



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

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



**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE EFECTIVIDAD DE  
VACUNAS CONTRA VIBRIOSIS EN SALMÓN DEL  
ATLÁNTICO (*Salmo salar*)**

**ANDREA CECILIA RIBAS SEGUEL**

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

**PROFESOR GUÍA: SANTIAGO URCELAY VICENTE**

**SANTIAGO, CHILE  
2007**

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	1
SUMMARY	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
3. OBJETIVOS	17
4. HIPÓTESIS	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1 GENERALIDADES	19
5.2 MATERIALES	21
5.3 METODOLOGÍA	22
5.3.1 EFECTIVIDAD DE LA VACUNACIÓN	22
5.3.1.1 RIESGO RELATIVO	22
5.3.1.2 PRUEBA DE “STUDENT” ( <i>t</i> )	23
5.3.2 EFECTIVIDAD DE VACUNAS COMERCIALES	24
5.3.2.1 ANÁLISIS DE VARIANZA	24
5.3.2.2 ANÁLISIS DE VARIANZA FACTORIAL	24
6. RESULTADOS	26
6.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO GENERAL	26
6.2 EFECTIVIDAD DE LA VACUNACIÓN	29
6.2.1 RIESGO RELATIVO	29
6.2.2 PRUEBA DE “STUDENT” ( <i>t</i> )	30

	Pág.
6.3 EFECTIVIDAD DE LAS VACUNAS COMERCIALES	31
6.3.1 ANÁLISIS DE VARIANZA	32
6.3.2 ANÁLISIS DE VARIANZA FACTORIAL	34
6.3.2.1 PERIODO DE DESARROLLO DE INMUNIDAD	37
6.3.2.2 MACROZONA	41
6.3.2.3 USO DE ANTIBIÓTICOS	45
7. DISCUSIÓN	49
8. CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>TABLA 1:</b> Tabla de contingencia de 2 x 2.	23
<b>TABLA 2:</b> Resumen de jaulas recibidas, eliminadas y efectivas por empresa y centro.	26
<b>TABLA 3:</b> Resumen de encuestas, jaulas efectivas y proporción de casos por macrozona.	17
<b>TABLA 4:</b> Tabla de contingencia para evaluar la efectividad de vacunas contra vibriosis.	19
<b>TABLA 5:</b> Resultados de la prueba de “Student” ( <i>t</i> ).	30
<b>TABLA 6:</b> Análisis de varianza de eficiencia de vacunas comerciales.	33
<b>TABLA 7:</b> Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza.	34
<b>TABLA 8:</b> Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza de eficiencia de vacunas comerciales.	34
<b>TABLA 9:</b> Jaulas eliminadas, por % PDI, macrozona de origen y uso de antibióticos.	36
<b>TABLA 10:</b> Hipótesis de análisis de varianza factorial.	36
<b>TABLA 11:</b> Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.	37
<b>TABLA 12:</b> Análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.	38
<b>TABLA 13:</b> Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (PDI).	39
<b>TABLA 14:</b> Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.	39

<b>TABLA 15:</b>	Interacciones entre % PDI y vacunas comerciales.	40
		Pág.
<b>TABLA 16:</b>	Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.	41
<b>TABLA 17:</b>	Análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.	42
<b>TABLA 18:</b>	Diferencias de mortalidad entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (macrozona).	43
<b>TABLA 19:</b>	Diferencias de mortalidad entre macrozonas.	43
<b>TABLA 20:</b>	Coefficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.	44
<b>TABLA 21:</b>	Interacciones entre macrozonas y vacunas comerciales.	44
<b>TABLA 22:</b>	Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.	45
<b>TABLA 23:</b>	Análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.	46
<b>TABLA 24:</b>	Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (uso de antibióticos).	47
<b>TABLA 25:</b>	Coefficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.	47
<b>TABLA 26:</b>	Interacciones entre uso de antibióticos y vacunas comerciales.	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>FIGURA 1:</b> Número de jaulas tratadas contra vibriosis en <i>S. salar</i> , por vacuna utilizada.	28

## RESUMEN

Este estudio epidemiológico evaluó la efectividad de vacunas a partir de las mortalidades acumuladas atribuibles a vibriosis (*Vibrio sp.*) en la especie *Salmon salar*. Además, se comparó la efectividad de las vacunas comerciales durante el periodo 2004 – 2005 y la influencia de periodo de desarrollo de inmunidad (PDI), macrozona de origen y uso de antibióticos en la efectividad de las vacunas. Se analizaron las encuestas provenientes de 15 centros de las regiones X y XI de Chile, pertenecientes a 8 empresas. Los resultados confirmaron que la vacunación efectivamente es un manejo preventivo contra la presencia de Vibriosis (RR = 0,34) y que existen diferencias significativas entre los promedios de mortalidades entre los grupos vacunados y no vacunados. Mediante análisis de varianza se observaron diferencias significativas entre las mortalidades de las vacunas comerciales. Al evaluar PDI, macrozona y uso de antibióticos (Análisis de varianza factorial), éstos resultaron influir en la eficacia de las vacunas comerciales utilizadas por los centros participantes en el estudio. No se pudo evaluar la interacción entre PDI y vacunas. Estos resultados indican que factores, como los antes mencionados, pueden influenciar positiva o negativamente el desempeño de las vacunas.

**Palabras claves:** efectividad, vacunas, mortalidad, vibriosis, PDI, macrozona, antibióticos.

## SUMMARY

This epidemiologic study evaluated the vaccine effectiveness from accumulated mortalities attributable to vibriosis (*Vibrio sp.*) in *Salmo salar*. In addition, the effectiveness of commercial vaccines during period 2004 – 2005 and influence of period of development of immunity (PDI), macrozone of origin and antibiotics use in the effectiveness of vaccines. The originating surveys of 15 centers of regions X and XI of Chile were analyzed, pertaining to 8 companies. The results confirmed that the vaccination indeed is a preventive handling against the presence of Vibriosis (RR = 0.34) and that exist significant differences between the averages of mortalities of groups vaccinated and not vaccinated. By means of analysis of variance, significant differences between mortalities of commercial vaccines were observed. When evaluating PDI, macrozone and antibiotics use (Analysis of factorial variance), these turned out to influence the effectiveness of commercial vaccines used by the participant centers in the study. The interaction between PDI and vaccines could not be evaluated. These results indicate that factors as before mentioned can influence positive or negatively vaccine performance.

**Key words:** effectiveness, vaccines, mortality, vibriosis, PDI, macrozone, antibiotics.

## 1. INTRODUCCIÓN

Chile ha presentado un crecimiento sostenido en el sector salmonicultor que lo ha llevado a ser el principal país productor de salmónidos a nivel mundial junto con Noruega. Según cifras de la Subsecretaría de Pesca (Subpesca, 2005), del total del volumen cosechado en el sector acuícola (716,3 mil toneladas) un 80% (573 mil toneladas) corresponden a la actividad salmonicultora. Además, las exportaciones del sector pesquero alcanzaron US\$ 3.080 millones en el año 2005, de los cuales un 33,7% corresponde a salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (congelado y fresco refrigerado), 9,9% a trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (congelado) y 8,9% a salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) (congelado) (Subpesca, 2005).

Este importante crecimiento no hubiera sido posible sin las ventajas comparativas que presenta Chile, como son las condiciones naturales, geográficas y climáticas, principalmente en la X, XI y XII regiones. Éstas corresponden a extensas zonas marinas costeras en gran parte libres de contaminación, lo cual induce una atmósfera económica favorable para la inversión y la actividad empresarial, elevada calidad de recursos humanos, disponibilidad de insumos alimenticios con excelentes estándares de calidad a un precio altamente competitivo (harina de pescado), y una aparente ausencia (o mínima cantidad) de agentes patógenos para las especies salmonídeas (Smith *et al.*, 2002). Sin embargo, la producción intensiva junto con el constante aumento del volumen de producción concentrada principalmente en la X región, así como la importación de ovas, coloca a Chile en una condición sanitaria vulnerable, ya que existe el riesgo permanente de introducción y diseminación de enfermedades infectocontagiosas (Bustos, 1993).

Inicialmente las enfermedades en salmones de cultivo no representaban un problema de gran magnitud. Sin embargo, han surgido agentes patógenos responsables de mortalidades masivas, siendo las enfermedades bacterianas responsables de causar enfermedades en los salmones. Su importancia no está dada solamente por las pérdidas económicas que ocasionan en todo el mundo, cualquiera que sea el tipo de producción piscícola que se considere, sino igualmente por su impacto sobre poblaciones naturales de peces y por la amenaza sanitaria que directa o potencialmente, representan algunos gérmenes en la salud humana (De Kinkelin *et al.*, 1985; Reed y Francis-Floyd, 1996). Entre estas enfermedades la Vibriosis es una de las más prevalentes (Actis *et al.*, 1999) y generan altas mortalidades en la acuicultura mundial (Egidius, 1987) transformándose en la enfermedad económicamente más importante en los cultivos de peces en los últimos años (Actis *et al.*, 1999).

La aparición de nuevos agentes patógenos de salmonídeos en la industria salmonera chilena, ha puesto en evidencia la necesidad de desarrollar mecanismos de protección que armonicen con las nuevas políticas del país en relación con los cuidados del medio ambiente y el uso limitado y racional de drogas antimicrobianas. Es por esto que, el uso de vacunas para la prevención de enfermedades es hoy en día la alternativa más eficaz que permite controlar posibles emergencias sanitarias (Cristi, 2006).

A pesar de ello, aun no existe claridad respecto a la efectividad de las vacunas disponibles en el mercado contra la Vibriosis, por lo que se hace necesario realizar estudios epidemiológicos poblacionales que permitan evaluar el efecto protector de las vacunas existentes.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La Vibriosis es una infección bacteriana sistémica que afecta a diferentes especies de peces marinos y de estuario, causada por bacterias de la familia *Vibrionaceae*, del género *Vibrio*. Se han descrito brotes de la enfermedad en agua dulce pero son poco frecuentes (Plumb, 1999; Godoy, 2004) y también ha sido considerada una de las principales enfermedades que afectan a los peces en agua de mar (Godoy, 2004). Los brotes de la enfermedad parecen estar relacionados con alzas en la temperatura y, hasta el momento, no se ha detectado que sea patógena para animales de sangre caliente (Egidius, 1987).

El género *Vibrio* son bacterias anaeróbicas facultativas, bacilos de morfología recta o curva de 0,5-0,3  $\mu\text{m}$ . por 1,4-2,6  $\mu\text{m}$ . y móviles gracias a la presencia de un flagelo polar (Actis *et al.*, 1999). No son formadores de esporas, fermentan carbohidratos con la producción de ácido pero no de gas, son ubiquitarias y su hábitat natural son los ecosistemas marinos, estuarios y algunas especies pueden ser encontradas en agua dulce (Inglis *et al.*, 1993).

En general, la vibriosis es un término utilizado para identificar un grupo de enfermedades bien conocidas y que ha sido reportada en un gran número de especies marinas de peces (Egidius, 1987). Entre las variedades reportadas que causan infecciones en peces, se encuentran *Vibrio carchariae*, *Vibrio cholera*, *Vibrio harvei*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio tubiashi*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio pelagicus*, *Vibrio fisheri* y *Photobacterium* (o *Vibrio*) *damsela*. En tanto, las

enfermedades de importancia causadas por especies de *Vibrio* que afectan a los cultivos de salmónidos en el mundo, se encuentran el *Vibrio anguillarum* (antes conocida como *Listonella anguillarum*) y *Vibrio ordalii*, la enfermedad de aguas frías o enfermedad de Hitra (*Vibrio salmonicida*) y úlcera de invierno (*Moritella viscosa*) (Godoy, 2004).

*V. anguillarum* fue descrito por primera vez como agente etiológico de la peste roja de las anguilas en 1909 por Bergman en el mar Báltico (Egidius, 1987). Antes de esto, Canestrini en 1893 había descrito epizootias en anguilas migratorias (Egidius, 1987; Actis *et al.*, 1999). En 1976, Harrell *et al.*, demostraron que hay heterogenicidad en aislados de *V. anguillarum*, lo que llevó a la división de la especie en dos biotipos, 1 y 2 respectivamente (Actis *et al.*, 1999). Investigaciones posteriores demostraron que habían grandes diferencias fenotípicas y genotípicas entre ambos biotipos (Schiewe *et al.*, 1981) por lo cual, se determinó que el biotipo 2 pasó a ser una nueva especie. Esta nueva especie fue nombrada *Vibrio ordalii* en honor al investigador Erling J. Ordal (Actis *et al.*, 1999).

La enfermedad causada por *V. anguillarum* ha sido denominada peste roja, furunculosis de agua salada, “boil disease” y enfermedad de las úlceras, así como también vibriosis que es el nombre universalmente aceptado (Austin y Austin, 1999).

Existe evidencia de los primeros hallazgos de *V. anguillarum* en Chile desde 1988, donde a partir del tracto digestivo de *Mytilus chilensis* (chorito común) y de lesiones externas de un ejemplar de salmón coho, se aislaron dos cepas de *V. anguillarum* (Carvajal *et al.*, 1989). Un estudio del año 1990 cita la importancia de no haber aislado *Vibrio sp.* como tampoco haber observado sintomatología clínica de Vibriosis, lo que permitió

concluir que Chile estaba en una situación privilegiada con respecto a la presencia del patógeno responsable de la enfermedad (Muñoz, 1990).

*V. ordalii* es una de las mayores causas de vibriosis en salmones silvestres y de cultivo en Estados Unidos y Japón, donde ocasiona grandes pérdidas, así como también ha sido diagnosticada en Australia y Nueva Zelanda (Colquhoun *et al.*, 2004).

El primer diagnóstico de *V. ordalii* en Chile se realizó en julio del 2003 a partir de brotes que afectaron a salmones del Atlántico en Quellón y el Archipiélago de las Guaitecas (Colquhoun *et al.*, 2004) y, posteriormente, se aisló de trucha arco iris y salmón coho. Así como ha ocurrido con otras enfermedades, es probable que la Vibriosis haya permanecido desapercibida desde el 2002. A partir de los datos del Programa de Vigilancia Pasiva del Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca), es posible observar reportes de *Vibrio sp.* desde el año 1997 en ejemplares de salmón del Atlántico, trucha arco iris y salmón coho; situación que cambió en el año 2003, cuando las condiciones hicieron que la enfermedad se expresara con un alto grado de patogenicidad antes no observado (Godoy, 2004).

La bacteria en Chile es considerado como un *V. ordalii* atípico, que la hace diferente al *V. ordalii* clásico que se presenta en Norteamérica (Benediktsdottir *et al.*, 2000). Esta es una bacteria a la fecha no descrita a nivel mundial, pero que es extraordinariamente similar (99% de similitud) al *V. ordalii* clásico, previamente caracterizado en otros países (Benediktsdottir *et al.*, 2000). Afecta principalmente a todas las tallas de especies salmón del Atlántico y trucha arco iris cultivados en centros de mar y zonas estuarinas de las regiones X, XI y XII. (Godoy, 2004).

La epidemiología de *V. ordalii* es semejante a la de *V. anguillarum* (Roberts, 2001), pero se diferencian básicamente en que *V. anguillarum* constituye parte de la microflora normal de los ambientes marinos y de la microflora normal de los peces marinos a diferencia de *V. ordalii* que es raramente aislado fuera del pez (Austin y Austin, 1999). *V. anguillarum* es transmitido por la columna de agua y por el contacto de peces sanos con peces enfermos (Plumb, 1999).

La transmisión ocurre en forma horizontal y existen dos vías de ingreso al huésped: a través del recto e intestino posterior y a través de la piel, cuando presenta pérdida de su integridad (Godoy, 2004). Es posible aislar *Vibrio sp.* del tracto intestinal de peces clínicamente sanos, invadiendo tejidos como hígado, bazo, músculo y branquias generando la enfermedad sistémica (Reed y Francis-Floyd, 1996; Austin y Austin, 1999). Entre las principales fuentes de infección se encuentran los peces y la mortalidad (Godoy, 2004).

La prevalencia de la enfermedad es mayor en verano cuando las condiciones medioambientales favorecen un ascenso de la temperatura de la columna de agua y una disminución del oxígeno disuelto en ella lo cual induce un aumento en la mortalidad de los peces enfermos. Además, altas densidades de cultivo o pobre higiene contribuyen a la epidemia (Plumb, 1999). El período de incubación varía con la temperatura y la calidad del agua, la virulencia de la cepa y el grado de estrés a que estén sometidos los peces. La enfermedad se desarrolla en salmónidos cuando la temperatura ambiental bordea los 10- 11 °C y puede producir mortalidades cercanas a un 50% si afecta a peces jóvenes (Roberts, 2001).

Los cuadros observados en fase de mar se presentan durante todo el año con características subaguda a crónica, registrándose mortalidades acumuladas promedio entre 5% y 22%; aunque se han presentado con mortalidades de hasta un 35%. Las recaídas infecciosas son frecuentes, especialmente cuando las terapias han sido inoportunas o se presentan cuadros infecciosos mixtos.

*V. ordalii* genera cuadros más severos que *V. anguillarum* y tiene mayor afinidad por el tejido músculo esquelético en donde se le encuentra más abundantemente formando micro colonias (Egidius, 1987). En algunos tejidos infectados la bacteria puede causar necrosis y hemorragias alrededor de éstos. Colonias de la bacteria son comúnmente encontradas en el tejido conectivo de branquias, tracto digestivo y ciegos pilóricos. Ocasionalmente se pueden observar microcolonias en hígado y bazo. Salmones juveniles expuestos parenteralmente a esta bacteria desarrollan una infección sistémica y la bacteria puede ser aislada desde hígado, riñón, bazo y sangre inmediatamente después de la inyección. Sin embargo, el número de agentes en el hígado disminuye después de una hora y aumenta a las 22 horas post- infección. Este aumento de bacterias es alto en todos los órganos y genera una mortalidad de un 100% durante los 6 días post- infección (Actis *et al.*, 1999).

Los primeros signos de vibriosis son anorexia, oscurecimiento de la piel y muerte súbita. En los salmónidos estos signos pueden ser los únicos en presentarse a los que a veces se suma una hidropesía periorbital y/o abdominal (Roberts, 2001). Los signos son los de un síndrome hemorrágico bacteriano (Actis *et al.*, 1999) con palidez de branquias, lesiones hemorrágicas y necróticas en piel, hemorragia ocular, en la cavidad corporal se

puede encontrar con fluido ascítico sanguinolento, petequias en hígado, riñón, tejido adiposo y en el peritoneo (Plumb, 1999). Las típicas lesiones externas son úlceras en la piel con zonas necróticas rojizas de la musculatura, eritema en la base de las aletas, alrededor de la boca y hemorragia en las branquias (Inglis *et al.*, 1993).

En cuadros sobre agudos generalmente no hay presencia de ningún signo, aunque en algunas ocasiones se describe una severa cardiomiopatía (Roberts, 2001), exoftalmia (Inglis *et al.*, 1993; Reed y Francis-Floyd, 1996), descamación de la piel, hepatomegalia y esplenomegalia dentro de las primeras doce horas de haber sido expuestos los peces a la bacteria (Austin y Austin, 1999). En cuadros agudos aparecen en la piel pequeños aumentos de volumen de color oscuro que se ulceran liberando un exudado sanguinolento y pueden así exponer la musculatura. Estas úlceras pueden ser muy profundas pudiendo necrosarce, tejido que contendrá un gran número de bacterias. Internamente hay licuefacción del bazo y riñón, petequias en las vísceras y peritoneo parietal. Además de hemorragias en la superficie del corazón (Inglis *et al.*, 1993; Roberts, 2001). En cuadros de carácter crónico las lesiones de la piel se pueden organizar y evolucionar a granulomas, branquias usualmente permanecen pálidas debido a sucesivas hemorragias originadas en la cavidad abdominal las que pueden producir adherencias entre las vísceras (Inglis *et al.*, 1993; Roberts, 2001), se observa además opacidad corneal que puede llegar hasta la ulceración y pérdida del ojo (Inglis *et al.*, 1993).

El diagnóstico de vibriosis se realiza con el aislamiento e identificación de la bacteria mediante la toma de tejido renal o hepático para realizar un cultivo microbiológico por 48 horas a 22 °C en Agar Trypticase de Soya (TSA) enriquecido con NaCl al 1%

(TSA/sal) o Muller Hinton. Los cultivos forman colonias circulares convexas, viscosas, de color grisáceo de 1 mm a 1,5 mm de diámetro (Plumb, 1999). Las bacterias del género *Vibrio* son sensibles al vibriostático O/129 (Actis *et al.*, 1999). Una confirmación preliminar del agente se puede obtener valiéndose de la antigenicidad cruzada con *V. anguillarum* utilizando un test de aglutinación rápida (Godoy, 2004).

En el diagnóstico histopatológico se evidencia necrosis muscular y de piel, necrosis y depleción de los elementos hematopoyéticos presentes en el hígado y riñón además de una severa necrosis focal en hígado (Inglis *et al.*, 1993; Roberts, 2001). Se presentan depósitos de hemosiderina entre los centros de melanomacrófagos en los casos crónicos (Roberts, 2001).

Las medidas de control de la enfermedad se basan en mejorar las condiciones ambientales o rutinas de producción, como por ejemplo tratar de mejorar los parámetros de calidad del agua, densidad de cultivo, mantener altos estándares de sanitización como desinfección de equipos, utensilios y restricción en el número de visitantes (Plumb, 1999).

La antibioterapia es el método de control más usado siendo oxitetraciclina, sulfonamidas y nitrofuranos, los medicamentos más utilizados. Sin embargo, los peces anoréxicos no reciben el tratamiento adecuado debido a que los antibióticos son administrados por vía oral a través de los alimentos (Inglis *et al.*, 1993; Roberts, 2001). La inmunización y selección genética han mostrado generar resistencia de los peces frente a las Vibriosis, disminuyendo así considerablemente las mortalidades (Roberts, 2001).

El uso de vacunas para la prevención de enfermedades es hoy en día la alternativa más eficaz, que de igual modo responde con la necesidad de controlar emergencias sanitarias. Además, coincide con las nuevas políticas del país en relación con los cuidados del medio ambiente y el uso racional de drogas antimicrobianas (Cristi, 2006).

La vacunación juega un rol importante en cultivos comerciales de peces a gran escala y ha sido la razón por la cual el cultivo de salmones ha tenido tanto éxito (Somerset *et al.*, 2005). Es una de las herramientas de mayor eficacia en la prevención de enfermedades en cualquier programa de salud animal (Dorson, 1981). Además de reducir la dependencia a los antibióticos, previenen la aparición de enfermedades que no pueden ser tratadas con sustancias antimicrobianas, reducen el impacto de infecciones crónicas y los peces tienen una tasa de crecimiento mayor que los enfermos, lo que incrementa la producción. También se produce una disminución de los portadores y por ende una reducción de la diseminación del agente. Al mismo tiempo, no genera residuos en el pez y en el medio ambiente como en el caso de los antibióticos (Bravo, 2000).

Existen tres métodos de vacunación de peces: inyección, inmersión y administración oral (Somerset *et al.*, 2005). La vacunación vía intraperitoneal es la más usada en la industria y es la ruta más potente de vacunación al permitir el uso de coadyuvante (Carvajal, 2000). La ventaja de aplicar vacunas inyectables es que el volumen necesario es relativamente bajo y cada pez recibe la dosis necesaria (Somerset *et al.*, 2005). Sin embargo, es la vía que produce mayor estrés en el pez y en algunos casos las lesiones en piel dan un aspecto desfavorable, que puede afectar su valor comercial (Somerset *et al.*, 2005). Las vacunas por inmersión son fáciles de administrar en peces pequeños, en

contraste con las vacunas inyectables que requieren de mucho trabajo y de un tamaño mínimo del pez, lo que hace muy difícil su aplicación en peces pequeños. La vacunación vía oral sería el método ideal de vacunación y ya se están haciendo esfuerzos para el desarrollo de este tipo de vacuna. Sin embargo, se han reportado respuestas pobres e inconsistentes de vacunas orales tradicionales debido a la destrucción del antígeno en el estómago. Diferentes acercamientos se han realizado para proteger al antígeno de la degradación tales como antígenos encapsulados (liposomas), neutralización de las secreciones gástricas o aplicaciones de vacunas en biopelículas, las que han demostrado resultados promisorios. Sin embargo, se requiere de una gran cantidad de antígeno para inducir protección y la respuesta protectora generalmente es baja y de corta duración. Es por esto que las dos vías de vacunación más empleadas en peces son por inyección (principalmente inyección intraperitoneal) y por inmersión (Somerset *et al.*, 2005).

Durante largo tiempo han existido vacunas de primera generación (tradicionales), a base de bacterinas y virinas (bacterias o virus inactivados). En los últimos años, se sumaron las vacunas recombinantes y las de DNA, de segunda y tercera generación respectivamente. En Chile, actualmente, se comercializan vacunas de primera y segunda generación, que utilizan adyuvantes que aumentan la capacidad inmunogénica (Carvajal, 2000).

La primera enfermedad de salmones que se intentó controlar a través de la vacunación fue en Estados Unidos en el año 1930 para el control de la furunculosis (*Aeromonas salmonicida*) (Carvajal, 2000). Sin embargo, disminuyó el interés por la aplicación de las vacunas después del descubrimiento de los antibióticos en 1950. La primera vacuna bacteriana disponible comercialmente fue contra la enfermedad de la boca

roja (*Yersinia ruckeri*) y vibriosis, introducida en los Estados Unidos a finales de la década de los setenta. Estas vacunas eran inactivadas y administradas por inmersión, y probaron ser eficientes en la prevención de importantes enfermedades bacterianas; el hecho que estas vacunas pueden producirse a bajo costo las hacen ideales para su uso en acuicultura (Sommerset *et al.*, 2005). El uso indiscriminado de antibióticos produjo una resistencia de los microorganismos, así como también la aparición de efectos adversos en los seres humanos, por los residuos que éstos dejaban en la canal del animal y por los daños que provocaban al medio ambiente (Carvajal, 2000). Hoy en día las vacunas volvieron a ganar terreno, debido a que los agentes patógenos desarrollaron resistencia a los antibióticos (Palacios, 2001).

La temperatura, el estrés ambiental y el estrés por manejo (como fotoperiodo, cambios de estación, salinidad, presencia de metales pesados, altas densidades y transporte) pueden inducir supresión de la respuesta inmune y ser un factor limitante para la vacunación (Sommerset *et al.*, 2005).

La efectividad de la vacuna no sólo depende de que esta sea buena, sino que además de su correcta aplicación, el uso en el momento adecuado y del buen manejo de los peces (Palacios, 2001).

Los mayores productores de vacunas para peces son: Intervet Internacional, Novartis Animal Health, Schering-Plough Animal Health, Pharmaq y Bayer Animal Health. Los principales mercados para estas compañías son los países productores de salmónidos (salmones y truchas) en Europa del Norte, Chile, Canadá y Estados Unidos,

donde el valor de una población sana justifica el precio pagado por dosis de vacuna. Las compañías farmacéuticas han realizado investigaciones considerables en vacunas para peces; sin embargo, limitada información se encuentra disponible en publicaciones científicas (Sommerset *et al.*, 2005).

La inmunización y selección genética han mostrado generar resistencia de los peces frente a las vibriosis, disminuyendo las mortalidades (Roberts, 2001). La inmunización mediante la aplicación de programas de vacunación con productos bivalentes con *V. anguillarum* y *V. ordalii*, han mostrado tener éxito disminuyendo los porcentajes de mortalidad de los peces cultivados, debido a que ambos agentes tienen inmunidad cruzada (Austin y Austin, 1999).

La principal meta de la vacunación es inducir protección específica de larga duración contra a una cierta enfermedad. Se ha debatido sobre si la efectiva protección de vacunas de larga duración con adyuvantes oleosos, se debe a la memoria inmunológica o a la constante estimulación desde el lugar de depósito del antígeno (Sommerset *et al.*, 2005).

El uso de vacunas en Chile comenzó a principios de los años 80 cuando los primeros “stocks” de salmón coho fueron vacunados contra vibriosis antes del traslado al mar. Sin embargo, después de unos años, esta práctica fue descontinuada debido a que aún no había evidencias de presencia de esta enfermedad (Bravo y Midtlyng, 2007).

Actualmente, en el país son 26 las vacunas autorizadas por el SAG con Registro Provisional (SAG, 2007). De éstas, 11 corresponden a vacunas contra Vibriosis, 1

monovalente y 10 combinadas o polivalentes; respecto a la vía de administración, las 11 vacunas son inyectables. Sólo 2 de las vacunas presentan como especie de destino a la trucha arcoiris, mientras que las 9 restantes corresponden a vacunas para salmón del Atlántico (Anexo 1).

Como la Vibriosis es una enfermedad emergente en Chile, se debe contar con la mayor información posible sobre las vías de ingreso del agente y de la patogenia de la enfermedad; facilitándose la aplicación de eficientes medidas para su control tanto en peces cultivados como de la ictiofauna que comparte el mismo ecosistema (Almonacid, 2006).

A futuro, la expectativa en el área de la prevención sanitaria es que no sólo exista una mayor cantidad y diversidad de productos, sino que las innovaciones provengan de la disponibilidad de vacunas bivalentes y polivalentes. El objetivo es que, a través de una sola dosis, el pez reciba inmunización para varias enfermedades (Palacios, 2001).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la efectividad en terreno que presenta la vacunación, como medida de prevención de casos clínicos de vibriosis (*Vibrio sp.*) en *Salmo salar*.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 3.2.1. Determinar si la vacunación es un factor protector contra cuadros clínicos de vibriosis en *Salmo salar*.
- 3.2.2. Determinar si existen diferencias en la efectividad entre 6 vacunas comerciales contra vibriosis disponibles en el mercado.
- 3.2.3. Determinar si el porcentaje del periodo de desarrollo de inmunidad (% PDI), macrozona de cultivo y uso de antibióticos interactúan sobre la efectividad de las vacunas comerciales evaluadas.

#### 4. HIPÓTESIS

- 4.1. La vacunación es un factor protectorio contra cuadros clínicos de vibriosis en *Salmo salar*.
- 4.2. Existen diferencias de efectividad entre las vacunas comerciales disponibles en el mercado nacional utilizadas por la industria salmonicultora chilena, para el control de vibriosis, en la especie *Salmo salar*.
- 4.3. El porcentaje de periodo de desarrollo de inmunidad (% PDI) de una vacuna, la macrozona de cultivo y el uso de antibióticos son factores que interactúan con la efectividad de vacunas comerciales contra vibriosis, en *Salmo salar*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. GENERALIDADES.

Se realizó un estudio observacional retrolectivo de cohortes. La unidad epidemiológica fueron los peces contenidos en una jaula, los que se caracterizaban por tener la misma procedencia de las ovas, la misma instalación de origen, el mismo momento de esmoltificación, y en general, recibieron los mismos tratamientos y manejos.

La realización de estudios observacionales de cohorte es una buena estrategia para determinar si las vacunas comerciales resultan ser un factor protectorio contra enfermedades. En este tipo de estudio se selecciona un grupo (cohorte) de animales expuestos a un factor causal o protectorio hipotético y otro no expuesto a dicho factor. Estos grupos son seguidos y observados con el fin de registrar el desarrollo de la enfermedad en cada uno (Thrusfield, 2005). De este modo, existen dos cohortes:

- Vacunados, y
- No vacunados.

El período del estudio comprendió desde el traslado de los peces al centro de mar, hasta el final del ciclo (12 meses) o hasta antes del desdoble<sup>1</sup>. Al realizar el desdoble, los peces son separados y puestos en diferentes jaulas, los que no permite continuar con el seguimiento o trazabilidad.

---

<sup>1</sup> Desdoble: es el proceso de aumentar el espacio disponible a la población de una jaula para lograr las densidades requeridas (SERNAPESCA, 2006).

Las cohortes fueron seleccionadas de la población de jaulas con peces ingresados a centros de mar en la temporada 2004-2005.

Se trabajó con mortalidades como factor de efectividad (como porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a vibriosis). Se debe incluir la variable mortalidad atribuible expresada en porcentaje de la biomasa, es decir, el porcentaje de la biomasa acumulada que se perdió por concepto de la enfermedad. Según Patricio Bustos<sup>2</sup>, director del Laboratorio ADL Diagnostic, la mortalidad es retirada diariamente desde los centros. La primera aproximación diagnóstica es en terreno mediante una necropsia realizada por un profesional calificado. Posterior a esto, si el diagnóstico aún es incierto, se envían muestras a un laboratorio de referencia autorizados por Sernapesca para su análisis.

Las acciones y protocolos para determinar que las mortalidades fueron causadas por vibriosis, fueron proporcionados por los centros participantes en el estudio, asociados al Instituto Tecnológico del Salmón (INTESAL).

El estudio se efectuó en forma ciega, es decir, no se tuvo conocimiento de los nombres ni características de las empresas o centros de cultivo para evitar posibles sesgos. Los datos a evaluar en esta investigación fueron entregados por INTESAL en forma codificada.

---

<sup>2</sup> Comunicación personal (enero, 2007).

Las vacunas comerciales contra vibriosis que se evaluaron fueron las utilizadas por los asociados a INTESAL, en la temporada 2004-2005. Se seleccionaron centros de empresas colaboradoras y dentro de cada centro, todas las jaulas, excepto:

- Jaulas que fueron desdobladas y que no fue posible mantener la traza de los peces.
- Jaulas en las que se usaron más de dos marcas de vacunas.

El tamaño mínimo fue calculado con la fórmula de Schlesselman (Graat *et al.*, 2001) y corresponde a 30 jaulas con individuos vacunadas y 30 jaulas con individuos no vacunadas.

## **5.2. MATERIALES.**

La herramienta utilizada para la colección de los datos fue una encuesta (Anexo 2). La validación de la encuesta como herramienta, fue realizada por profesionales de INTESAL, laboratorios asociados y empresas participantes; se recibieron comentarios de la encuesta antes de que ésta fuese respondida.

Cada encuesta recibida fue examinada para verificar que estuviera bien respondida y que no faltaran datos de importancia, lo que constituyó el primer filtro. En caso de estar incompletas, se solicitó a INTESAL que reenviara el formulario para completar o corregir los antecedentes entregados. Posteriormente, todas las encuestas válidamente contestadas se tabularon en una planilla MS Excel (Microsoft Corporation, 2000).

### **5.3. METODOLOGÍA.**

#### **5.3.1. EFECTIVIDAD DE LA VACUNACIÓN.**

##### **5.3.1.1. RIESGO RELATIVO (RR).**

Con el objeto de comprobar si la vacunación contra vibriosis es un factor protector sobre la presentación de cuadros clínicos de vibriosis en la fase de cultivo de *Salmo salar*, se calculó el Riesgo Relativo como medida de asociación. Para ello se construyó una tabla de contingencia (Tabla 1), donde el factor a evaluar independiente fue la vacunación o no contra vibriosis, y como variable respuesta (o dependiente), la mortalidad por brotes vibriosis (casos y no casos).

El Riesgo Relativo mide la fuerza de la asociación entre la exposición al riesgo y la enfermedad y representa cuantas veces es más (o menos) posible que una enfermedad ocurra en el grupo expuesto comparado con el no expuesto (Taucher, 1999). Corresponde a la razón entre la tasa de incidencia de los individuos expuestos (casos) y la tasa de incidencia de los individuos no expuestos (no casos).

**Tabla 1.** Tabla de contingencia de 2 x 2

	<b>Jaulas vacunadas</b>	<b>Jaulas no vacunadas</b>	<b>Total</b>
<b>Casos</b>	A	B	M <sub>1</sub>
<b>No casos</b>	C	D	M <sub>2</sub>
<b>Total</b>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N

Fuente: Taucher (1999), Dohoo *et al.* (2003).

$$p_1 = A / M_1$$

$$p_2 = C / M_2$$

$$\mathbf{RR = p_1 / p_2}$$

Como casos se consideraron las jaulas que presentaron porcentaje de mortalidades acumuladas, atribuibles a vibriosis (*Vibrio sp.*), mayores al 6% (0,5% mensual por 12 meses). Los no casos (controles) fueron las jaulas que presenten mortalidades acumuladas, atribuibles a vibriosis (*Vibrio sp.*), menor o igual a 6% (0,5% mensual por 12 meses).

### **5.3.1.2. PRUEBA DE STUDENT (*t*).**

Además, se compararon los porcentajes de mortalidad acumulada entre el grupo de peces vacunados y no vacunados con la **prueba de t** o de “**Student**”, para muestras independientes. Ésta se utiliza cuando se comparan los promedio de dos muestras para determinar si la diferencia entre ellos es estadísticamente significativa (Taucher, 1999). Los cálculos fueron realizados con el apoyo del programa InfoStat (2004). Se calculó su significación estadística con 95% de confianza.

Se calculó tanto el Riesgo Relativo como la prueba de “Student” ya que ambos, en conjunto, otorgan una mayor seguridad en determinar la efectividad de la vacunación. El Riesgo Relativo corresponde a una medida de asociación que compara la presencia de casos y no casos en el grupo de vacunados y no vacunados, mientras que la prueba de “Student” compara las medias de vacunados y no vacunados.

### **5.3.2. EFECTIVIDAD DE VACUNAS COMERCIALES.**

#### **5.3.2.1. ANÁLISIS DE VARIANZA.**

Para determinar la efectividad de vacunas comerciales se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Como variable independiente se tuvo la vacunación, y como variable dependiente, el porcentaje de mortalidad atribuible. Los cálculos fueron realizados con el apoyo del programa InfoStat (2004). Para cada comparación se calculó su significación estadística con 95% de confianza. Se asumieron varianzas iguales (Tukey).

#### **5.3.2.2. ANÁLISIS DE VARIANZA FACTORIAL.**

Para determinar la efectividad de vacunas comerciales se estudiaron las variables indicadoras de efectividad de vacunas, se realizaron interacciones de éstas con cada vacuna comercial y se analizaron mediante análisis de varianza factorial. En lugar de tener una tabla de ANDEVA con un solo factor, se tuvieron tres factores presentes en un modelo de dos factores (Factor A, Factor B, Factor A\*Factor B). Como variable independiente se tuvo la vacunación, y como variable dependiente, el porcentaje de mortalidad atribuible. Los

cálculos fueron realizados con el apoyo del programa InfoStat (2004). Para cada comparación se calculó su significación estadística con 95% de confianza. Para todos los cálculos se asumieron varianzas iguales (Tukey). A continuación, las variables indicadoras de efectividad:

- Periodo de desarrollo de inmunidad (PDI): corresponde al periodo recomendado por el productor de la vacuna, en unidades térmicas acumuladas<sup>3</sup>, para que los individuos vacunados desarrollen una respuesta inmune suficiente que les confiera protección.
- Macrozona de cultivo.
- Uso de antibióticos (variable dicotómica).

Se determinaron 3 macrozonas de cultivo (Anexo 3):

- **Zona norte o macrozona 1:** Estuario del Reloncaví, Seno del Reloncaví (zona de Puerto Montt), Calbuco, Chiloé Norte y Centro (Castro).
- **Zona centro o macrozona 2:** Chiloé Sur (Quellón), Hornopirén, Reñihué y Chaitén.
- **Zona sur o macrozona 3:** Puerto Cisnes, Melinka, Chonos, Puerto Aysén y Cupquellán.

En la variable % PDI las jaulas se dividieron en 2 grupos, siendo un primer grupo todas aquellas jaulas vacunadas en las que se cumplió un % PDI > a 80%, y el segundo grupo las jaulas vacunadas en las que se cumplió un PDI < o igual a 80%.

---

<sup>3</sup> Producto de grados de temperatura (°C) sobre cero por el número de días (Fundación Chile, 2003).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO GENERAL.

Se recibió información correspondiente a 253 jaulas de las especies *Salmo salar*, entregadas por 8 empresas. Del total, fueron dejadas fuera del estudio 73 jaulas (28,8%), ya sea porque se entregó información para un período distinto al del estudio (2004 – 2005) o porque la información entregada para mortalidad atribuible acumulada (indicador principal de efectividad de vacunas) era inexistente o no fue confiable, lo que arroja 180 jaulas efectivas (vacunadas y no vacunadas). Los detalles de la información recibida y las causas de eliminación de las jaulas se presentan en la Tabla 2, según empresa y centro.

**Tabla 2.** Resumen de jaulas recibidas, eliminadas y efectivas por empresa y centro.

Empresa	Centro	Macro zona	Jaulas recibidas	Jaulas eliminadas	Jaulas efectivas	Causa de eliminación	Jaulas efectivas empresa
01	01	3	10	0	10		10
02	01	2	12	0	12	Periodo distinto al de estudio	12
03	01	3	7	7	0	Periodo distinto al de estudio Periodo distinto al de estudio	28
	02	1	14	0	14		
	03	2	14	0	14		
	04	3	21	21	0		
	05	1	14	14	0		
04	01	3	10	0	10	Insuficiencia datos ( <i>O. mykiss</i> )	20
	02	3	10	10	0		
	03	3	10	0	10		
05	01	1	7	0	7		7
06	01	3	4	0	4		4
07	01	3	20	0	20		20
08	01	1	18	0	18	Sin información para mortalidad	79
	02	1	19	0	19		
	03	1	15	0	15		
	04	2	14	14	0		
	05	2	17	0	17	Sin información para mortalidad	
	06	2	7	7	0		
	07	3	8	0	8		
	08	3	2	0	2		
<b>TOTAL</b>			<b>253</b>	<b>73</b>	<b>180</b>		<b>180</b>

El análisis de las encuestas recibidas, para vibriosis, entrega un total de 180 jaulas efectivas, todas pertenecientes a la especie *S. salar*; éstas fueron aportadas por 15 centros distribuidos en las 3 macrozonas. El promedio de jaulas efectivas por centro fue 12.

Del total de jaulas efectivas, 47 correspondieron a jaulas caso y 133 a jaulas control, pudiendo establecerse una proporción general de casos de vibriosis en 26,1%. Cabe señalar que el punto de corte establecido para definir los casos se fijó en mayor que 6% (0,5% mensual por 12 meses) durante todo el ciclo de agua de mar o hasta antes del desdoble. Respecto al estado de la vacunación, 165 jaulas fueron vacunadas y 15 jaulas no vacunadas.

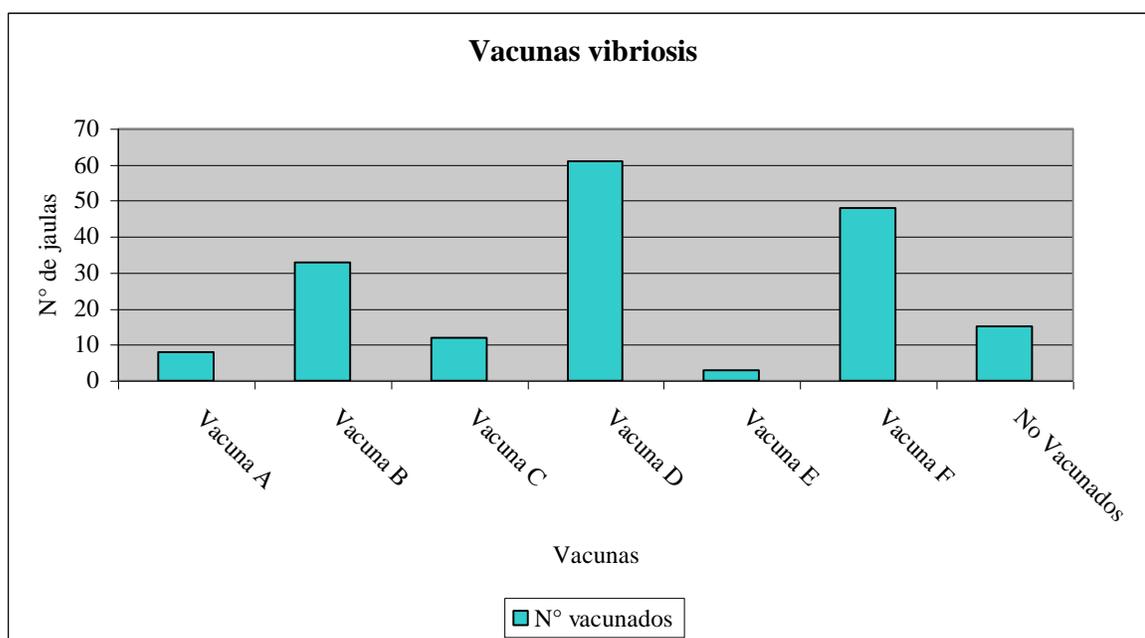
La macrozona que más aportó con jaulas efectivas fue la macrozona 1 o zona norte con 73 jaulas, le sigue la macrozona 3 o zona sur con 64 jaulas y en último lugar la macrozona 2 o zona centro con 43 jaulas efectivas. Respecto a la proporción de casos, la macrozona 2 presentó una incidencia de 32,6%, la macrozona 3 de 31,2% y la macrozona 1 de 17,8% de incidencia de jaulas con mortalidades acumuladas atribuibles a vibriosis mayores a 6% durante todo el ciclo de agua de mar o hasta antes del desdoble (Tabla 3).

**Tabla 3.** Resumen de encuestas, jaulas efectivas y proporción de casos por macrozona.

Macrozona	Encuestas	Jaulas efectivas	Jaulas caso	Jaulas no caso	Proporción de casos (%)
1 o zona norte	5	73	13	60	17,8
2 o zona centro	3	43	14	29	32,6
3 o zona sur	7	64	20	44	31,2
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>180</b>	<b>47</b>	<b>133</b>	<b>26,1</b>

Según los resultados obtenidos de la encuesta, para la prevención de esta enfermedad se utilizaron a lo menos 6 tipos de vacunas distintas. De este modo se pudo apreciar que, del total de jaulas en el estudio 61 fueron tratadas con la vacuna D, 48 con la vacuna F, 33 con la vacuna B, 12 con la vacuna C, 8 con la vacuna A y 3 con la vacuna E.

La incidencia acumulada de casos de vibriosis asociado al uso de los productos varió entre el 17,8 y 32,6%. La proporción de casos para las vacunas con jaulas vacunadas se muestra en el Figura 1.



**Figura 1.** Número de jaulas tratadas contra vibriosis en *S. salar*, por vacuna utilizada.

## 6.2. EFECTIVIDAD DE LA VACUNACIÓN.

### 6.2.1. RIESGO RELATIVO (RR).

Se calculó el Riesgo Relativo como medida de asociación. Se construyó una tabla de contingencia (Tabla 4), donde el factor a evaluar independiente es la vacunación o no contra vibriosis, y como variable respuesta (o dependiente), la mortalidad por brotes de vibriosis (casos y no casos). Como casos se consideraron las jaulas que presentaron mortalidades acumuladas (durante todo el ciclo o hasta antes del desdoble), atribuibles a vibriosis, mayores a 6%, y los no casos las jaulas con mortalidades acumuladas, atribuibles a vibriosis, igual o menores a 6%.

**Tabla 4.** Tabla de contingencia para evaluar la efectividad de vacunas contra vibriosis.

	Casos	No casos	Total
Vacunado	37	128	<b>165</b>
No vacunado	10	5	<b>15</b>
Total	<b>47</b>	<b>133</b>	<b>180</b>

$$RR = 0,34$$

Dado que el  $RR < 1$ , la vacunación sería un **factor protector** (o de prevención) contra la presentación de vibriosis, en relación a peces no vacunados, dicho de otro modo, por cada 1 caso vacunado se presentan 3 no vacunados.

### 6.2.2. PRUEBA DE “STUDENT” (*t*).

Se calculó la prueba de T para muestras independientes (Tabla 5), donde se asumió que se disponía de dos muestras independientes, con el apoyo del programa InfoStat (2004). Como variable independiente se tuvo la vacunación, y como variable dependiente, el porcentaje de mortalidad atribuible. Se compararon los promedios de las mortalidades entre el grupo de vacunados y no vacunados, con significación estadística con 95% de confianza.

Las hipótesis fueron las siguientes:

- Hipótesis de nulidad (H0):  $X_1 = X_2$
- Hipótesis alternativa (H1):  $X_1 \neq X_2$

**Tabla 5.** Resultados de la prueba de “Student” (*t*).

<b>Clasificación</b>	Vacunación
<b>Variable</b>	Mortalidad
<b>Grupo no vacunados (1)</b>	No
<b>Grupo vacunados (2)</b>	Si
<b>N (1)</b>	15
<b>N (2)</b>	165
<b>Media (1)</b>	17,05
<b>Media (2)</b>	2,88
<b>T</b>	<b>4,14</b>
<b>P</b>	0,0010
<b>Prueba</b>	Bilateral

El grupo de **no vacunados** ( $n_1 = 15$ ) presentó una media de porcentaje de mortalidad acumulada atribuible a vibriosis de 17,05%, mientras que el grupo de **vacunados** ( $n_2 = 165$ ) de 2,88%.

El  **$t$  teórico** ( $T_t$ ) se obtuvo a partir de la tabla de  $t$  de “Student” con los grados de libertad ( $gl = 178$ ) y el nivel de significación ( $\alpha = 0,05$ ).

El valor  **$p = 0,0010$**  es menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ); esto implica que el  **$t$  calculado** a partir del experimento ( $T_c = 4,14$ ) es mayor al valor  **$t$  teórico** esperado bajo la hipótesis de igualdad ( $T_t = 1,65$ ). Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, lo que indica que hay diferencias significativas entre los porcentajes de mortalidad acumulados entre el grupo de vacunados y no vacunados.

### **6.3. EFECTIVIDAD DE LAS VACUNAS COMERCIALES.**

Según la metodología descrita en la literatura (Dohoo *et al.*, 2003; Taucher, 1999), en algunos casos es necesario realizar transformaciones en los datos con el fin de evitar resultados erróneos. Debido a que algunas de las medias de mortalidades atribuibles a vibriosis (tanto en el cálculo de análisis de varianza como en el análisis de varianza factorial) resultaron con valores cero, se realizó la transformación de éstos y se analizaron nuevamente los datos (InfoStat, 2004). Sin embargo, las diferencias no revistieron mayor importancia, no presentándose cambios en los resultados. Es por esto que se decidió no realizar ningún cambio en los resultados, y utilizar los datos reales recibidos.

### 6.3.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANDEVA).

Para determinar la efectividad de vacunas comerciales se realizó un análisis de varianza. Como variable independiente se utilizó la vacunación, y como variable dependiente, el porcentaje de mortalidad atribuible acumulada. Los cálculos fueron realizados con el apoyo del programa InfoStat (2004). Para cada comparación se calculó su significación estadística con 95% de confianza. Se asumieron varianzas iguales (Tukey).

Fueron eliminados del cálculo, todos aquellos centros que no presentaban el nombre de la vacuna. Además, se eliminaron la vacuna A y la vacuna E, debido a que éstas presentaban muy pocas jaulas vacunadas (8 y 3 jaulas, respectivamente). Finalmente, se utilizaron las vacunas, B, C, D y F para realizar los cálculos (154 jaulas vacunadas).

Las hipótesis fueron:

- Hipótesis de nulidad (H0):  $\mu_{\text{vac B}} = \mu_{\text{vac C}} = \mu_{\text{vac D}} = \mu_{\text{vac F}}$
- Hipótesis alternativa (H1): al menos una diferencia.

El **F teórico** ( $F_t = 2,67$ ) se obtuvo desde la tabla de Fisher (Taucher, 1999), con los grados de libertad del tratamiento (vacunas comerciales;  $gl_1=3$ ) y del error ( $gl_2=150$ ), con un 95% de confianza ( $\alpha=0,05$ ). El **F calculado** ( $F_c$ ) obtenido fue de 107,23 (Tabla 6).

**Tabla 6.** Análisis de varianza de eficiencia de vacunas comerciales.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Modelo	3	2.692,64	897,55	107,23	<0,0001
Vacuna	3	2.692,64	897,55	107,23	<0,0001
Error	150	1.255,54	8,37		
<b>Total (<math>\Sigma</math>)</b>	<b>153</b>	<b>3.948,1</b>			

El hecho que  $F_c > 1$ , indica que la variable vacuna comercial utilizada presenta una alta relevancia. Por lo tanto, ésta influye efectivamente en las mortalidades atribuibles acumuladas por vibriosis y no corresponde al azar.

Además, el valor  $p = 0,0001$  del análisis de varianza es menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ), lo que indica el rechazo de la hipótesis nula (o de igualdad) de medias de tratamientos (vacunas comerciales), es decir, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las vacunas comerciales considerando la variable mortalidad atribuible acumulada por *Vibrio sp.*

Al comparar las vacunas entre ellas (Tabla 7), la vacuna B y vacuna C resultaron ser estadísticamente similares, mientras que la vacuna D, vacuna F y las vacunas B y C conjuntamente, presentaron diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 7.** Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza.

Vacuna Comercial	N° jaulas vacunadas	Medias			
Vacuna F	48	0,00	A		
Vacuna D	61	0,00	A		
Vacuna C	12	5,75		B	
Vacuna B	33	10,06			C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0,68. Por lo tanto, la vacuna comercial utilizada explicaría el 68% de la variabilidad total. (Tabla 8).

**Tabla 8.** Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza de eficiencia de vacunas comerciales.

Variable	N	$R^2$	$R^2$ Ajustado
Mortalidad acumulada	154	0,68	0,68

### 6.3.2. ANÁLISIS DE VARIANZA FACTORIAL.

Con el fin de evaluar que variable indicadora de efectividad presentaba mayor importancia, se realizaron interacciones con cada vacuna comercial y se analizaron mediante análisis de varianza factorial. Los cálculos fueron realizados con el apoyo del programa InfoStat (2004). Para cada comparación se calculó su significación estadística con 95% de confianza. Para todos los cálculos se asumieron varianzas iguales (Tukey). En lugar de tener una tabla de ANDEVA con un solo factor, se tuvieron tres modelos presentes

en un modelo de dos factores (Factor A, Factor B, Factor A\*Factor B). Como variable dependiente se tuvo el porcentaje de mortalidad atribuible acumulada por vibriosis. Las variables indicadoras de efectividad utilizadas fueron:

- % PDI (porcentaje del periodo de desarrollo de inmunidad).
- Macrozona de origen.
- Uso de antibióticos.

Fueron eliminados todos aquellos centros que no presentaban el nombre de la vacuna. Además, se eliminaron la vacuna A y la vacuna E, debido a que éstas presentaban muy pocas jaulas vacunadas (8 y 3 jaulas, respectivamente). Las condiciones de inclusión fueron las mismas que en el análisis anterior, quedando un total de 154 jaulas efectivamente vacunadas.

También, fueron eliminadas todas aquellas jaulas que no presentaron la variable indicadora para % PDI y uso de antibióticos (22 y 26 jaulas, respectivamente). Para macrozona de origen, fueron eliminadas 3 jaulas vacunadas, 1 de la vacuna C y 2 de la vacuna D, debido a que presentaban pocos datos para las macrozonas 1 y 3, respectivamente. Esto se tomó en cuenta dependiendo del análisis de varianza factorial realizado. Las jaulas eliminadas según centro se resumen en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Jaulas eliminadas, por % PDI, macrozona de origen y uso de antibióticos.

Empresa	Centro	Jaulas eliminadas		
		% PDI	Macrozona	Uso de antibióticos
01	01	0	0	10
02	01	12	0	12
04	01	10	0	0
05	01	0	2	0
06	01	0	1	4
<b>TOTAL</b>		<b>22</b>	<b>3</b>	<b>26</b>

Por lo tanto, de un total de 154 jaulas vacunadas, fueron utilizadas 132 jaulas para % PDI, 128 jaulas para uso de antibióticos y 151 jaulas para macrozona.

Las hipótesis para Factor A, Factor B e interacción Factor A\*Factor B, para cada uno de los factores a evaluar (% PDI, macrozona de origen y uso de antibióticos), se resumen en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Hipótesis de análisis de varianza factorial.

Hipótesis	Factor A	Factor B	Factor A*Factor B
De nulidad (H0)	$\alpha = 0$	$\beta = 0$	$\alpha*\beta = 0$
Alternativa (H1)	$\alpha \neq 0$	$\beta \neq 0$	$\alpha*\beta \neq 0$

### 6.3.2.1. PDI (PORCENTAJE PERIODO DE DESARROLLO DE INMUNIDAD).

Las jaulas se dividieron en 2 grupos, siendo un primer grupo todas aquellas jaulas vacunadas en las que se cumplió un % PDI > a 80% (Si), y el segundo grupo las jaulas vacunadas en las que se cumplió un % PDI < o igual a 80% (No) (Tabla 11).

**Tabla 11.** Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.

PDI	Vacuna	Variable	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
No	Vacuna C	Mortalidad acumulada	2	1,49	0,26	1,31	1,67
No	Vacuna F	Mortalidad acumulada	30	0,00	0,00	0,00	0,00
Si	Vacuna B	Mortalidad acumulada	33	10,06	5,37	0,00	19,00
Si	Vacuna D	Mortalidad acumulada	61	0,00	0,00	0,00	0,00
Si	Vacuna F	Mortalidad acumulada	6	0,00	0,00	0,00	0,00

N: Número de jaulas vacunadas.

Si: % PDI > a 80%

No: % PDI < o igual a 80%

DE: Desviación estándar.

La tabla resumen del ANDEVA (Tabla 12) contiene la misma información que la tabla resumen del modelo de un factor.

Los valores de **F teórico** para % PDI ( $F_{1,127} = 3,92$ ) y vacuna ( $F_{3,127} = 2,68$ ) se obtuvieron desde la tabla de Fisher, con los grados de libertad del tratamiento % PDI ( $gl_1=1$ ), tratamiento vacuna ( $gl_2=3$ ) y del error ( $gl_e=127$ ), con un 95% de confianza ( $\alpha=0,05$ ). El **F calculado** para % PDI ( $F_c1$ ) y vacuna ( $F_c2$ ) fue de **34,68** y de **102,67**; respectivamente.

La interpretación de los valores de **F** muestra que los dos factores principales (% PDI y vacuna), por separado, son estadísticamente significativos en este modelo, siendo el factor vacuna el que presenta mayor importancia. Por el contrario, la interacción % PDI\*vacuna no presenta datos (sd = sin datos).

**Tabla 12.** Análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F	<i>p</i>
Modelo	4	2.494,47	623,62	85,67	<0,0001
% PDI	1	253,42	252,42	34,68	<0,0001
Vacuna	3	2242,05	747,35	102,67	<0,0001
% PDI*vacuna	0	0,00	0,00	<b>sd</b>	<b>sd</b>
Error	127	924,44	7,28		
<b>Total (<math>\Sigma</math>)</b>	<b>131</b>	<b>3.418,91</b>			

sd = sin datos.

Tanto en la variable % PDI como vacuna, el valor  $F_c > 1$  indica que ambas variables presentan una alta relevancia. Por lo tanto, influyen efectivamente en las mortalidades atribuibles acumuladas por vibriosis y no corresponden al azar.

Además, el valor  $p = 0,0001$  de las variables % PDI y vacuna es menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ), lo que indica el rechazo de la hipótesis nula, es decir, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las vacunas comerciales considerando la variable mortalidad atribuible acumulada por *Vibrio sp.*

Al comparar las vacunas (Tabla 13), se muestra que la vacuna D, vacuna F y vacuna C resultaron ser estadísticamente similares, mientras que la vacuna B y las vacunas D, F y C conjuntamente, presentaron diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 13.** Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (PDI).

Vacuna Comercial	N° jaulas vacunadas	Medias		
Vacuna D	61	0,00	A	
Vacuna F	36	0,00	A	
Vacuna C	2	1,49	A	
Vacuna B	33	10,06		B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El valor de  $R^2$  indica que los tres efectos incluidos en el modelo (PDI, vacuna, PDI\*vacuna) explican el 73% de la varianza de la variable dependiente porcentaje de mortalidad atribuible acumulada (Tabla 14).

**Tabla 14.** Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de PDI y vacunas comerciales.

Variable	N	$R^2$	$R^2$ Ajustado
Mortalidad acumulada	132	0,73	0,72

A pesar que la interacción entre % PDI y vacunas comerciales no presentó datos para su análisis, se pudieron advertir ciertas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las siguientes vacunas (Tabla 15): vacuna D con % PDI  $>$  a 80% (Si), vacuna C con % PDI  $<$  o igual a 80% (No), vacuna F con % PDI  $<$  o igual a 80% (No) y  $>$  a 80% (Si). Por el contrario, las interacciones de la vacuna D con % PDI  $<$  o igual a 80% (No),

vacuna C con PDI > a 80% (Si) y vacuna B con % PDI < o igual a 80% (No) no presentaron datos (sin valor de análisis).

**Tabla 15.** Interacciones entre % PDI y vacunas comerciales.

<b>PDI</b>	<b>Nombre</b>	<b>N° jaulas vacunadas</b>	<b>Medias</b>						
No	Vacuna D	0	<b>sd</b>	A					
Si	Vacuna C	0	<b>sd</b>		B				
No	Vacuna B	0	<b>sd</b>			C			
Si	Vacuna D	61	0,00				D		
No	Vacuna F	30	0,00				D		
Si	Vacuna F	6	0,00				D		
No	Vacuna C	2	1,49				D		
Si	Vacuna B	33	10,06						E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Si: % PDI > a 80%; No: % PDI < o igual a 80%.

### 6.3.2.2. MACROZONA.

Las macrozonas se determinaron como: zona norte o macrozona 1, zona centro o macrozona 2 y zona sur o macrozona 3.

**Tabla 16.** Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.

Vacuna	Macrozona	Variable	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
Vacuna B	1	Mortalidad acumulada	14	11,14	3,66	5,00	16,00
Vacuna B	2	Mortalidad acumulada	14	12,57	3,27	7,00	19,00
Vacuna B	3	Mortalidad acumulada	5	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna C	3	Mortalidad acumulada	10	6,60	5,65	1,10	17,85
Vacuna D	1	Mortalidad acumulada	43	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna D	2	Mortalidad acumulada	17	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna F	1	Mortalidad acumulada	6	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna F	2	Mortalidad acumulada	12	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna F	3	Mortalidad acumulada	30	0,00	0,00	0,00	0,00

N: número de jaulas vacunadas.

DE: Desviación estándar.

Los valores de **F teórico** para macrozona ( $F_{2,142} = 3,065$ ), vacuna ( $F_{3,142} = 2,675$ ) e interacción macrozona\*vacuna ( $F_{3,142} = 2,675$ ), se obtuvieron desde la tabla de Fisher, con los grados de libertad del tratamiento macrozona ( $gl_1=2$ ), tratamiento vacuna ( $gl_2=3$ ), interacción macrozona\*vacuna ( $gl_3=3$ ) y del error ( $gl_e=142$ ), con un 95% de confianza ( $\alpha=0,05$ ). El **F calculado** fue de **18,23 (F<sub>c1</sub>)** para macrozona; **215,43 (F<sub>c2</sub>)** para vacuna y **35,17 (F<sub>c3</sub>)** para la interacción macrozona\*vacuna.

La interpretación de los valores de **F** muestra que los factores principales por separado (macrozona y vacuna) y la interacción macrozona\*vacuna son estadísticamente significativos en este modelo, siendo el factor vacuna el que presenta mayor importancia.

**Tabla 17.** Análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Modelo	8	3.337,48	417,18	98,53	<0,0001
Macrozona	2	154,41	77,20	18,23	<0,0001
Vacuna	3	2.736,32	912,11	215,43	<0,0001
Macrozona*vacuna	3	446,75	148,92	35,17	<0,0001
Error	142	601,22	4,23		
<b>Total (<math>\Sigma</math>)</b>	<b>150</b>	<b>3.938,70</b>			

Tanto en la variable macrozona como vacuna e interacción macrozona\*vacuna, el valor  $F_c > 1$  indica que presentan una alta relevancia. Por lo tanto, influyen efectivamente en las mortalidades atribuibles acumuladas por vibriosis y no corresponden al azar.

Además, el valor  $p < 0,0001$  de las variables macrozona, vacuna e interacción macrozona\*vacuna es menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ), lo que indica el rechazo de la hipótesis nula, es decir, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las vacunas comerciales considerando la variable mortalidad atribuible acumulada por *Vibrio sp.*

Al comparar las vacunas (Tabla 18), se muestra que hay similitudes entre la vacuna F y vacuna D; y la vacuna C y vacuna B, sin embargo hay diferencias estadísticamente significativas entre estos 2 grupos (vacunas F y D, vacunas C y B).

**Tabla 18.** Diferencias de mortalidad entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (macrozona).

Vacuna Comercial	Medias	N° jaulas vacunadas		
Vacuna F	0,00	48	A	
Vacuna D	0,00	60	A	
Vacuna C	6,60	10		B
Vacuna B	7,90	33		B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Las vacunas presentaron diferencias según macrozona de origen (macrozona 1 y 2 difieren de la macrozona 3), lo que se muestra en la tabla a continuación.

**Tabla 19.** Diferencias de mortalidad entre macrozonas.

Macrozona	Medias	N° jaulas vacunadas		
3	2,20	45	A	
1	3,71	63		B
2	4,19	43		B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El valor de  $R^2$  indica que los tres efectos incluidos en el modelo (macrozona, vacuna, macrozona\*vacuna) explican el 85% de la varianza de la variable dependiente porcentaje de mortalidad atribuible acumulada (Tabla 20).

**Tabla 20.** Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de macrozona y vacunas comerciales.

Variable	N	$R^2$	$R^2$ Ajustado
Mortalidad acumulada	151	0,85	0,84

Respecto a las interacciones entre macrozona y vacunas comerciales (Tabla 21), no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las siguientes vacunas: vacuna F con macrozona 1, 2, y 3; vacuna D con macrozona 1 y 2; y vacuna B con macrozona 3. Tampoco presentaron diferencias las vacunas B con macrozona 1 y 2. Esto indica que la macrozona no afectó la respuesta de dichas vacunas comerciales y podría significar que no existe o hay baja presencia de vibriosis en el ambiente. Por el contrario, las interacciones de la vacuna D con macrozona 3, vacuna C con macrozona 2 y vacuna C con macrozona 1 no presentaron datos (sin valor de análisis).

**Tabla 21.** Interacciones entre macrozonas y vacunas comerciales.

Macrozonas	Nombre	N	Medias						
3	Vacuna D	0	sd	A					
2	Vacuna C	0	sd		B				
1	Vacuna C	0	sd			C			
2	Vacuna F	12	0,00				D		
1	Vacuna D	43	0,00				D		
3	Vacuna F	30	0,00				D		
3	Vacuna B	5	0,00				D		
2	Vacuna D	17	0,00				D		
1	Vacuna F	6	0,00				D		
3	Vacuna C	10	6,60					E	
1	Vacuna B	14	11,14						F
2	Vacuna B	14	12,57						F

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 6.3.2.3. USO DE ANTIBIÓTICOS.

Mediante análisis de varianza factorial se evaluó si el uso de antibióticos durante el periodo en estudio, fue estadísticamente significativo en la presentación de casos en jaulas vacunadas. En caso de usar antibióticos, éstos podrían sobrestimar la respuesta de la vacuna comercial, disminuyendo el número de casos por jaula vacunada. La variable fue de tipo dicotómica (si; no).

**Tabla 22.** Estadística descriptiva de análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.

Vacuna	Uso de antibióticos	Variable	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
Vacuna B	Si	Mortalidad acumulada	30	11,86	3,49	5,00	19,00
Vacuna C	Si	Mortalidad acumulada	12	5,75	5,49	1,11	17,85
Vacuna D	No	Mortalidad acumulada	60	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna F	No	Mortalidad acumulada	6	0,00	0,00	0,00	0,00
Vacuna F	Si	Mortalidad acumulada	20	0,00	0,00	0,00	0,00

N: número de jaulas vacunadas.

DE: Desviación estándar.

Los valores de **F teórico** para uso de antibióticos ( $F_{1, 122} = 3,93$ ), vacuna ( $F_{3, 122} = 2,685$ ) e interacción uso de antibióticos\*vacuna ( $F_{3, 122} = 2,685$ ), se obtuvieron desde la tabla de Fisher, con los grados de libertad del tratamiento uso de antibióticos ( $gl_1=1$ ), tratamiento vacuna ( $gl_2=3$ ), interacción uso de antibióticos\*vacuna ( $gl_3=1$ ) y del error ( $gl_e=122$ ), con un 95% de confianza ( $\alpha=0,05$ ). El **F calculado** fue de **263,53 (F<sub>c1</sub>)** para uso de antibióticos; **90,48 (F<sub>c2</sub>)** para vacuna y **34,59 (F<sub>c3</sub>)** para la interacción uso de antibióticos\*vacuna.

La interpretación de los valores de **F** muestran que los dos factores principales por separado (uso de antibióticos y vacuna) y la interacción uso de antibióticos\*vacuna son estadísticamente significativos en este modelo, siendo el factor uso de antibióticos el que presenta mayor importancia.

**Tabla 23.** Análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Modelo	5	3.077,01	615,40	113,91	<0,0001
Uso de antibióticos	1	1.423,68	1.423,68	263,53	<0,0001
Vacuna	3	1.466,46	488,82	90,48	<0,0001
Uso de antibióticos*vacuna	1	186,86	186,86	34,59	<0,0001
Error	122	659,09	5,40		
<b>Total (<math>\Sigma</math>)</b>	<b>127</b>	<b>3.736,09</b>			

Tanto en la variable uso de antibióticos, como vacuna e interacción uso de antibióticos\*vacuna, el valor  $F_c > 1$  indica que presentan una alta relevancia. Por lo tanto, influyen efectivamente en las mortalidades atribuibles acumuladas por vibriosis y no corresponden al azar.

Además, el valor  $p < 0,0001$  de las variables uso de antibióticos, vacuna e interacción uso de antibióticos\*vacuna es menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ), lo que indica el rechazo de la hipótesis nula, es decir, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las vacunas comerciales considerando la variable mortalidad atribuible acumulada por *Vibrio sp.*

Al comparar las vacunas (Tabla 24), se muestra que hay similitudes entre la vacuna F y vacuna D; y la vacuna C y vacuna B, sin embargo hay diferencias estadísticamente significativas entre estos 2 grupos (vacunas F y D, vacunas C y B), lo que coincide con el análisis de macrozona. Esto se puede deber a que no existe o hay baja presencia de vibriosis en el ambiente, por lo tanto, los productores no tienen la necesidad de administrar antibióticos.

**Tabla 24.** Diferencias de mortalidades entre vacunas comerciales evaluadas mediante análisis de varianza factorial (uso de antibióticos).

Vacuna Comercial	Medias	N° jaulas vacunadas		
Vacuna F	0,00	26	A	
Vacuna D	0,00	60	A	
Vacuna C	5,75	12		B
Vacuna B	5,93	30		B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El valor de  $R^2$  indica que los tres efectos incluidos en el modelo (uso de antibióticos, vacuna, uso de antibióticos\*vacuna) explican el 82% de la varianza de la variable dependiente porcentaje de mortalidad atribuible acumulada (Tabla 25).

**Tabla 25.** Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de análisis de varianza factorial de uso de antibióticos y vacunas comerciales.

Variable	N	$R^2$	$R^2$ Ajustado
Mortalidad acumulada	128	0,82	0,82

Respecto a las interacciones entre uso de antibióticos y vacunas comerciales (Tabla 26), no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las siguientes vacunas: vacuna F (con y sin uso de antibióticos), vacuna B (sin uso de antibióticos) y vacuna D (sin uso de antibióticos). Por el contrario, las interacciones de la vacuna C (sin uso de antibióticos) y vacuna D (con uso de antibióticos) no presentaron datos (sin valor de análisis).

**Tabla 26.** Interacciones entre uso de antibióticos y vacunas comerciales.

Uso de antibióticos	Nombre	N	Medias					
No	Vacuna C	0	sd	A				
Si	Vacuna D	0	sd		B			
No	Vacuna F	6	0,00			C		
No	Vacuna B	2	0,00			C		
Si	Vacuna F	20	0,00			C		
No	Vacuna D	60	0,00			C		
Si	Vacuna C	12	5,75				D	
Si	Vacuna B	28	11,86					E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## 7. DISCUSIÓN

La vibriosis ha sido la enfermedad económicamente más importante en peces cultivados en ambiente marino, afectando un gran número de especies. Además es también una importante enfermedad en muchas poblaciones de peces silvestres (Edigius, 1987).

Entre las herramientas más utilizadas para prevenir esta y otras enfermedades se encuentra la vacunación (Somerset *et al.*, 2005). Sin embargo, no existen estudios epidemiológicos que evalúen la efectividad de la vacunación a través de la mortalidad asociada, ni tampoco trabajos que compararen la efectividad de las vacunas comerciales disponibles. Es por eso que, este estudio sería el primero en su tipo, y un precedente para futuros trabajos que se realicen en el país.

Es importante resaltar la importancia fundamental que tiene la calidad de los datos, para las inferencias que se puedan apreciar. Según la metodología empleada en este estudio, se consideró la eliminación de jaulas, lo que constituyó el primer filtro. Éstas fueron eliminadas debido a que presentaban datos incompletos, poco confiables (respuestas en columnas erróneas) o distintos a los solicitados. Sin embargo, también fue necesario eliminar jaulas vacunadas debido a que éstas no revestían importancia estadística y entorpecían el análisis de los datos, todo lo cual afecta las poblaciones a comparar.

Se determinó como unidad epidemiológica los peces contenidos en una jaula ya que se caracterizaban por tener la misma procedencia de las ovas, la misma instalación de

origen, el mismo momento de esmoltificación, y en general, recibieron los mismos tratamientos y manejos.

Los resultados obtenidos en la primera parte (punto 6.1.) son de carácter descriptivo y buscan exponer los datos de las encuestas recibidas de una forma clara. Posteriormente, se procedió realizar los análisis, según la metodología descrita en material y método.

A diferencia de otros estudios realizados, éste incorpora la mortalidad acumulada atribuible, como medida de efectividad de vacunación, sin incluir otros factores tales como impacto económico, costo comercial, factor de crecimiento, potencia y seguridad de la vacuna, que pueden ser relevantes frente a la toma de decisiones.

El registro de las mortalidades atribuibles, en caso de cualquier enfermedad, genera una base para describir el comportamiento de los salmones a la vacunación y los efectos que las vacunas pudiesen tener posterior a su aplicación. Además, permite llevar un control de las mortalidades, necesario en todo plantel productivo. Todos los anteriores son aspectos de gran interés para la empresa salmonicultora que debe tratar, mediante todos los medios, de tener las menores pérdidas económicas debido a mortalidades por patógenos y elegir la vacuna comercial más apta para sus fines.

## **7.1 Efectividad de la vacunación.**

Veterinarios y acuicultores entienden que las vacunas pueden reducir o prevenir enfermedades y disminuir la dependencia a antibióticos, mejorando la rentabilidad de la

empresa. Quizás la vacunación sea la inversión más rentable para mejorar la eficacia y beneficios de peces en crecimiento (Thorarinsson y Powell, 2006). Además, éstas han probado ser efectivas al prevenir brotes de enfermedades bacterianas en peces (Midtlyng, 1997; Midtlyng, 2005).

La decisión de vacunar o no contra una o más enfermedades requiere de asesoramiento por el riesgo económico involucrado. Cuando el impacto económico en un grupo de no vacunados es mayor que el costo esperado de un programa de vacunación, la decisión racional es vacunar. Sin embargo, el análisis económico por si solo no es el único factor a considerar.

En variados estudios se ha observado que poblaciones de peces vacunados intraperitonealmente contra vibriosis presentan mayor crecimiento y mejor factor de conversión de alimentos (ECA) que peces no vacunados (Sawyer y Strout, 1977; Thorburn, 1986; Thorburn y Carpenter, 1986).

Thorarinsson y Powell (2006) fueron capaces de evaluar el impacto económico, eficiencia y costo comercial de la vacunación contra dos enfermedades, en Salmón del Atlántico. Se concluyó que la vacunación no genera pérdidas si la vacuna al menos posee un 8% de eficiencia en terreno. Además, si una vacuna tiene un valor por dosis menor que otra, se espera que exista una leve disminución en el porcentaje de sobrevivientes y esto resultará en un costo económico mayor por kilo de pez. Por lo tanto, no siempre la vacuna más económica es la más eficiente.

Según el análisis que se desprende del cálculo del Riesgo Relativo realizado en el punto 6.2.1., se muestra que la vacunación es un factor protector ante la aparición de casos de vibriosis. La vacunación efectivamente disminuyó las mortalidades de peces vacunados, en relación a los no vacunados. Además, la presencia de casos fue mayor en el grupo de no vacunados que el grupo de vacunados, lo que confirma en este caso, que la vacunación es un manejo necesario para la disminución de casos clínicos y mortalidades en los centros incluidos en el estudio.

Por otro lado, en el punto 6.2.2. se demostró, mediante la prueba de “Student” (*t*), que la diferencia entre las medias del grupo de no vacunados (17,05%) y el grupo de vacunados (2,88%) fue bastante significativa lo que ratifica que la vacunación es efectiva frente a la opción de no vacunar.

Hay que recordar que habitualmente se describen pequeños porcentajes de mortalidad como consecuencia de la vacunación y el manejo necesario para su realización. Sin embargo, en este estudio sólo se consideraron las mortalidades atribuibles a vibriosis como factor de efectividad.

## **7.2. Diferencias entre vacunas comerciales.**

En relación a la evaluación de vacunas en Chile, se han realizado estudios de efectividad, potencia y seguridad. Sin embargo, éstos sólo involucran una o dos vacunas, comerciales o experimentales, contra enfermedades tales como piscirickettsiosis (Leal, 2003; Cristi, 2003), necrosis pancreática infecciosa (Müller, 2001; San Martín, 2001;

Mansilla, 2002; Cristi, 2003; Leal, 2003; Navarrete, 2004; Wilson, 2004) y vibriosis (Cristi, 2006), entre otras.

Actualmente, las empresas salmonicultoras chilenas no cuentan con estudios de efectividad de vacunas comerciales, que les permitan tomar una decisión respecto a que vacuna utilizar en una determinada población de peces. Lamentablemente, los productos biológicos inmunológicos en Chile poseen registro provisional, por lo que algunas vacunas sólo poseen autorización por un corto periodo de tiempo y, en caso de realizar estudios de efectividad de vacunas, sólo tendrían validez limitada.

Las vacunas incluidas en el estudio correspondieron a vacunas inyectables administradas intraperitonealmente, monovalentes o polivalentes. Las vacunas de administración intraperitoneal son las que producen mayor estrés en el pez (Somerset *et al.*, 2005). Las vacunas bivalentes o polivalentes son las con mayor proyección ya que permiten la inmunización para varias enfermedades sólo con una sola inoculación (Palacios, 2001).

Respecto a los resultados expuestos en el punto 6.3.1. se desprende que existen diferencias de efectividad entre las vacunas comerciales disponibles en el mercado nacional utilizadas por la industria salmonicultora chilena para el control de vibriosis, en la especie *Salmo salar*.

Tanto la vacuna F como la vacuna D no presentaron mortalidades acumuladas atribuibles a vibriosis; esto presume que no hubo mortalidades debido a esta causa. Sin

embargo, no elimina la posibilidad de mortalidades por otras causas, como el estrés, parásitos u otras enfermedades. Ambas vacunas corresponderían a las vacunas más eficientes. La vacuna C obtuvo una mortalidad acumulada de 5,75%, lo que la ubica en segundo lugar. La vacuna B presentó 10,06% de mortalidades atribuibles a vibriosis y ocupó el último lugar en cuanto a eficacia.

Sin embargo, sería necesario realizar estudios que evalúen la efectividad de las vacunas comerciales, tratando de incluir a todas las que posean registro provisional, debido a que por falta de datos, fue necesario excluir de este estudio la vacuna A y E, contra vibriosis.

Con el tiempo, se espera la aparición de nuevas vacunas, por inmersión y/u orales, lo que demandará nuevos estudios de efectividad de vacunas comerciales.

### **7.3. Eficiencia de vacunas comerciales y variables indicadoras de efectividad.**

El periodo de desarrollo de inmunidad (PDI) de una vacuna, la macrozona de origen y el uso de antibióticos serían factores determinantes en la efectividad de vacunas comerciales contra vibriosis, en *Salmo salar*. Se realizó análisis de varianza factorial para determinar si los factores antes mencionados influyeron en las mortalidades registradas por vacuna comercial.

### **7.3.1. PDI (periodo de desarrollo de inmunidad).**

El periodo de desarrollo de inmunidad (como porcentaje) recomendado por el fabricante de la vacuna demostró ser un factor importante al momento de determinar la eficiencia de éstas. A medida que el cumplimiento de PDI era mayor, se pudo advertir una leve disminución en las mortalidades atribuibles a vibriosis.

El punto de corte del PDI se determinó en 80% (mayor a 80% y menor o igual a 80%) debido a que demostró ser un valor muy utilizado entre los centros participantes. El 76% de las jaulas estudiadas presentaron un cumplimiento del PDI superior al 80%.

La interacción entre PDI y vacuna comercial no pudo ser analizada mediante análisis de varianza factorial debido que no habían datos necesarios para realizar el cálculo (ausencia o bajo número de jaulas vacunadas entre los cruzamientos de PDI y vacunas comerciales). El PDI por si solo, resultó ser estadísticamente significativo al determinar la eficiencia de las vacunas comerciales; sin embargo, no presentó mayor importancia que el factor vacuna comercial.

### **7.3.2. Macrozona.**

Las macrozona 1 (zona norte), macrozona 2 (zona centro) y macrozona 3 (zona sur) fueron determinadas según características geográficas y climáticas.

Mediante análisis de varianza factorial se pudieron advertir diferencias de mortalidad en los factores macrozona de origen y vacuna comercial. Los peces *S. salar* cultivados en la macrozona 1 presentarían menores mortalidades atribuibles a vibriosis (0%), mientras que los peces cultivados en la macrozona 2 y 3 presentaron 3,71% y 4,19% de mortalidades atribuibles a vibriosis, respectivamente.

Respecto a las vacunas comerciales, la F y D no presentaron mortalidades, mientras que la C y B presentaron 6,60% y 7,90%, respectivamente.

En relación a la interacción entre macrozona y vacunas comerciales, las siguientes interacciones no presentaron mortalidades atribuibles a vibriosis: macrozona 3\*vacuna B, macrozona 1\*vacuna D, macrozona 2\*vacuna D, macrozona 1\*vacuna F, macrozona 2\*vacuna F y la macrozona 3\*vacuna F. Presumiblemente, esto se podría deber a que no hubo mortalidades atribuibles a vibriosis, lo que indicaría que las vacunas administradas a peces provenientes de dichas zonas, serían las más eficientes. Las interacciones macrozona 3\*vacuna D, macrozona 2\*vacuna C y macrozona 1\*vacuna C no pudieron determinarse ya que no hubo los datos necesarios (ausencia de datos entre los cruzamientos). Las interacciones que presentaron mayores mortalidades atribuibles a vibriosis fueron macrozona 3\*vacuna C (6,60%), macrozona 1\*vacuna B (11,14%) y macrozona 2\*vacuna B (12,57%). Esto indicaría que las macrozonas influirían en la respuesta de una vacuna.

### **7.3.3. Uso de antibióticos.**

Del total de 128 jaulas vacunadas usadas para el análisis, 60 fueron tratadas con antibióticos durante fase de engorda y 68 no fueron tratadas con antibióticos. Las jaulas tratadas con antibióticos fueron vacunadas con la vacuna B, vacuna C y vacuna F, mientras que las jaulas no tratadas fueron vacunadas con la vacuna D y vacuna F.

El análisis de varianza factorial arrojó diferencias de mortalidad en los factores uso de antibióticos y vacuna comercial. Las jaulas tratadas con antibióticos presentaron mortalidades acumuladas atribuibles a vibriosis de 17,61%, mientras lo que las no tratadas no presentaron mortalidades. Contrario a lo esperado, las jaulas tratadas con antibióticos presentaron mayores mortalidades que las jaulas no tratadas. Esto puede indicar que los antibióticos fueron utilizados muy tardíamente, cuando ya se presentaban altas mortalidades en las jaulas debido a vibriosis. Otra explicación sería que se produciría inmunosupresión con el uso excesivo de antibióticos. Lunden *et al.* (1998) describieron que los niveles de anticuerpos contra *V. anguillarum* se suprimían por semanas e incluso meses al utilizar oxitetraciclina y ácido oxolínico en individuos vacunados de trucha arcoiris, en relación al grupo control de vacunados sin tratamiento antibiótico. Otros autores también describen inmunosupresión por antibióticos en salmones (Van Muiswinkel *et al.*, 1985; Siwicki *et al.*, 1989) y en carpa (*Cyprinus carpio* L.) (Rijkers *et al.*, 1981; Grondel *et al.*, 1987). Lamentablemente, la gran mayoría de las encuestas analizadas en este estudio no presentaron el número de tratamientos de antibióticos aplicados, por lo que no se pudo realizar su análisis.

Respecto a las vacunas comerciales, la vacuna D y vacuna F no presentaron mortalidades atribuibles a vibriosis, con lo que se puede suponer que serían las vacunas comerciales más eficaces para su prevención.

Al analizar la interacción entre uso de antibióticos y vacuna comercial, las siguientes interacciones no presentaron mortalidades atribuibles a vibriosis: sin uso de antibióticos la vacuna B, vacuna D y vacuna F; con uso de antibióticos sólo la vacuna F. Esto podría significar que la vacuna B y D serían las más eficaces ya que la respuesta de la vacuna no se vio sobreestimada por el uso de antibióticos. Respecto a la vacuna F que tampoco presentó mortalidades por vibriosis, se podría inferir que también sería eficaz, incluso sin el uso de antibióticos (uso irracional de antibióticos), por lo que su administración se consideraría un costo adicional innecesario. Las interacciones que presentaron mayores mortalidades atribuibles a vibriosis fueron la vacuna B y vacuna C, ambas con uso de antibióticos, lo que podría indicar que serían vacunas poco eficaces, ya que un 5,75% y 11,86% de los peces contrajeron vibriosis, a pesar del uso de antibióticos como refuerzo.

Lo ideal sería disminuir el uso de antibióticos seleccionando la vacuna más eficaz. De esta forma, se disminuirían los costos por antibióticos y se alcanzarían ventajas competitivas al momento de ingresar a los mercados internacionales.

Es importante mencionar que factores como el estrés por manejo deja a los peces susceptibles a contraer enfermedades, frecuentemente cuando el tratamiento se realiza posterior a la vacunación y especialmente cuando las temperaturas del agua son altas (> 12-14 °C) (Lunden *et al.*, 1998).

Este estudio se realizó en condiciones de campo, lo que le otorgaría mayor seriedad a los resultados que un estudio experimental. Sin embargo, los datos de origen no son 100% certeros, por lo que los resultados podrían presentar algún grado de error. Esto principalmente debido a que las mortalidades acumuladas atribuibles a vibriosis, en muchos casos, podrían ser una aproximación. Además, hay que recordar que el proceso de detección de mortalidades presenta varios problemas entre los que se pueden mencionar: diferencias entre el personal encargado de identificar las causas de muerte, trabajo bajo presión lo que dificulta la realización de necropsias a todos los peces, interferencia de algunas co-infecciones no detectadas. A esto hay que sumarle que la vibriosis no tiene una signología específica, lo que la hace indistinguible de otras septicemias por bacterias gram negativas.

A pesar que los resultados de este estudio fueron bastante concluyentes, éstos no revisten importancia si los productores no toman las medidas necesarias para seleccionar la vacuna más eficaz, para prevenir enfermedades como la vibriosis.

Para futuros estudios, se recomienda:

- Eliminar otras causas de mortalidad que puedan considerarse un elemento distractor.
- Considerar el uso de inmunoestimulantes que podrían estar sobrestimando la eficacia de las vacunas, y que no se pudieron incluir en el análisis.
- Consultar sobre él o los antibióticos utilizados, el momento del ciclo en que se aplicaron, las dosis y el tiempo.

## 8. CONCLUSIONES

- 8.1. La vacunación ratificó ser un factor protectorio contra la vibriosis en *Salmo salar*.
- 8.2. La presentación de casos (mortalidad acumulada atribuible a vibriosis) es menor en individuos vacunados en relación a los no vacunados.
- 8.3. Las vacunas comerciales contra vibriosis empleadas por los centros participantes en este estudio durante el periodo 2004 – 2005 originaron diferencias significativas en efectividad.
- 8.4. El apropiado cumplimiento del periodo de desarrollo de inmunidad (PDI) recomendado por el laboratorio productor de la vacuna, aumentó la protección de la vacuna aplicada, disminuyendo las mortalidades atribuibles a vibriosis en *Salmo salar*.
- 8.5. La macrozona de cultivo influyó en la presentación de mortalidades por vibriosis en *Salmo salar*.

## BIBLIOGRAFÍA

- **ACTIS, L. A.; TOMASKY, M. E.; CROSA, J. H.** 1999. Fish Diseases and Disorders, Viral, Bacterial and Fungal Infections. Ed. P.T.K. Woo and Bruno. Estados Unidos. v. 3
- **ALMONACID, L.** 2006. Inoculación experimental a través de diferentes vías de *Vibrio ordalii* aislado en Chile en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 37 p.
- **AUSTIN, B; AUSTIN, A. D.** 1999. Bacterial Fish Pathogens. 3<sup>rd</sup> ed. Praxis Publishing. Cornwall, UK. 454 p.
- **BENEDIKTSDOTTIR, E.; VERDONCK, L.; SPROER, C.; HELGASON, S.; SWINGS, J.** 2000. Characterization of *Vibrio viscosus* and *Vibrio wodanis* isolated at different geographical locations: a proposal for reclassification of *Vibrio viscosus* as *Moritella viscosa* comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50:479-488.
- **BRAVO, S.** 2000. Previniendo las enfermedades en la industria salmonera. Rev. Chile Acuícola 1:21-25.
- **BRAVO, S; MIDTLYNG, P.** 2007. The use of fish vaccines in the Chilean salmon industry 1999-2003. Aquaculture 270:36-42.
- **BUSTOS, P.** 1993. Nuevo desafío para la acuicultura. Aqua Not. Int. 48:48-51.
- **CARVAJAL, J.; GONZÁLEZ, L.; TEUBER, C.; GEBAUER, M.; POBLETE, T.; RIFFARTY, G.; DONOSO, T.** 1989. Patologías observadas durante 1989 en salmonídeos en cultivo en la X Región. **In:** IX Jornadas de Ciencias del Mar. Antofagasta, Chile. 23-27 octubre 1989. U. Pto. Montt.
- **CARVAJAL, P.** 2000. Industria creciente, vacunas para la salmonicultura. Salmonoticias N° 83:11-15.

- **COLQUHOUN, D. J; AASE, I. L.; WALLACE, C.; BAKLIEN, A.; GRAVNINGEN, K.** 2004. First description of *V. ordalii* from Chile. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 24:185-188.
  
- **CRISTI, M.** 2003. Evaluación de la eficacia de dos vacunas experimentales bivalentes para el control de Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS) y Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 45 p.
  
- **CRISTI, R.** 2006. Evaluación de campo de la eficiencia de dos vacunas comerciales para la prevención de la Vibriosis en Chile provocada por *Vibrio ordalii* en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 38 p.
  
- **DE KINKELIN, P.; MICHEL, CH.; GHITTINO, P.** 1985. Tratado de las enfermedades de los peces. Ed. Acribia A.S. Zaragoza, España. 370 p.
  
- **DOHOO, I; MARTIN, W; STRYHN, H.** 2003. Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada. 706 p.
  
- **DORSON, M.** 1981. Role and characterization of fish antibody. International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines, Leetown, USA. Develop. Biol. Standard 49:307-319.
  
- **EDUCARCHILE.** 2007. Mapa Físico de Chile 41 – 48 grados. [en línea] <<http://www.educarchile.cl/Portal.Base/Web/verContenido.aspx?ID=130639>> [consulta: 22-11-2007]
  
- **EGIDIUS, E.** 1987. Vibriosis: Pathogenicity and Pathology, A Review. Aquaculture. 67:15-28.
  
- **FUNDACIÓN CHILE.** 2003. Código de buenas prácticas para centros de cultivo de Salmónidos ambientalmente bien manejados. [en línea] <[www.redacuicola.cl/documentos/archivos/modulo\\_03\\_obtencion\\_de\\_alevines.pdf](http://www.redacuicola.cl/documentos/archivos/modulo_03_obtencion_de_alevines.pdf)> [consulta: 15-10-2007].

- **GRAAT, E.; FRANKENA, K.; BOS, H.** 2001. Principles and Methods of Sampling in Animal Diseases Surveys. **In:** Noordhuizen, J.; Frankena, K.; Thrusfield, M.; Gratt E. Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. 2<sup>nd</sup> ed. Wageningen Pers. The Netherlands. pp. 33-60.
  
- **GODOY, M.** 2004. Salmónidos afectado por Vibriosis en Chile. Aqua Not. Int. N° 94:88-91.
  
- **GRONDEL, J.; NOUWS, J; VAN MUISWINKEL, W.** 1987. The influence of antibiotics on the immune system; immuno-pharmacokinetic investigations on the primary anti-SRBC response in carp, *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. J. Fish. Dis. 10:35-43.
  
- **INFOSTAT.** 2004. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Editorial Brujas. Argentina.
  
- **INGLIS, V.; BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J.** 1993. Bacterial diseases of fish. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York, USA. 312 p.
  
- **LEAL, J.** 2003. Estudio de seguridad de dos vacunas bivalentes inyectables para la prevención de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) y de la Piscirickettsiosis (SRS) en salmones del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 33 p.
  
- **LUNDEN, T.; MIETTINEN, S.; LÖNNSTROM, L.; LILIUS, E.; BYLUND, G.** 1998. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shell. Immunol. 8:217-230.
  
- **MANSILLA, A.** 2002. Estudio de seguridad y potencia de una vacuna inyectable para la prevención de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) en salmones del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 44 p.
  
- **MICROSOFT CORPORATION.** 2000. Microsoft Excel 2000.
  
- **MIDTLYNG, P. J.** 1997. Novel vaccines and new vaccination strategies for fish. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 17(6):239-244.

- **MIDTLYNG, P. J.** 2005. Progress in fish vaccinology. Dev. Biol 121:340.
  
- **MÜLLER, M.** 2001. Estudio de seguridad y desarrollo de anticuerpos anti IPN de una vacuna comercial en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 26 p.
  
- **MUÑOZ, J.** 1990. Examen microbiológico en salmonídeos de cultivo de la X Región para el intento de aislamiento de *Vibrio spp.* y otros agentes bacterianos. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 35 p.
  
- **NAVARRETE, P.** 2004. Evaluación de la potencia de una vacuna experimental para la prevención de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 35 p.
  
- **PALACIOS, S.** 2001. Vacunas para salmones: Que ofrece Chile a los productores. Aqua Not. Int. N° 62:58-62.
  
- **PLUMB, J. A.** 1999. Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. First ed. Iowa State University. Iowa, USA. 328 p.
  
- **REED, P; FRANCIS-FLOYD, R.** 1996. Vibrio infections of fish. [en línea] <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA03600.pdf>> [consulta: 21-07-2007]
  
- **RIJKERS, G; VAN OOSTEROM, R; VAN MUISWINKEL, W.** 1981. The immune system of cyprinid fish. Oxytetracycline and the regulation of humoral immunity in carp (*Cyprinus carpio* L.) Vet. Immunol. Immunopath. 2:281-290.
  
- **ROBERTS, R.** 2001. Fish Pathology. 3<sup>ra</sup> ed. Baillière Tindall. London, U.K. 492 p.
  
- **SAG.** 2007. Productos Biológicos Inmunológicos con Registro Provisional, Uso en peces. [en línea] <[http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/PAGE/PG\\_SAG\\_BIBLIOTECA/BIBL\\_INS\\_YPROD/BIBLIO\\_INS\\_MED/BIBLIO\\_INS\\_MED\\_LISTAS/LISTA\\_SALMONIDOS\\_REGISTRO\\_PROVISIONAL.PDF](http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/PAGE/PG_SAG_BIBLIOTECA/BIBL_INS_YPROD/BIBLIO_INS_MED/BIBLIO_INS_MED_LISTAS/LISTA_SALMONIDOS_REGISTRO_PROVISIONAL.PDF)> [consulta: 21-11-2007]

- **SAN MARTÍN; C.** 2001. Evaluación de una vacuna comercial para la prevención de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 32 p.
  
- **SAWYER, E. S.; STROUT, R. G.** 1977. Survival and growth of vaccinated, medicated and untreated coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture* 10:311–315.
  
- **SCHIEWE, M. H.; TREVOR, J. T.; CROSA, J. H.** 1981. *Vibrio ordalii* sp.: A causative Agent of Vibriosis. *Fish Curr. Microbiol.* 6:343-348.
  
- **SMITH, P.; LARENAS, J.; VERA, P.; CONTRERAS, J.; VENEGAS, C.; ROJAS, M. E.; GUAJARDO, A.** 2002. Principales enfermedades de los peces salmonídeos cultivados en Chile. *Monografías Med. Vet.* 21:3-19.
  
- **SOMMERSET, I; KROSSY, B.; BIERING, E.; FROST, P.** 2005. Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Rev. Vaccines* 4(1):89-101.
  
- **SERNAPESCA.** 2006. Trazabilidad de Productos Pesqueros. [en línea] <[http://www2.sernapesca.cl/lib/doc\\_atributo.php?c=001007008001015002001](http://www2.sernapesca.cl/lib/doc_atributo.php?c=001007008001015002001)> [consulta: 02-08-2007]
  
- **SIWICKI, A.; ANDERSON, D; DIXON, O.** 1989. Comparisons of Nonspecific and Specific Immunomodulation by Oxolinic Acid, Oxytetracycline and Levamisole in Salmonids. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 23:195-200.
  
- **SUBPESCA.** 2005. Informe Consolidado de Pesca y Acuicultura 2005. [en línea] <<http://www.subpesca.cl>> [consulta: 30-04-2007]
  
- **TAUCHER, E.** 1999. Bioestadística. 2<sup>a</sup> ed. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 312 p.
  
- **THORARINSSON, R; POWELL, D.** 2006. Effects of disease risk, vaccine efficacy, and market price on the economics of fish vaccination. *Aquaculture* 256:42-49.

- **THORBURN, M. A.** 1986. Epidemiologic and economic aspects of vibriosis and its control in pen-reared rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Sweden. Ph.D. Thesis Davis, CA, USA. University of California. 114 pp.
  
- **THORBURN, M. A.; CARPENTER, T. E.** 1986. An economic evaluation of vibriosis vaccination of rainbow trout reared in Swedish brackish water net-pen farms. **In:** Proc. 4th Int. Symp. Vet. Epidemiol. Econom. Singapore. November 1985. Singapore. pp.311-313.
  
- **THRUSFIELD, M.** 2005. Observational Studies. **In:** Veterinary Epidemiology. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK. pp. 266-288.
  
- **VAN MUISWINKEL, W.; ANDERSON, D.; LAMERS, C.; EGBERTS, E.; VAN LOON, J.; IJSSEL, J.** 1985. Fish immunology and fish health. Fish Immunology. Academic Press, London, U.K. pp. 1-8.
  
- **WILSON, F.** 2004. Evaluación de la potencia de dos vacunas experimentales para la prevención y control de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 35 p.

## ANEXO 1

### Productos Biológicos Inmunológicos contra Vibriosis con Registro Provisional

#### Uso en Peces.

Actualizado al 19 de Octubre del 2007.

<b>N° Reg. Provisional</b>	<b>Nombre del Producto</b>	<b>Empresa Comercializadora</b>	<b>Especie de destino</b>
<b>1739-BP</b>	Vacuna inactivada contra Furunculosis atípica, Vibriosis y Necrosis Pancreática Infecciosa, emulsión inyectable. Alpha Ject 3-3	Pharmaq AS Chile Ltda.	Salmón del atlántico
<b>1740-BP</b>	Vacuna inactivada contra Vibriosis, Furunculosis y Necrosis Pancreática Infecciosa, emulsión inyectable. Compact VIAS	Intervet Chile Ltda	Salmón del atlántico
<b>1761-BP</b>	Vacuna inactivada contra Vibriosis y Necrosis Pancreática Infecciosa, emulsión inyectable. Alpha Ject 2-3	Pharmaq AS Chile Ltda.	Salmón del atlántico
<b>1808-BP</b>	Vacuna inactivada contra Necrosis Pancreática Infecciosa y Vibriosis, emulsión inyectable. Birnagen Forte V	Novartis Chile S.A.	Salmón del atlántico
<b>1809-BP</b>	Vacuna inactivada contra Necrosis Pancreática Infecciosa, Vibriosis y Furunculosis, emulsión inyectable. Birnagen Forte AV	Novartis Chile S.A.	Salmón del atlántico
<b>1850-BP</b>	Vacuna inactivada contra Vibriosis producida por <i>Vibrio ordalii</i> , emulsión inyectable	Centrovet Ltda.	Salmón del atlántico
<b>1867-BP</b>	Vacuna inactivada contra Necrosis Pancreática Infecciosa, <i>Vibrio ordalii</i> y <i>Piscirickettsia salmonis</i> , emulsión inyectable. Birnagen Forte 3	Novartis Chile S.A.	Salmón del atlántico
<b>1885-BP</b>	Vacuna inactivada contra Furunculosis atípica, Vibriosis, Síndrome Rickettsial del salmón y Necrosis Pancreática Infecciosa, emulsión inyectable. Alpha Ject 4-1	Pharmaq AS Chile Ltda.	Salmón del atlántico
<b>1898-BP</b>	Vacuna inactivada contra Síndrome Rickettsial del Salmón, Necrosis Pancreática Infecciosa, Vibriosis, Furunculosis, emulsión inyectable. Agrovac 4	Agrovet Ltda.	Trucha arcoiris
<b>1899-BP</b>	Vacuna inactivada contra Necrosis Pancreática Infecciosa, <i>Vibrio ordalii</i> , Furunculosis atípica y <i>Piscirickettsia salmonis</i> , emulsión inyectable. Birnagen Forte 4	Novartis Chile S.A	Salmón del atlántico
<b>1915-BP</b>	Vacuna inactivada contra Síndrome Rickettsial del Salmón, Necrosis Pancreática Infecciosa, Vibriosis, emulsión inyectable. Agrovac 3	Agrovet Ltda.	Trucha arcoiris

## ANEXO 2

### FORMULARIO ENCUESTA ESTUDIO DE EFECTIVIDAD DE VACUNAS INTESAL de SALMONCHILE - UNIVERSIDAD DE CHILE Encuesta Vibriosis

*El presente formulario encuesta forma parte de un Estudio de Efectividad de Vacunas contra Vibriosis, realizado entre Intesal y la Universidad de Chile. La metodología utilizada será un estudio epidemiológico de casos-no casos (controles). Es de vital importancia vuestra colaboración en la selección de los casos y no casos así como en la entrega de información respecto al proceso de vacunación y efectividad de vacunas para cada uno de los grupos de peces.*

PRIMERA PARTE: identificación empresa participante

1. Empresa

2. Centro

3. Macrozona ambiental

SEGUNDA PARTE: identificación de los casos y no casos (controles)

*Las unidades epidemiológicas para este estudio fueron definidas como grupos de smolts ingresados a su centro en la temporada 2004 - 2005. Se entenderá por grupos de smolts, como la unidad poblacional de peces ingresados al centro de cultivo que posean en común el establecimiento de origen, el centro de destino y el frasiado al centro de engorda. Los casos se definieron como grupos de peces que presentaron mortalidades acumuladas (en base a la biomasa) atribuibles a Vibriosis mayores al 6%. Los no casos (controles), en cambio, son los grupos de peces que presentaron mortalidades acumuladas atribuibles a Vibriosis menores o iguales al 6%.*

**EN ESTA ENCUESTA SE DEBEN INCLUIR GRUPOS DE PECES (CASOS Y NO CASOS) VACUNADOS Y NO VACUNADOS CONTRA VIBRIOSIS**

*El período de estudio de eficacia de las vacunas para el control de Vibriosis será desde el ingreso de los peces al mar hasta completar el ciclo de engorda.*

4. ¿Cuántos grupos de smolts ingresaron al centro en la temporada 2004 - 2005?

5. De acuerdo con la definición previa, indique el número de grupo caso y grupos no caso (control) de la temporada citada.

caso(s)

no caso(s)

TERCERA PARTE: información de los casos y no casos

*Ahora, para cada uno de los casos y no casos (controles) seleccionados, favor responder las siguientes preguntas. Se han dispuesto 6 columnas para completar la información de 6 grupos. En el caso en que Ud. haya seleccionado más de 6 grupos, copie una columna vacía y*



