONAL

La piscirickettsiosis es la enfermedad responsable de las mayores pérdidas en la etapa de engorda de la industria chilena del salmón (Corbeil y Crane, 2009). En términos económicos, en Chile las pérdidas anuales a causa de esta enfermedad llegan a los US\$ 100.000.000 (McCarthy *et al.*, 2008), ya sea por mortalidad propiamente tal o por los gastos implicados en el tratamiento de la patología (Larenas *et al.*, 2003).

Las mortalidades en Chile históricamente han sido mayores a las presentadas en otros países donde se ha descrito la patología (Larenas *et al.*, 1997), alcanzando mortalidades de un 20 – 30%, e incluso de un 90% en algunos brotes (Fryer y Hedrick, 2003).

Durante los primeros brotes de la enfermedad en 1989, en las costas de Puerto Montt en el sur de Chile, las mortalidades a causa de la piscirickettsiosis estaban en un rango que iba del 30 al 90% en salmón coho (Fryer *et al.*, 1992).

Hacia fines de la década de los 90, las mortalidades acumuladas en salmón coho por SRS superaban el 25%. Con el transcurso de los años, la mortalidad disminuyó paulatinamente hasta llegar a un 13,4% en el año 2000. Sin embargo, luego la mortalidad por esta enfermedad volvió a aumentar, debido a la asociación del SRS con el síndrome icterico, alcanzando cifras de 22,4% el año 2004. Para los años 2005 y 2006 la mortalidad en esta especie volvió a disminuir (Leal y Woywood, 2007).

Se piensa que la disminución de las mortalidades por SRS pueden ser a causa del cambio hacia la crianza del salmón del Atlántico, especie más resistente a esta patología que el salmón coho, junto con la mejora en las medidas de prevención y control de la enfermedad (Fryer y Hedrick, 2003).

Sin embargo, la situación en las otras especies productivas es distinta. En los últimos años se ha visto un deterioro sanitario y las pérdidas a causa de SRS alcanzan un 23,8% para las truchas arcoíris y un 24,6% para los salmones del Atlántico, a fines del año 2006. Además, no se proyecta una reversión de esta situación para años posteriores, sino más bien un aumento en las tasas de mortalidad (Leal y Woywood, 2007).

Si se clasifican las distintas causas de mortalidad en plantales chilenos, es posible señalar que SRS es responsable, en promedio, del 90% de las pérdidas en salmón coho, del 85% en trucha arcoíris y del 75% en salmón del Atlántico (Leal y Woywood, 2007). Debido a esto, es que resulta fundamental estudiar los factores de riesgo, tanto ambientales como de manejo, que favorecerían la presentación de la piscirickettsiosis en los plantales de las regiones de Los Lagos y de Aysén, para

proponer medidas de control atinentes a la realidad nacional, y así disminuir las pérdidas producto a esta patología.

3. OBJETIVOS

I. OBJETIVO GENERAL

Identificar factores de riesgo que juegan un rol sobre el nivel de mortalidad asociada a la piscirickettsiosis (SRS), en centros de cultivo con salmón coho y trucha arcoíris, emplazados en las regiones de Los Lagos y Aysén.

II. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los factores de riesgo ambientales y de manejo sobre la mortalidad asociada a piscirickettsiosis en Chile.
- Estimar el efecto de la vacunación contra *P. salmonis* sobre la mortalidad atribuible a piscirickettsiosis.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

A. DEFINICIÓN DEL TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo observacional retrospectivo, el cual corresponde al análisis de datos provenientes de encuestas realizadas durante la temporada 2006-2007, a 10 empresas salmoneras ubicadas en las regiones de los Lagos y de Aysén.

La unidad de estudio seleccionada fueron las jaulas, las que se distribuyeron en 12 “agrupaciones de concesiones de salmónidos” (ACS) o “barrios” y en 29 centros de cultivo. Se recolectó información de 652 jaulas.

B. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se describió la relación existente entre diversos factores ambientales y de manejo y el porcentaje de mortalidad atribuible a SRS, mediante un análisis de regresión.

Para ello, se definió como variable respuesta el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (mort_srs), el cual fue calculado sumando las mortalidades recolectadas mensualmente en cada jaula durante la totalidad del ciclo de engorda, cuya duración promedio fue de nueve meses. El diagnóstico de piscirickettsiosis se realizó mediante evaluación clínica, tinción Gram e inmunofluorescencia. Posteriormente se evaluó mediante estadística descriptiva, para determinar si fuese necesario algún tipo de transformación de datos para llevar a cabo el análisis.

Las variables predictoras de relevancia en este estudio son aquellos factores de riesgo descritos en la literatura, y que fueron evaluados en las encuestas realizadas.

En la tabla número 1 se describen los predictores que serán utilizados en la construcción del modelo máximo.

Tabla 1: Predictores del modelo estadístico, descripción y justificación.

N°	Predictor	Tipo de Variable	Descripción	Justificación/Hipótesis
1	Especie cultivada (esp_cultiv)	Catagórica nominal	Tipo de especie cultivada en la jaula en estudio. Categorías: coho (0) y trucha (1).	Se ha descrito al salmón como la especie más susceptible a SRS (Smith <i>et al.</i> , 2004), por ende, la variable especie cultivada debe incluirse en el modelo para establecer si esto es efectivo en las condiciones del estudio.
2	Tipo de instalación de origen de los "smolts" (inst_orig)	Catagórica nominal	Indica la instalación donde se encontraban los "smolts" antes de su ingreso a engorda en instalaciones de mar. Categorías: piscicultura (0), lago (1), estuario (2) y mixto (3).	Hay un mayor riesgo de presentación de SRS cuando los peces pasan por estuario antes de ingresar a las instalaciones de mar (Leal y Woywood, 2007). Además, las pisciculturas son las instalaciones de origen más controladas y limpias.
3	Porcentaje de mortalidad por rezago (mort_rez)	Continua	Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a rezago durante el periodo total de engorda.	Cualquier causa de aumento de mortalidad por rezago puede además favorecer la presentación de SRS, o bien aumentar el estrés en la jaula, siendo éste un factor de riesgo (Almendras y Fuentealba, 1997).
4	Porcentaje de mortalidad por causas físicas (mort_fis)	Continua	Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas (de cualquier tipo) durante el periodo total de engorda.	Malos manejos a nivel de jaula que provoquen mortalidad por causas físicas, pueden aumentar de forma indirecta la mortalidad asociada a SRS, debido al aumento del estrés ambiental.
5	Porcentaje de mortalidad por enfermedades virales (mort_vir)	Continua	Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a enfermedades virales durante el periodo total de engorda.	Malos manejos sanitarios, o condiciones estresantes, pueden aumentar la mortalidad a causa de enfermedades virales, y a su vez ser los mismos factores de riesgo para presentación de SRS.

6	Porcentaje de mortalidad por causas inespecíficas (mort_inesp)	Continua	Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas inespecíficas durante el periodo de engorda. Incluye toda la mortalidad que no se puede explicar por una causa en particular.	Un aumento en la mortalidad por causas inespecíficas podría ser un indicador de que los manejos productivos en esa jaula son deficientes, y por ende aumentar de igual medida la mortalidad por Piscirickettsiosis.
7	Porcentaje de mortalidad por síndrome icterico (mort_ict)	Continua	Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a síndrome icterico en el periodo total de engorda.	Malos manejos sanitarios pueden aumentar los porcentajes de mortalidad por síndrome icterico y SRS. Además el síndrome icterico predispone a la presentación de piscirickettsiosis (Valdenegro, 2005).
8	Densidad media de cultivo (densi_cultiv)	Continua	Corresponde a la densidad media a la que fueron cultivados los peces durante el periodo de engorda.	Larenas y cols. (1997) comprobaron que una alta densidad poblacional favorece la presentación de Piscirickettsiosis, actuando de forma sinérgica con la temperatura del agua. Debido a esto, es importante considerar el efecto de esta variable en el modelo máximo.
9	Presencia de otra patología durante el ciclo (otra_patolog)	Categorica nominal	Indica la presencia de otra patología, distinta a SRS, durante el ciclo de engorda. Categorías: ninguna (0), BKD (1), síndrome icterico (2) y vibriosis (3).	La bibliografía señala que la presencia de otras enfermedades puede tener un efecto aditivo o predisponer a la presentación de otras. Toma especial relevancia la enfermedad bacteriana del riñón (BKD), a cuyo agente causal se le atribuye cierto efecto inmunosupresor que podría favorecer la presencia de otras infecciones concomitantes (Smith <i>et al.</i> , 2001). También toma importancia el síndrome icterico, el cual se ha descrito como un factor predisponente a SRS (Valdenegro, 2005).

10	Número de terapias antimicrobianas aplicadas (num_terap)	Continua	Numera la cantidad de terapias antimicrobianas aplicadas a la jaula, de forma tanto preventiva como curativa contra SRS.	Un mayor número de terapias antimicrobianas puede estar asociado a malos manejos, un mayor porcentaje de mortalidad atribuible a SRS, y también a un mayor estrés debido a los procedimientos que esto implica.
11	Vacunación (vac_srs)	Categoría nominal	Esta variable indica si la jaula de peces recibió vacunación contra SRS o no. En el caso de si haber sido vacunada, indica si se cumplió o no el periodo de inmunización recomendado por el fabricante. Categorías: No (0), Sí – PDI (1) y Sí + PDI (2).	La vacunación más el cumplimiento del periodo de inmunización debieran ser factores protectivos ante la infección por SRS. De este mismo modo, las jaulas que no presentan vacunación deberían tener mayores mortalidades asociadas a esta patología.
12	Semanas de descanso (sem_desc)	Continua	Indica el número de semanas de descanso previo de la jaula antes, de la siembra de la población de peces en estudio.	Un mayor número de días de descanso previo a la siembra debiera ser un factor protectorio ante la presencia de SRS. Olivares y Marshall (2010) recomiendan un periodo de descanso de las jaulas de 40 a 50 días.

C. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS

A partir de la información obtenida, se generó un modelo de regresión lineal múltiple, donde se utilizó la siguiente ecuación:

$$Y_m = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n + \varepsilon$$

dónde Y corresponde al porcentaje de mortalidad atribuible a piscirickettsiosis en la jaula m-ésima; β_0 es el intercepto; $\beta_{1...n}$ son los coeficientes de regresión para cada variable $X_{1...n}$; y finalmente ε representa el error o el efecto de la jaula m-ésima, el

cual explica la diferencia existente entre los valores observados y los predichos por el modelo (Dohoo *et al.*, 2003).

Las variables independientes del modelo fueron todos los predictores seleccionados para el modelo final, mediante un exhaustivo procedimiento de selección que será detallado más adelante.

En el caso de las variables categóricas, éstas fueron ingresadas al modelo como variables auxiliares (también conocidas como variables “dummy”), y para cada una de ellas se escogió una categoría de referencia. Por lo tanto, la interpretación de los coeficientes de estas variables se hará con respecto a la categoría de referencia (Dohoo *et al.*, 2003).

Los análisis se realizaron con el programa estadístico Infostat mediante el método de máxima verosimilitud restringida (REML) (Balzarini *et al.*, 2008).

D. CONSTRUCCIÓN DEL MODELO

Antes de comenzar con el análisis de regresión, se realizó un estudio de estadística descriptiva de cada una de las variables del modelo máximo en estudio, tanto la variable respuesta, como las variables predictoras, para evaluar una posible transformación de las variables para su posterior análisis (Dohoo *et al.*, 2003).

Al manipular la variable “vacunación” (vac_srs), se utilizó el procedimiento llamado creación de índices, de tal modo que se combinaron las variables “vacunación” y “cumplimiento del periodo de inmunización recomendado por el fabricante”, ya que son variables que están relacionadas y al ser unidas en un mismo predictor, representan un nivel global de información sobre ese factor (Dohoo *et al.*, 2003). Por tanto, la variable quedó construida como una variable categórica de tres niveles: jaulas vacunadas con cumplimiento del periodo de inmunización recomendado por

el fabricante (Sí + PDI), jaulas vacunadas pero sin cumplimiento del periodo de inmunización (Sí – PDI), y jaulas no vacunadas (No).

Posteriormente, se realizó el chequeo de las variables predictoras mediante asociaciones incondicionales, para determinar cuáles debieran ser consideradas en la construcción del modelo final. Este análisis se realizó mediante regresiones lineales simples univariadas entre la variable respuesta y cada uno de los predictores por separado. Las variables con un “valor de p” menor o igual a 0,25 fueron incluidas en el modelo final (Dohoo *et al.*, 2003).

Una vez seleccionadas las variables por asociación incondicional, se hizo un análisis univariado de correlación para determinar la existencia de pares de variables que contienen esencialmente la misma información, cuya inclusión determinaría la presencia de multicolinealidad en el modelo (Dohoo *et al.*, 2003). En este caso se estableció como límite un valor de rho mayor a 0,7.

Finalmente, se especificó como estrategia de selección el procedimiento llamado “Backward Elimination”, descrito por Dohoo y cols. (2003).

E. VALIDACIÓN DEL MODELO

Para validar el modelo lineal construido, se verificó que se cumplieran los supuestos de normalidad de los residuos y linealidad del modelo de regresión lineal (Dohoo *et al.*, 2003).

El supuesto de normalidad de los residuos se validó, en primera instancia, trazando un histograma de frecuencias para tener una aproximación de la distribución de los residuos. En segundo lugar se trazó un “gráfico cuantil-cuantil” para los residuos, también conocido como “Q-Q plot”, el cual resulta ser más sensible que trazar un histograma de frecuencias (Dohoo *et al.*, 2003). Este método consiste en graficar los

cuantiles de los residuos versus los cuantiles de una distribución normal de probabilidades (Dohoo *et al.*, 2003).

Finalmente, para validar el supuesto de linealidad entre los predictores continuos y la variable respuesta, se aplicó términos cuadráticos para chequear si cumplen un patrón cuadrático en lugar de uno lineal, ya que las herramientas gráficas no fueron concluyentes (Dohoo *et al.*, 2003).

5. RESULTADOS

A. ANÁLISIS DE LA VARIABLE RESPUESTA

En primer lugar se realizó un análisis de estadística descriptiva de la variable “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS” (mort_srs), el cual se detalla en la tabla número 2.

Tabla 2: Medidas resumen de estadística descriptiva de la variable “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS” (mort_srs).

Variable	N	Media	D.E.	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
Mort_srs	567	10,40	16,07	0,00	97,00	3,05	0,53	14,56

Como se observa en la tabla número 2, el número de jaulas incluidas en el análisis estadístico es de 567, y a partir de ellas se obtuvo el resto de los indicadores de estadística descriptiva.

La media aritmética adquirió un valor de 10,40% de mortalidad acumulada atribuible a SRS en la totalidad de jaulas evaluadas en el estudio. La desviación estándar tuvo un valor de 16,07.

Los límites de valores de la variable respuesta entre jaulas resultó ser entre 0,00 y 97,00%, el cual es bastante amplio. Q1 y Q3 representan el valor de corte de porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS, para el 25 y el 75% de las observaciones, respectivamente. Como se puede inferir por el valor de la mediana, que es 3,05% de mortalidad acumulada atribuible a SRS, la gran parte de las jaulas se agrupan en torno a valores bajos de mortalidad, y muy pocas en torno a valores altos.

Un histograma de los mismos datos confirma que esta variable presenta una importante asimetría hacia la derecha (ilustración número 1).

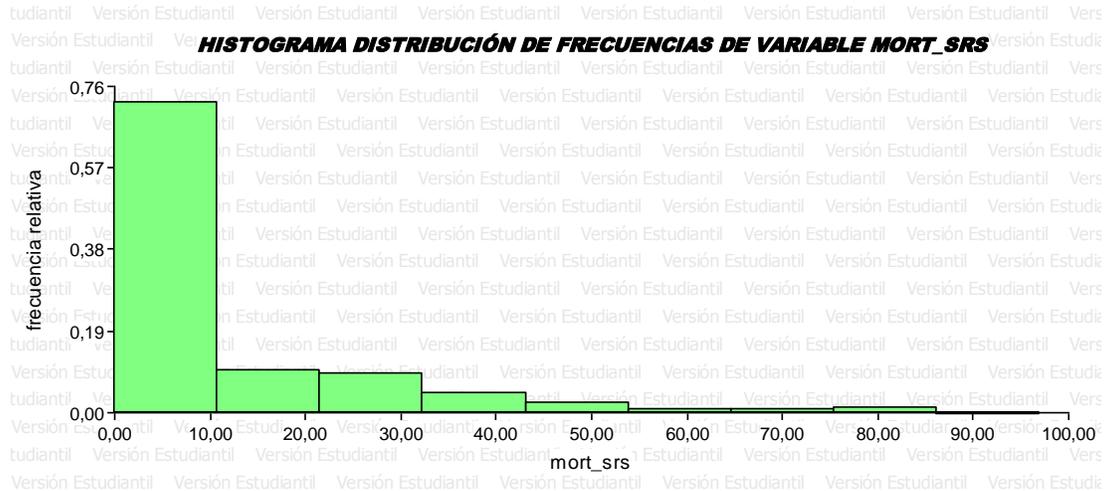


Ilustración 1: Histograma de distribución de frecuencias de la variable “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS” (mort_srs).

Debido a que la variable respuesta no sigue una distribución normal, fue transformada usando el logaritmo natural (\ln), adecuado para normalizar distribuciones sesgadas a la derecha.

Esta transformación de la variable respuesta debe tenerse en consideración para el posterior análisis de la misma, ya que se estarán interpretando datos transformados.

B. REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE VARIABLES PREDICTORAS

i. Variables con alto número de datos faltantes

Una vez realizado el análisis de estadística descriptiva de las variables predictoras, se llegó a la determinación de que algunas de las variables no podrían ser incluidas en el modelo final debido a presentar un número de observaciones muy pequeño (Dohoo *et al.*, 2003). El hecho de incluirlas en el modelo sería fatal para su interpretación, ya que perdería significancia debido a que sólo se construye en base a las observaciones que contengan datos para todas las variables.

Así, no se consideraron las siguientes variables en el análisis, las cuales se muestran en la tabla número 3.

Tabla 3: Número de observaciones y datos faltantes de las variables que fueron eliminadas del modelo.

Variable	Tipo	Número de observaciones	Datos Faltantes
Mortalidad por enfermedades virales (mort_vir)	Continua	298	270
Mortalidad por síndrome icterico (mort_si)	Continua	344	224
Mortalidad por causas inespecíficas (mort_inesp)	Continua	461	107

ii. Análisis de asociaciones incondicionales

Posteriormente se determinaron las asociaciones incondicionales entre los predictores y el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS. Las variables cuyo valor de p fue mayor o igual a 0,25 fueron eliminadas del modelo final (Dohoo *et al.*, 2003).

A continuación, en la tabla número 4, se muestran las variables que cumplen con los requisitos para ser incluidas en el modelo de regresión final.

Tabla 4: Variables predictoras que presentaron asociación incondicional con el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (mort_srs).

Variable	Tipo	Nivel	Valor de p (X^2)
Especie cultivada (esp_cultiv)	Dicotómica	Coho (0) Trucha (1)	<0,0001

Tipo de instalación de origen de los “smolts” (inst_orig)	Nominal	Piscicultura (0) Lago (1) Estuario (2) Mixto (3)	<0,0001
Vacunación contra SRS (vac_srs)	Nominal	No (0) Sí - PDI (1) Sí + PDI (2)	0,0048
Otra patología durante el ciclo (otra_patolog)	Nominal	Ninguna (0) BKD (1) S. Ictérico (2) Vibriosis (3)	<0,0001
Mortalidad atribuible a rezago (mort_rezag)	Continua	-	<0,0001
Mortalidad atribuible a causas físicas(mort_fis)	Continua	-	<0,0001
Número de terapias aplicadas (num_terap)	Continua	-	<0,0001
Semanas de descanso (sem_desc)	Continua	-	0,0070

iii. Análisis de correlación univariado

En cuanto a los resultados del análisis univariado de correlación, se pudo determinar que no existe ninguna correlación sustancialmente alta entre ninguna de las variables predictoras que tuvieron asociación incondicional con la variable respuesta.

Por lo anterior, se infiere que no hubo problemas de colinearidad en el modelo.

C. ESPECIFICACIÓN DE LA ESTRATEGIA DE SELECCIÓN DE VARIABLES

Mediante el método de eliminación hacia atrás, o “Backward Elimination”, a partir del modelo máximo, se completó el proceso de selección de variables a incluir en el modelo final.

De esta forma, el modelo de regresión se construirá con los siguientes predictores:

- Especie cultivada (esp_cultiv).
- Tipo de instalación de origen de los “smolts” (inst_orig).
- Vacunación contra SRS (vac_srs).
- Presencia de otra patología durante el ciclo de engorda (otra_patolog).
- Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a rezago (mort_rez).
- Porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas (mort_fis).
- Número de terapias aplicadas (num_terap).
- Semanas de descanso (sem_desc).

D. MODELO DE REGRESION LINEAL MÚLTIPLE

Los resultados obtenidos a partir del modelo de regresión lineal múltiple se muestran en las siguientes tablas.

En la tabla número 5 se muestran los principales estadígrafos para evaluar de forma general el modelo de regresión lineal.

Tabla 5: Análisis de regresión lineal.

Variable	N	R²	R² Aj
LN_mort_srs	479	0,69	0,68

En la tabla número 5 se observa que el número de jaulas utilizadas para la creación del modelo de regresión lineal fue 479, ya que se eliminaron 88 jaulas que no contaban con la información para todas las variables predictoras incluidas en el modelo final.

El coeficiente de determinación (R²), está indicando que el 69% de la variación de la variable porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (mort_srs) está

siendo explicado por el modelo construido (Dohoo *et al.*, 2003), por tanto, se puede afirmar que el modelo explica una parte importante de la variabilidad de la variable respuesta.

Debido a que el valor de R^2 tiende a aumentar cuando el modelo posee múltiples variables regresoras (Dohoo *et al.*, 2003), se calculó el R^2 ajustado por el número de variables predictoras, en cual indica que explica básicamente el mismo porcentaje de variación.

El análisis de varianza demostró que el modelo fue significativo ($p \leq 0,05$), lo que indica que al menos una variable contenida en este, presentó una asociación significativa con la variable de interés.

En la tabla número 6 se muestran los coeficientes de regresión de todas las variables predictoras incluidas en el modelo final y sus estadísticos asociados.

Tabla 6: Coeficientes de regresión y estadísticos asociados.

Variable	Coef. Regresión	Error Estándar	t	p-valor
const	-1,57	0,52	-3,03	0,0026
esp_cultiv_trucha	1,15	0,22	5,31	<0,0001
inst_orig_lago	0,47	0,24	1,97	0,0495
inst_orig_estuario	2,54	0,23	11,23	<0,0001
inst_orig_mixto	1,62	0,32	4,98	<0,0001
vac_srs_si-pdi	-0,61	0,37	-1,64	0,1017
vac_srs_si+pdi	0,16	0,38	0,43	0,6651
otra_patolog_bkd	-1,06	0,21	-5,07	<0,0001
otra_patolog_si	1,22	0,42	2,88	0,0041
otra_patolog_vibr	-4,19	0,91	-4,61	<0,0001
mort_fis	0,16	0,05	3,15	0,0017
mort_fis^2	-0,01	1,95E-03	-3,41	0,0007
mort_rez	0,15	0,03	5,80	<0,0001

mort_rez^2	-2,27E-03	5,41E-04	-4,20	<0,0001
num_terap	1,15	0,14	8,26	<0,0001
num_terap^2	-0,14	0,02	-7,18	<0,0001
sem_desc	-0,15	0,02	-6,30	<0,0001
sem_desc^2	2,42E-03	4,25E-04	5,69	<0,0001

i. Interpretación de variables categóricas

En cuanto a la especie cultivada (esp_cultiv), el modelo señala a la trucha arcoíris como la especie asociada a una mayor mortalidad por SRS, en comparación con el salmón coho, asociación que fue significativa ($p < 0,0001$).

Al analizar la variable “tipo de instalación de origen de los “smolts”” (inst_orig), las categorías lago, estuario e instalación de tipo mixto, se asociaron a un mayor porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS, en comparación con la piscicultura. Todas estas asociaciones resultaron ser estadísticamente significativas a un valor de $p \leq 0,05$.

El estuario se asoció a un mayor porcentaje de mortalidad acumulada atribuible piscirickettsiosis en comparación con la piscicultura, seguido de las instalaciones de origen de tipo mixto, siendo el lago el que se asoció a un menor aumento en este porcentaje de mortalidad.

Al momento de analizar la variable “vacunación contra SRS” (vac_srs), los coeficientes de regresión para las categorías “Sí – PDI” y “Sí + PDI” no presentan diferencias significativas en comparación a la categoría “no vacunados” ($p > 0,05$). Por tanto, el modelo indica que no habría un efecto significativo de la vacunación en la reducción de la mortalidad por SRS.

En relación a la variable “otra patología durante el ciclo” (otra_patolog), la presencia de la patología síndrome icterico está asociada a un mayor porcentaje de mortalidad

acumulada atribuible a SRS, en comparación con la ausencia de otras patologías durante el ciclo de engorda, y esta asociación es significativa ($p \leq 0,05$).

Por el contrario, la presencia de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) y de vibriosis, están asociadas significativamente ($p \leq 0,05$) a un menor porcentaje de mortalidad acumulada por SRS en comparación con la ausencia de otras patologías

ii. Interpretación de variables continuas

En cuanto a la interpretación de los coeficientes de regresión para las variables de tipo cuantitativo, se puede observar que las variables “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas” y “porcentaje de mortalidad atribuible a rezago”, se asociaron a un efecto levemente positivo sobre la variable respuesta, el cual en ambos casos es estadísticamente significativo, para un nivel de significancia de un 5%. Por tanto, se puede inferir que el aumento de la mortalidad acumulada atribuible a causas físicas en un 1% producirá un aumento de un 1,17% ($e^{0,16}$) en la mortalidad acumulada atribuible a SRS, mientras que en caso de la mortalidad acumulada atribuible a rezago, el aumento será de un valor de 1,16% ($e^{0,15}$).

La variable “número de terapias antimicrobianas aplicadas” no está asociada a un aumento en el porcentaje de mortalidad atribuible a SRS, si no que aquellas jaulas que presentan una mayor mortalidad a causa de piscirickettsiosis, son las que reciben en la práctica un mayor número de tratamientos antimicrobianos.

Finalmente, la variable “número de semanas de descanso” presenta un coeficiente de regresión negativo, por tanto actuaría como un factor protector ante la presentación de mortalidad acumulada atribuible a SRS, produciendo una disminución de la mortalidad de un -1,16% ($-e^{0,15}$) cuando se alarga el período de descanso de las jaulas en una semana, siendo estadísticamente significativa esta asociación ($p \leq 0,05$).

E. VALIDACION DEL MODELO

Para validar el supuesto de normalidad de los errores, primero se construyó un histograma de frecuencias para obtener una forma estimada de su distribución, el cual se muestra en la ilustración número 2. En la figura se puede apreciar que los residuos presentan una distribución normal.

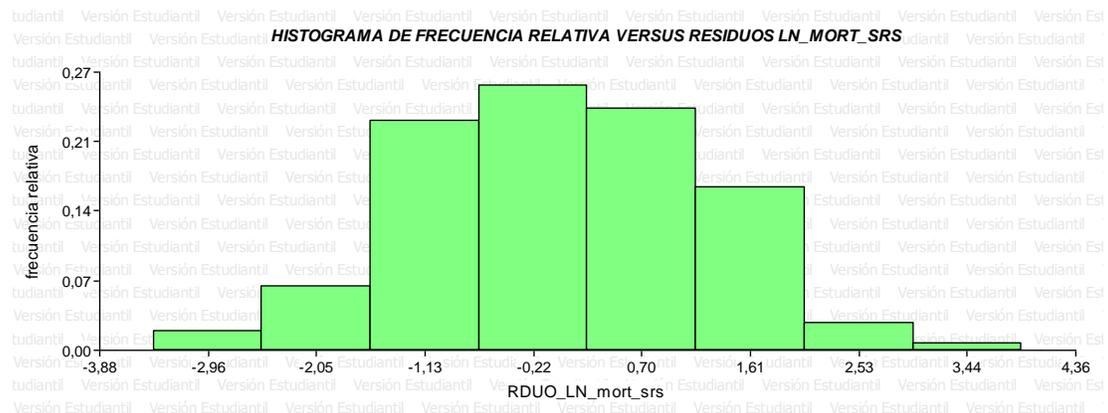


Ilustración 2: Histograma de frecuencia relativa versus residuos del logaritmo natural del porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS (\ln_mort_srs).

Posteriormente se construyó un gráfico cuantil-cuantil de los residuos, el cual se muestra en la ilustración número 3.

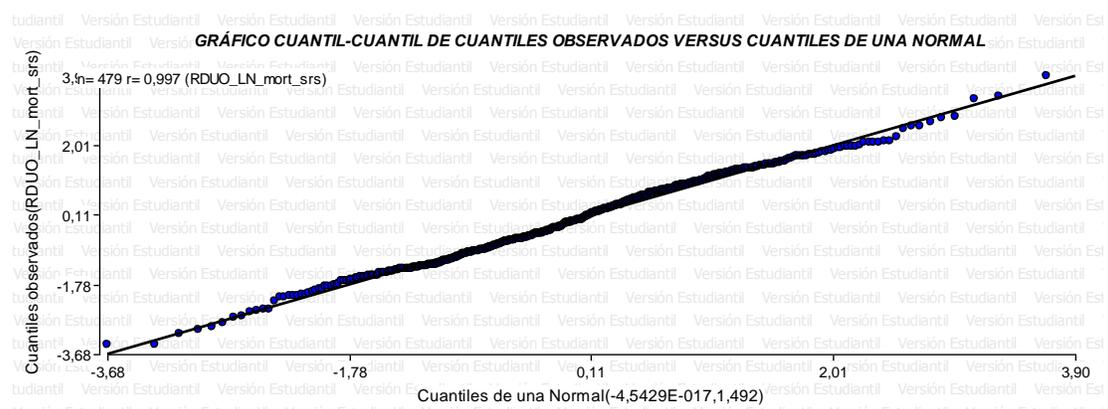


Ilustración 3: Gráfico cuantil-cuantil de cuantiles de los residuos versus cuantiles de una distribución normal.

Si los residuos se encuentran distribuidos de forma normal, el gráfico resultará en una línea recta con un ángulo aproximado de 45° a la horizontal (Dohoo *et al.*, 2003), como se muestra en este caso. Por tanto, se puede decir con certeza que se cumple el supuesto de normalidad de los errores.

Por último, para probar el supuesto de linealidad del modelo, fue necesario aplicar términos cuadráticos a estas variables para chequear si cumplen un patrón cuadrático en lugar de uno lineal (Dohoo *et al.*, 2003).

Como se observa en la tabla número 6 (página 30), al aplicar el término cuadrático a las variables “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas” (mort_fis), “porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a rezago” (mort_rez), “número de terapias antimicrobianas aplicadas” (num_terap) y “semanas de descanso” (sem_desc), la relación obtuvo un valor de p estadísticamente significativo para todas las variables, con un nivel de significancia de un 5%. Por ende se asume que la relación entre las variables mencionadas y la variable respuesta no es lineal, y además se corrige el problema de falta de linealidad.

Por tanto, se puede decir que el modelo de regresión utilizado en este estudio cumple con todos los supuestos de regresión lineal, salvo el supuesto de independencia de la variable dependiente, lo cual será discutido más adelante.

6. DISCUSIÓN

Antes de discutir los resultados del modelo es importante señalar que el diseño de esta investigación corresponde a un modelo anidado, ya que habría variaciones en el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS dependiendo del barrio y del centro productivo donde se encuentran las jaulas en estudio. Por ende, no se cumple el supuesto de independencia de los errores del modelo de regresión lineal, y lo más conveniente en este caso hubiera sido trabajar con un modelo lineal de efectos mixtos para estimar esta variación (Dohoo *et al.*, 2003).

Sin embargo, al obtener los resultados del modelo lineal de efectos mixtos se concluyó que la variación explicada por los componentes aleatorios del modelo (en este caso centros productivos y barrios) fue considerablemente baja, y por tanto la mayoría de la variación no explicada en el modelo reside en las jaulas (Dohoo *et al.*, 2003). Debido a estos resultados no se incluyeron los efectos aleatorios en el modelo final.

Este hecho toma sentido ya que todos los centros y barrios se encuentran en una zona geográfica común, con condiciones climáticas y ambientales similares, y son los manejos realizados en cada jaula los que provocan las diferencias en la mortalidad acumulada atribuible a SRS que se pudo observar.

Cuando se realizó el análisis de estadística descriptiva, se obtuvo un 10,4% de mortalidad acumulada atribuible a SRS como promedio de todas las jaulas en estudio. Este valor es sustancialmente menor al esperado, ya que las mortalidades en Chile se han mantenido cercanas a un 30% (Mauel y Miller, 2002). Este resultado podría estar indicando la existencia de una disminución de las mortalidades a causa de la piscirickettsiosis, debido a las medidas de control y preventivas que se han adquirido durante los últimos años en la industria del salmón, lo cual incluye el cambio de especie cultivada a una menos susceptible, que es el salmón del Atlántico (Fryer y Hedrick, 2003).

En cuanto al análisis de los factores de riesgo, se llegó al resultado de que la trucha arcoíris es más susceptible a presentar mortalidad por SRS que el salmón coho, en las condiciones de este estudio.

Sin embargo, la literatura señala que desde su descubrimiento, la especie que se ha visto más afectada en cuanto a tasas de mortalidad debido a esta enfermedad, ha sido el salmón coho (Fryer y Hedrick, 2003). Incluso en un comienzo se pensaba que esta enfermedad afectaba sólo esta especie (Fryer *et al.*, 1992), pero luego se descubrió que todas las especies de salmónidos cultivadas en Chile se veían afectadas por piscirickettsiosis (Fryer y Mael, 1997).

Almendras y Fuentealba (1997), indicaron que la especie más susceptible es el salmón coho, con un 68% aproximado de los brotes registrados, mientras que la trucha arcoíris se adjudica sólo un 18% de los brotes, y el salmón del Atlántico un 14%.

Una posible explicación ante este fenómeno es la teoría propuesta por Mael y cols. (1999), en la cual señala la existencia de patrones biogeográficos de variación genética, los cuales pueden ser un factor importante en la presentación de la enfermedad.

Así, la mortalidad asociada a SRS dependería de la región geográfica, variaciones de un factor intrínseco de la bacteria, resistencia de la especie hospedera, factores ambientales o prácticas específicas realizadas en ciertas áreas de cultivo (Mael *et al.*, 1999).

Para probar esta hipótesis sería conveniente saber específicamente que aislado de *P. salmonis* es el que está afectando a los peces en estudio, ya que se determinó que la bacteria tiene una extensa historia evolutiva que resultaría en una diversidad filogenética entre aislados de distintas regiones geográficas y hospederos, cuyas diferencias han sido claramente evidenciadas (Mael *et al.*, 1999).

A pesar de lo anteriormente descrito, en la actualidad las mortalidades atribuibles a SRS en salmón coho han disminuido, mientras que en la trucha arcoíris y en el salmón del Atlántico han ido en aumento (Leal y Woywood, 2007), y los resultados de este estudio indican que el comportamiento que está teniendo esta enfermedad sigue la tendencia de los últimos años.

En cuanto a la variable “tipo de instalación de origen de los “smolts””, se catalogó al estuario como la instalación asociada a un mayor porcentaje de mortalidad atribuible a SRS, en comparación con la piscicultura. También se asociaron a una mayor mortalidad a causa de piscirickettsiosis las instalaciones de tipo lago y mixto. Esto se explica debido a que la piscicultura tiene un estricto control de bioseguridad, por lo que es menos probable que haya brotes de enfermedades bacterianas o virales.

Esto no ocurre en un estuario, el cual por definición corresponde al lugar geográfico donde desembocan los ríos al mar. Se sabe que la piscirickettsiosis se presenta una vez que los salmónidos son introducidos a las jaulas de mar, y que se sospecha de la existencia de un reservorio marino de la bacteria (Fryer y Hedrick, 2003).

Además, la sobrevivencia de *P. salmonis* es mayor en agua salada que en agua dulce, por tanto los brotes de SRS son menos frecuentes en las instalaciones de agua dulce, como la piscicultura (Fryer y Hedrick, 2003). Sin embargo, sí se han descrito brotes en agua dulce (Mauel y Miller, 2002).

En el caso del estuario, como es un ambiente natural sin medidas de bioseguridad, y además con ingreso de agua de mar que se mezcla con el agua dulce, probablemente exista una mayor probabilidad de encontrar la bacteria *P. salmonis*.

Por otra parte, muchos autores recomiendan, como medida de manejo, eliminar el paso por estuario para disminuir el riesgo de presentación de SRS, debido a que este manejo contribuye a un aumento del estrés al cual son sometidos los “smolts”,

el cual es conocido como un factor de riesgo importante para la presentación de mortalidad asociada a piscirickettsiosis (Almendras y Fuentealba, 1997).

La variable “vacunación contra SRS”, se cumpla o no el PDI recomendado por el fabricante, no presentó asociación significativa con la mortalidad acumulada atribuible a SRS. Además, la relación existente no es clara, ya que cuando se cumple el PDI hay mayor mortalidad asociada a piscirickettsiosis que cuando no se cumple el PDI.

Estos resultados pueden deberse a que actualmente no existe ninguna vacuna efectiva contra el control de SRS en el mundo, debido a que la agresividad de la bacteria sigue en aumento (Marshall *et al.*, 2007),

Cabe mencionar que hubiese sido interesante saber a qué tipo de vacuna corresponde cada una de las vacunas probadas, ya que es sabido que las vacunas en base a antígenos recombinantes son mucho más efectivas en cuanto a protectividad, que las vacunas a base de bacterinas (Fryer y Hedrick, 2003). Se cree que la poca efectividad de las vacunas en base a bacterinas es debido a la pérdida de antígenos de superficie, tanto durante el cultivo de la bacteria como durante el proceso de inactivación de la misma (Wilhem *et al.*, 2006).

Debido a lo anterior, resulta interesante continuar la búsqueda de una vacuna que genere una respuesta protectora mayor en estas especies productivas. Además, las vacunas existentes son efectivas contra el primer brote de SRS, el cual ocurre cuando los peces son trasladados a las jaulas de mar, pero luego viene un segundo brote, el cual ocurre cuando los peces están más susceptibles (10 – 12 meses luego del traslado) y es más agresivo ya que en ese periodo disminuye la respuesta inmune (Tobar *et al.*, 2011).

Ante esta problemática, resulta interesante la propuesta de Tobar y cols. (2011), quienes postulan que es necesario un proceso de revacunación con menor estrés mediante vacunas orales, sin embargo, esta metodología está siendo probada aún en condiciones experimentales de piscicultura, por lo que requiere mayor desarrollo.

Dentro del análisis de la variable “otra patología durante el ciclo de engorda”, el resultado resultó ser controversial. Esto, debido a que hay antecedentes de infecciones conjuntas de *P. salmonis* con *R. salmoninarum* (agente causal de la enfermedad bacteriana del riñón) en salmones cultivados en agua salada en Chile, las cuales demostraron tener un efecto aditivo comparado con infecciones únicas de cada patógeno (Smith *et al.*, 2001), aumentando la gravedad de los cuadros de piscirickettsiosis (Larenas, 1999). Es más, a *R. salmoninarum* se le atribuye cierto efecto inmunosupresor que podría actuar favoreciendo la presentación de otras enfermedades concomitantes con otros patógenos (Smith *et al.*, 2001), como en este caso, infecciones con *P. salmonis*.

Sin embargo, los resultados de este estudio señalan que tanto BKD como vibriosis están asociados a un menor porcentaje de mortalidad por SRS, en relación a la ausencia de otra patología durante el ciclo de engorda.

Este resultado podría deberse a que el diagnóstico de la mortalidad en estas jaulas no se realizó de forma correcta, atribuyendo una mayor causalidad tanto a BKD como a vibriosis, enmascarando el verdadero porcentaje de mortalidad atribuible a piscirickettsiosis. Así, mediante el análisis estadístico, se concluyó que ambas patologías actuaban como un factor protector, siendo en realidad una asociación incorrecta.

Como era de esperarse, el síndrome icterico (también conocido como anemia hemolítica del salmón) se asoció a una mayor mortalidad atribuible a piscirickettsiosis, en comparación a la ausencia de otras enfermedades durante el ciclo de engorda. Esto debido a que está comprobado que la severidad de los brotes

de SRS aumenta notoriamente cuando los peces han cursado previamente, o están cursando con cuadros de síndrome icterico, disminuyendo las probabilidades de supervivencia (Valdenegro, 2005). Incluso se especula que el síndrome icterico actuaría como un factor predisponente a piscirickettsiosis (Valdenegro, 2005), y según los resultados que arrojó este estudio, se puede catalogar como un factor de riesgo para la presentación de esta patología.

Dentro de las variables continuas evaluadas en este estudio, tanto el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas y el porcentaje de mortalidad atribuible a rezago se asocian a un aumento en el porcentaje de mortalidad atribuible a SRS. Este fenómeno puede explicarse debido a que ambos tipos de mortalidad están asociados a un importante estrés producido en las jaulas, el cual es un factor de riesgo importante en la presentación de SRS (Almendras y Fuentealba, 1997),

Además, tanto la mortalidad por causas físicas como por rezago, pueden ser producto de malas medidas de manejo, tormentas u otro factor estresante, todos descritos como factores de riesgo para la presentación de la piscirickettsiosis (Almendras y Fuentealba, 1997). Hubiese sido interesante saber específicamente qué medida de manejo específica o ambiental fue la que llevó a la presentación de estas mortalidades.

En este estudio también se llegó a la conclusión de que en las jaulas que hay un mayor porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS, se aplicó un mayor número de terapias antimicrobianas, no existiendo una relación causal entre ambas variables.

Esta teoría tiene su fundamento en que las terapias antimicrobianas en la actualidad son poco exitosas y las pérdidas han ido aumentando de forma progresiva (Smith *et al.*, 1999). Incluso hay quienes señalan que no aporta buenos resultados como medida de control ya que su eficacia global es inconsistente (Fryer y Hedrick, 2003).

Algunos autores señalan que la falla en la terapia antimicrobiana se puede deber al desarrollo de resistencia antimicrobiana, pero también han surgido otras teorías como la antagonización de los principios activos de los antimicrobianos por los cationes del agua salada, variación en la dosificación en la administración oral, y el hecho de que no se alcanzan las concentraciones intracelulares efectivas de la droga para eliminar a la bacteria (Mauel y Miller, 2002).

Así, resulta lógico pensar que debido a la falla de la terapia antimicrobiana, se apliquen más tratamientos a aquellas jaulas que presentan una mayor mortalidad atribuible a SRS.

Además, estos resultados sugieren que es necesario enfocarse en otros métodos de prevención y control, ya que claramente, el uso de terapias antimicrobianas no es efectivo. Dentro de éstas se puede considerar la propuesta de macrozonas, que orientan a un trabajo conjunto de grupos de barrios.

Finalmente, se analizó la variable “número de semanas de descanso”, donde se observó, como era de esperarse, que al aumentar el número de semanas de descanso, disminuye el porcentaje de mortalidad atribuible a SRS.

Dentro de este ámbito, Olivares y Marshall (2010), señalan que un periodo de descanso de las jaulas de 40 – 50 días es recomendado, ya que se comprobó que el número de células de *P. salmonis* presentes en las columnas de agua disminuyen a cero unidades por Litro⁻¹ de agua después de 50 días una vez retirados los peces.

Así, respetar los 40 – 50 días de descanso de las jaulas sería una medida bastante eficaz para el control y prevención de la presentación de SRS.

7. CONCLUSIONES

1. Existe una disminución del promedio del porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a piscirickettsiosis en las regiones de Los Lagos y de Aysén, en cuanto a la media nacional.
2. La trucha arcoíris es más susceptible a presentar mortalidad a causa de SRS que el salmón coho, siguiendo la tendencia nacional de los últimos años, donde se ha visto una disminución en la presentación de mortalidad a causa de esta patología en salmón coho, y un aumento en trucha arcoíris y salmón del Atlántico.
3. Las instalaciones de origen de los "smolts" de tipo estuario, lago y mixto, resultaron ser factores de riesgo para la presentación de mortalidad a causa de piscirickettsiosis, en comparación a las pisciculturas. Por ende, se recomienda como medida de manejo, que los "smolts" no pasen por estas instalaciones antes del ingreso a jaulas de mar.
4. No se presentó una asociación significativa entre la variable "vacunación contra SRS" y el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a la misma, lo que indica una baja efectividad de las vacunas existentes en el mercado.
5. El síndrome icterico se describe como un factor asociado a la presentación de mortalidad acumulada atribuible SRS, en comparación a la ausencia de otra patología durante el ciclo. A su vez, es probable que la piscirickettsiosis esté siendo subdiagnosticada en algunos centros de cultivo en las regiones evaluadas en este estudio.
6. Un aumento en el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a causas físicas y a rezago produce un aumento en el porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a SRS, debido a que las causas de estas mortalidades son factores

estresantes que predispondrían a la presentación de cuadros provocados por *P. salmonis*.

7. La respuesta de las terapias antimicrobianas, ya sea aplicadas de forma preventiva como curativa, no sería efectiva, por lo que se recomienda trabajar en la obtención de una vacuna preventiva eficaz.
8. Se recomienda un periodo de descanso de las jaulas de mar de 40 - 50 días, para disminuir la carga bacteriana prácticamente a cero, y de esta forma controlar los cuadros de piscirickettsiosis.

8. BIBLIOGRAFÍA

ALMENDRAS, F.; FUENTEALBA, I. 1997. Salmonid rickettsial septicemia caused by *Piscirickettsia salmonis*: a review. Diseases of Aquatic Organisms. 29: 137-144.

BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; CASANOVES, F.; DI RIENZO, J.; ROBLEDO, C. 2008. Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.

CORBEIL, S.; CRANE, M. S. 2009. *Piscirickettsia salmonis*. [en línea] <http://www.scahls.org.au/_data/assets/pdf_file/0005/1516514/Piscirickettsia_salmomis.pdf> [consulta: 09-04-10]

CRESPI, V.; COCHE, A. 2008. Glossary of Aquaculture. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome, Italy. 401 p.

CUBILLOS, V.; LÓPEZ, I. C.; ALBERDI, A. 2001. Aspectos lesionales microscópicos en hígados de salmónidos provenientes de centros de cultivo de la X a XII Región de Chile (1988 – 1998). [en línea] Arch. Med. Vet. 33(2) <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2001000200009&script=sci_arttext> [consulta: 27-03-10]

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. 2003. Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc. Prince Edward Island, Canada. 706 p.

FRYER, J.; LANNAN, C.; GIOVANNONI, S.; WOOD, N. 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the Causative Agent of an Epizootic Disease in Salmonid Fishes. International Journal of Sistematic Bacteriology. 42(1): 120-126.

FRYER, J.; MAUEL, M. 1997. The Rickettsia: an Emerging Group of Pathogens in Fish. Emerging Infectious Diseases. 3(2): 137-144.

FRYER, J.; HEDRICK, R. 2003. *Piscirickettsia salmonis*: a Gram-negative intracelular bacterial pathogen of fish. Journal of Fish Diseases. 26: 251-262.

LARENAS, J.; CONTRERAS, J.; OYANEDEL, S.; MORALES, M. A.; SMITH, P. 1997. Efecto de la densidad poblacional y temperatura en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) inoculadas con *Piscirickettsia salmonis*. [en línea] Arch. med. vet. 29(1). <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X1997000100013&script=sci_arttext> [consulta: 29-03-10]

LARENAS, J. 1999. Evaluación experimental clínico patológica del efecto de la densidad poblacional, temperatura e infección concomitante con *Renibacterium salmoninarum* sobre la presentación de Piscirickettsiosis. Tesis Magister en Ciencias Animales y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 146 p.

LARENAS, J.; CONTRERAS, J. y SMITH, P. 2000. Piscirickettsiosis: Uno de los principales problemas en cultivos de salmónes en Chile (1). [en línea] TecnoVet. 6(2). <http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11539%2526SID%253D463,00.html> [consulta: 29-03-10]

LARENAS, J.; BARTHOLOMEW, J.; TRONCOSO, O.; FERNÁNDEZ, S.; LEDEZMA, H.; SANDOVAL, N.; VERA, P.; CONTRERAS, J.; SMITH, P. 2003. Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and *in vitro* study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. Diseases of Aquatic Organisms. 56: 25-30.

LARENAS, J.; ZAMORANO, E. y SMITH, P. 2005. Detección de *Piscirickettsia salmonis* en heces de alevines de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) infectados por transmisión vertical. [en línea] Mon. Electr. Patol. Vet. 2(1):59-67

<<http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/Mepavet10.pdf>> [consulta: 28-03-10]

LEAL, J. y WOYWOOD, D. 2007. Piscirickettsiosis en Chile: Avances y Perspectivas para su Control. [en línea] SalmoCiencia 2:34-42. <<http://www.salmonchile.cl/salmociencia/002/Paper1.pdf>> [consulta: 06-04-10]

MARSHALL, S.; CONEJEROS, P.; ZAHR, M.; OLIVARES, J.; GÓMEZ, F.; CATALDO, P.; HENRÍQUEZ, V. 2007. Immunological characterization of a bacterial protein isolated from salmonid fish naturally infected with *Piscirickettsia salmonis*. Vaccine. 25: 2095-2102.

MAUEL, M.; GIOVANNONI, S.; FRYER, J. 1999. Phylogenetic analysis of *Piscirickettsia salmonis* by 16S, internal transcribed spacer (ITS) and 23S ribosomal DNA sequencing. Diseases of Aquatic Organisms. 35: 115-123.

MAUEL, M.; MILLER, D. 2002. Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review. Veterinary Microbiology. 87: 279-289.

MAUEL, M.; WARE, C.; SMITH, P. 2008. Culture of *Piscirickettsia salmonis* on enriched blood agar. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 20: 213-214.

MCCARTHY, U.; BRON, J.; BROWN, L.; POURAHMAD, F.; BRICKNELL, I.; THOMPSON, K.; ADAMS, A.; ELLIS, A. 2008. Survival and replication of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout head kidney macrophages. Fish & Shellfish Immunology. 25: 477-484.

OLIVARES, J.; MARSHALL, S. 2010. Determination of minimal concentration of *Piscirickettsia salmonis* in water columns to establish a fallowing period in salmon farms. Journal of Fish Diseases. 33: 261-266.

SMITH, P.; PIZARRO, P.; OJEDA, P.; CONTRERAS, J.; OYANEDEL, S.; LARENAS, J. 1999. Routes of entry of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Diseases of Aquatic Organisms, 3: 165-172.

SMITH, P.; LARENAS, J.; VERA, P.; CONTRERAS, J.; VENEGAS, C.; ROJAS, M.; GUAJARDO, A. 2001. Principales enfermedades de los peces salmonídeos cultivados en Chile. [en línea] Mon. Med. Vet. 21(2). <<http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/viewFile/864/754>> [consulta: 10-06-2012]

SMITH, P.; ROJAS, M.; GUAJARDO, A.; CONTRERAS, J.; MORALES, M.; LARENAS, J. 2004. Experimental infection of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* by exposure of skin, gills and intestine with *Piscirickettsia salmonis*. Diseases of Aquatic Organisms. 61: 53-57.

TOBAR, J.; JEREZ, S.; CARUFFO, M.; BRAVO, C.; CONTRERAS, F.; BUCAREY, S.; HAREL, M. 2011. Oral vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar*) against salmonid rickettsial septicaemia. Vaccine. 29: 2336-2340.

VALDENEGRO, V. 2005. Evaluación experimental del efecto de la anemia hemolítica del salmón sobre la presentación de Piscirickettsiosis en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). Memoria Pregrado en Ciencias Animales y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 90 p.

WILHELM, V.; MIQUEL, A.; BURZIO, L.; ROSEMBLATT, M.; ENGEL, E.; VALENZUELA, S.; PARADA, G.; VALENZUELA, P. 2006. A vaccine against the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* based on recombinant proteins. Vaccine 24: 5083-5091.