



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO

CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE
PISCIRICKETTSIOSIS EN EL AÑO 2013 EN CHILE

MARIANA ALEJANDRA LEAL TORO

Tesis para optar al Grado de
Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias
Mención Medicina Preventiva Animal

Santiago-Chile

2017



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO

CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE
PISCIRICKETTSIOSIS EN EL AÑO 2013 EN CHILE

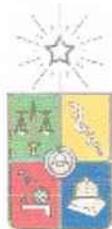
MARIANA ALEJANDRA LEAL TORO

Tesis para optar al Grado de
Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias
Mención Medicina Preventiva Animal

DIRECTOR DE TESIS: DR. CHRISTOPHER HAMILTON-WEST M.

Santiago-Chile

2017



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

SE INFORMA A LA DIRECCIÓN DE POSTGRADO Y POSTÍTULO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS, QUE LA TESIS DE MAGÍSTER PRESENTADA POR LA CANDIDATA

MARIANA ALEJANDRA LEAL TORO

HA SIDO APROBADA POR LA COMISIÓN EVALUADORA DE TESIS COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS ANIMALES Y VETERINARIAS CON MENCIÓN EN MEDICINA PREVENTIVA ANIMAL, EN EXAMEN DE DEFENSA DE TESIS RENDIDO EL DÍA 12 DE ENERO DE 2017

DIRECTOR DE TESIS

DR. CHRISTOPHER HAMILTON-WEST M.

COMISIÓN EVALUADORA E INFORMANTE DE TESIS

DR. PEDRO SMITH S.

DR. SANTIAGO URCELAY V.

**Esta Tesis de Grado se realizó en el Departamento de Medicina Preventiva
Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de
Chile**

BIOGRAFÍA

Mariana Leal Toro cursó enseñanza básica en el Colegio Santa Cruz y la enseñanza media en el Colegio de Humanidades, ambos ubicados en la comuna de Villarrica, Región de la Araucanía.

Ingresa a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile en año 2002, obteniendo el título de Médico Veterinario el año 2009.

Ingresa al programa de Magister en Ciencias Animales y Veterinarias con mención Medicina Preventiva en la Universidad de Chile el año 2009, posteriormente el año 2010 egresa del programa de Diplomado en Epidemiología Veterinaria Aplicada impartido por la misma casa de estudios.

Este trabajo ha sido seleccionado para ser presentado en el Congreso de Medicina Veterinaria el año 2014.

INDICE DE CONTENIDOS

BIOGRAFÍA	5
INDICE DE CONTENIDOS	6
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
2.1. CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE	11
2.2. SIGNOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO DE LA PISCIRICKETTSIOSIS	11
2.3. TRATAMIENTO DE LA PISCIRICKETTSIOSIS	13
2.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD	13
2.5. MEDIDAS DE PREVENCIÓN, DETECCIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA DE LA PISCIRICKETTSIOSIS ADOPTADAS POR SERNAPESCA.....	16
3. OBJETIVOS	18
3.1. OBJETIVO GENERAL	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. MATERIALES Y MÉTODO	19
4.1. MATERIALES.....	19
4.2. MÉTODO	21
5. RESULTADOS	27
5.1. POBLACIÓN EN RIESGO.....	27
5.2. DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DE TASA MENSUAL DE MORTALIDAD, PREVALENCIA E INCIDENCIA DE PISCIRICKETTSIOSIS EN DIFERENTES NIVELES; REGIONAL, ESPECIE, CATEGORÍA DE RIESGO Y ETAPA DEL CICLO PRODUCTIVO.....	28
5.3. CUANTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA DURACIÓN DE LOS BROTES DE PISCIRICKETTSIOSIS A NIVEL REGIONAL Y ESPECIE.....	36
5.4. DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS UTILIZADOS POR LA INDUSTRIA SALMONERA PARA EL CONTROL DE PISCIRICKETTSIOSIS A NIVEL REGIONAL, ESPECIE, CATEGORÍA DE RIESGO DE LOS CENTROS DE CULTIVO Y ETAPA DEL CICLO PRODUCTIVO	37
5.5. COMPARACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y DE TRATAMIENTOS POR CICLO PRODUCTIVO EN DOS ACSs SELECCIONADAS MEDIANTE MUESTREO POR CONVENIENCIA, UNA DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS Y OTRA DE LA REGIÓN DE AYSÉN EN CENTROS CULTIVADOS CON <i>S. SALAR</i>	40
6. DISCUSIÓN	42
7. CONCLUSIONES	47
8. REFERENCIAS	48

RESUMEN

La piscirickettiosis es una enfermedad bacteriana que afecta a salmónidos de cultivo causando elevadas pérdidas económicas al sector acuícola y un elevado consumo de antimicrobianos, el conocimiento científico actual de la enfermedad está enfocado mayoritariamente en el agente causal, siendo el comportamiento de la enfermedad en los centros de cultivo escasamente investigado. Este estudio realiza una descripción epidemiológica de la presentación de la enfermedad en base a las mortalidades reportadas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante el año 2013. Entre los hallazgos, se registraron mayores tasas de mortalidad en verano, lo que sugiere un comportamiento estacional. En cuanto a la presentación de la enfermedad por especie, se registró mayor prevalencia e incidencia en centros cultivados con *S. salar* y mayores tasas de mortalidad y duración de los brotes en los centros cultivados con *O. mykiss*. En relación a la presentación de los brotes, un 69% de los centros que fueron categorizados como de Alta Diseminación, se encontraban en la última etapa del ciclo productivo al momento de la categorización. Se observó que a mayor tiempo de permanencia en el agua, mayor fue también la tasa de mortalidad. Al analizar ciclos productivos completos en centros cultivados con *S. salar* en dos agrupaciones de concesiones (ACS), se pudo observar que las primeras mortalidades ocurrieron dentro del segundo mes después de la siembra. El presente estudio es el primero que describe la presentación de la piscirickettiosis incluyendo todos los centros de cultivo presentes en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, así como también la estimación de prevalencias a nivel de ciclo productivo, de este modo, los resultados obtenidos son un punto de partida para establecer hipótesis que permitan dilucidar la influencia de las diferentes variables en la presentación y severidad de la enfermedad.

SUMMARY

Piscirickettiosis is a bacterial disease that affects cultivated salmonids causing high economic losses to the aquaculture sector and a high consumption of antimicrobials, the current scientific knowledge of the disease is focused mainly on the causal agent, being the behavior of the disease rarely investigated at the salmon farms. This study provides an epidemiological description of the disease presentation based on reported mortalities in the regions of Los Lagos, Aysén and Magallanes during the 2013 year. Among the findings, higher mortality rates were recorded in summer, suggesting a seasonal behavior. As to disease presentation by species, it was registered a higher prevalence and incidence in the farm cultivated with *S. salar*, and higher mortality rates and duration of the outbreaks in *O. mykiss* farms. In relation to the outbreaks presentation, 69% of the farm that were classified as High Dissemination (CAD), were in the last stage of production cycle by the time of categorization. It was observed that the longer time in the water, the higher mortality rate. When analyzing complete productive cycles in farms with *S. salar* in two groups of concessions (ACS), it was observed that the first mortalities occurred in the second month after sowing. This study is the first to describe the piscirickettsiosis presentation, including all salmonids farm present in the regions of Los Lagos, Aysén and Magallanes, as well as the estimation of prevalences at the productive cycle level, in this way, the results obtained are a starting point to establish hypothesis that allow to elucidate the influence of different variables on the presentation and severity of the disease.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) junto a la Industria Salmonera tienen un gran interés en controlar la piscirickettsiosis, ya que es considerada una de las enfermedades más importantes que afecta la producción de salmones, causando altos niveles de mortalidad y elevadas pérdidas económicas. El tratamiento antibiótico para piscirickettsiosis en forma permanente y en grandes cantidades genera externalidades negativas de interés para la salud animal y la salud pública, como la resistencia bacteriana a antibióticos y riesgo para la salud de las personas por la presencia de residuos. Además son un potencial peligro para la fauna silvestre.

Para diseñar un programa de control, el primer paso es conocer el comportamiento de la enfermedad en cuestión para, en forma precisa, aplicar las medidas que tiendan a la disminución de su prevalencia. Hasta el momento, prácticamente no existen estudios de campo que permitan revelar las relaciones entre el agente, el hospedero y el medio ambiente, ya que la mayoría de ellos se basan en estudios experimentales. En este contexto es que se ha decidido llevar a cabo una investigación que permita caracterizar epidemiológicamente los eventos de piscirickettsiosis ocurridos entre Enero y Diciembre del año 2013 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los pescados y productos del mar representan una fuente importante de proteínas y nutrientes consumidas por la población. En el año 2009 el pescado representó el 16,6% de las proteínas animales ingeridas por la población mundial. En los últimos 30 años (1980-2010) la producción de peces provenientes de la acuicultura ha aumentado doce veces, a una tasa anual de 8,8%. En el 2010 la producción mundial de pescados comestibles alcanzó las 59,9 millones de toneladas, un 7,5% más que la producción del año anterior. Se estima que esto último representa una cantidad de 119.400 millones de USD (FAO, 2012).

Chile ocupa el primer lugar en la producción acuícola de América, con 701.062 toneladas anuales que corresponde a un 27% del total producido en este continente. La proporción mundial de salmón y trucha cosechada ha aumentado considerablemente respecto de la pesca extractiva y en el 2010 alcanzó un 14% de los productos pesqueros. Chile ocupa el segundo lugar después de Noruega y ha aumentado considerablemente su producción alcanzando al año 2012 los niveles previos a la crisis sanitaria causada por el virus ISA el año 2007 (FAO, 2012).

En el año 2011 en Chile se cosecharon 960.577 toneladas de productos derivados de la acuicultura, de los cuales un 63% correspondió a peces. De los centros de cultivo de salmónidos inscritos en el Registro Nacional de Acuicultura, un 42% se ubicó en la Región de Aysén, un 40% en Los Lagos y un 4% en Magallanes. El 14% restante estuvo distribuido en las otras regiones (Sernapesca, 2011). Las principales especies de salmónidos cultivadas son salmón del Atlántico (*Salmo salar*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y en menor medida salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*).

La producción de peces es vulnerable a los efectos adversos de las enfermedades y condiciones ambientales. Las enfermedades de mayor importancia sanitaria y económica en salmónidos en etapa de agua de mar son, actualmente, la caligidosis (Sernapesca, s.a.a), la piscirickettsiosis (Chile, 2012) y la anemia infecciosa del salmón

(Sernapesca, s.a.b). Dichas enfermedades se caracterizan por provocar mortalidad en los peces, aumento de los costos de producción por concepto de prevención y control, además de la disminución en la conversión alimentaria. Actualmente, estas tres enfermedades se encuentran bajo un programa de vigilancia y control oficial.

El Programa Específico de Vigilancia y Control de la Piscirickettsiosis comenzó en enero del año 2013 y es el más reciente implementado por la Autoridad (Chile, 2012).

La piscirickettsiosis es una enfermedad de origen bacteriano que si bien está presente en otros países, es solo en Chile donde causa brotes con elevadas mortalidades acumuladas, que van desde un 30 a un 90% (Birkbeck et al., 2004).

2.1. Características del Agente

La piscirickettsiosis es causada por *Piscirickettsia salmonis*, la cual en la actualidad es clasificada como una bacteria intracelular facultativa, perteneciente a la clase de las Gammaproteobacterias (Fryer y Lannan, 2005). La bacteria es Gram negativa, pleomórfica, de forma predominantemente cocoide, con un diámetro de 0,5 a 1,5 micras, que se encuentra dentro de vacuolas citoplasmáticas de las células de los tejidos infectados y se reproduce por fisión binaria (Fryer et al., 1992).

Existen variantes en la virulencia y patogenicidad de la enfermedad con diferencias en la presentación clínica, describiéndose las manifestaciones sobreaguda, aguda y crónica (House et al., 1999).

La bacteria tiene la facultad de generar un *biofilm* en el ambiente marino, que se adhiere a superficies y la protege de las condiciones ambientales adversas (Marshall et al., 2012).

2.2. Signología y diagnóstico de la piscirickettsiosis

2.2.1. Signos clínicos

Los peces infectados con *P. salmonis* pueden o no manifestar signología clínica asociada a la enfermedad. Los peces afectados con signología clínica presentan signos externos y/o internos dentro de los cuales destacan el oscurecimiento del pez, anorexia y letargia. Generalmente nadan cerca de la superficie o alrededor de las jaulas. Los peces que tienen el cerebro infectado presentan nado errático. También pueden

presentar lesiones circulares blanquecinas en la piel que pueden ulcerarse. El signo clínico externo más frecuente es la palidez de las branquias producto de la anemia (Fryer y Hedrick, 2003).

Al ser una enfermedad sistémica gran parte de los órganos internos se encuentran afectados, se puede observar en la necropsia inflamación y descoloración de riñones, agrandamiento del bazo y ascitis. También puede observarse hemorragia en grasa visceral, estómago, vejiga natatoria y musculatura. Aparecen nódulos piogranulomatosos en hígado agrupados, multifocales, de color blanquecino o amarillento. Dichas lesiones pueden dar como resultados cavidades crateriformes superficiales. Si bien, esta última es característica de la piscirickettsiosis, no todos los peces afectados la presentan (Fryer y Hedrick, 2003).

2.2.2. Diagnóstico

El diagnóstico se basa principalmente en la signología externa e interna de los peces y técnicas microscópicas, combinado con algunos procedimientos de detección de la *P. salmonis* que se describen a continuación:

- **Aislamiento de la bacteria:**

P. salmonis no se replica en medios bacteriológicos comunes y debe ser cultivada en cultivos celulares. Los tejidos utilizados son riñón, hígado y sangre, durante la infección activa. El homogenizado de éstos tejidos se inocula en cultivos celulares y se observa diariamente en busca de efecto citopático. La confirmación de la bacteria en cultivo celular puede hacerse mediante inmunofluorescencia indirecta (IFAT) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Fryer y Hedrick, 2003).

- **Observación directa de la bacteria en preparaciones teñidas:**

Frotis o impresiones de hígado, riñón, bazo y cultivos celulares infectados pueden ser fijados y teñidos con gram, giemsa y azul de metileno, donde se observan las bacterias intracelulares como organismos pleomórficos teñidos oscuros, con forma cocoide o de anillo a menudo dentro de las vacuolas citoplasmáticas (Fryer y Hedrick, 2003).

2.3. Tratamiento de la piscirickettsiosis

P. salmonis es sensible *in vitro* a estreptomomicina, gentamicina, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, oxitetraciclina, flumequina, ácido oxolínico, sarafloxacino y claritromicina. Es resistente a la penicilina, lincomicina, furazolidona y sulfonamida- trimetoprim (Fryer et al., 1990; Cvitanich et al., 1991). En la tabla 1 se indican los principios activos autorizados en Chile por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para el control de la piscirickettsiosis (SAG, 2015).

TABLA 1: Principios activos autorizados por el SAG en el Sistema de Medicamentos Veterinarios

Principio Activo	Vía de Administración
Ácido Oxolínico	Oral
Oxitetraciclina	Oral - intraperitoneal
Flumequina	Oral
Eritromicina	Oral
Florfenicol	Oral

La efectividad del tratamiento oral no ha sido consistente ya que las mortalidades han ido en aumento a partir de 1990 y esto podría deberse a la variabilidad en las dosis de antibióticos administradas, a que no se alcanzan las concentraciones adecuadas para actuar a nivel intracelular, desarrollando las bacterias resistencia a estos productos (Barnes et al., 1995) y a la menor susceptibilidad de algunas cepas a los antimicrobianos (Sandoval et al., 2016).

2.4. Epidemiología de la Enfermedad

2.4.1. Vías de entrada del agente al hospedero y mecanismo de transmisión

Poco se conoce sobre las rutas naturales de infección, transmisión y patogénesis (Almendras et al., 2000). El agente ingresa al hospedero a través de la piel, branquias y el sistema gastrointestinal. La transmisión por vía cutánea sería la vía primaria de

transmisión (Smith et al., 1999). Experimentalmente, la transmisión ocurre de forma vertical directa y horizontal directa e indirecta (Larenas et al., 2003). En la transmisión vertical, los reproductores infectados transmiten la infección a través de las ovas a la progenie, pero no se ha demostrado que los alevines continúen con la infección hasta etapas más avanzadas de desarrollo. No obstante, podrían transmitir la infección a otros alevines y llegar a la etapa de *smolt* estando infectados sin signos clínicos (Larenas et al., 2003).

La bacteria es eliminada en semen, fluido ovárico, heces, bilis y orina de peces infectados (Larenas et al., 2003). No hay estudios que comprueben la transmisión por vectores (Olivares y Marshall, 2010).

Las infecciones horizontales en agua dulce son poco probables, ya que la bacteria tiene poca sobrevivencia en este medio (Lannan y Fryer, 1994).

Para los peces en agua de mar libres de infección, las posibilidades de infectarse están dadas por la sobrevivencia del agente en agua de mar, la cual llega hasta los 50 días. Mientras que en sedimento y en *biofilm* podría ser mayor (Marshall et al., 2012).

Los peces que se infectan y no enferman, se vuelven portadores asintomáticos (Larenas et al., 2003) y son fuente de diseminación, perpetuando el ciclo de infección para aquellos peces jóvenes susceptibles.

El periodo de incubación para la piscirickettsiosis depende de una variedad de factores, entre ellos se encuentra el tipo de aislado, la dosis administrada, la ruta de infección, condiciones ambientales y del hospedero (Lannan y Fryer, 1994). Experimentalmente, la mortalidad asociada a piscirickettsiosis va desde el día 2 al 28 para inoculación intraperitoneal y de 10 a 14 días para infecciones por vía cutánea, oral y branquias (Smith et al., 1999; Garcés et al., 1991; Smith et al., 1996). En condiciones de campo se ha observado que las mortalidades asociadas a piscirickettsiosis comienzan en salmones después de dos semanas de haber ingresado a un área infectada (Cvitanich et al., 1990).

2.4.2. Factores de riesgo de la piscirickettsiosis

No existen estudios que determinen factores de riesgo específicos para la presentación de la piscirickettsiosis. Sin embargo, existen los siguientes factores a nivel de

hospedero, ambiente y agente que predisponen a cualquier enfermedad al alterar la inmunidad de los peces (Penagos et al., 2009; House et al., 1999; Smith et al., 2004) y que se ha observado, podrían predisponer a la presentación de la piscirickettsiosis:

2.4.2.1. Hospedero

- Especie: Jacob et al (2014) determinaron una mayor susceptibilidad en *O. mykiss* a presentar brotes de la enfermedad en centros de cultivo.
- Estrés: se ha observado que los brotes aparecen generalmente después de periodos de alta variación en las condiciones ambientales, tales como fluctuación en la temperatura del agua, aumentos en las concentraciones de algas (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991) y se ha asociado a altas densidades de cultivo (Larenas et al., 1997). Además se ha sugerido que el estrés podría ser un factor predisponente para la presentación de la enfermedad (Garcés et al., 2005). Se ha descrito en peces síndrome de adaptación y de huida mediado por cortisol y estimulado por: hipoxia, altas densidades, manipulación, temperatura y tóxicos en el agua. Este síndrome provoca alteraciones en los tejidos superficiales del pez y depresión de la respuesta leucocitaria (Penagos et al., 2009).
- Estado nutricional: estado de nutricional e inapropiada nutrición han sido sugeridos como factores predisponentes para la presentación de piscirickettsiosis (Gacías et al., 2005). Se ha probado que deficiencias en vitaminas C y E alteran el funcionamiento de los macrófagos y del complemento, los desequilibrios entre los ácidos grasos pueden alterar la fagocitosis (Penagos et al., 2009).

2.4.2.2. Ambiente

- Temperatura: experimentalmente peces de la especie *O. mykiss* inoculadas con *P. salmonis* presentaron mayores mortalidades a una temperatura del agua de 14°C, no presentándose mortalidades en ninguno de los grupos mantenidos a 8°C (Larenas et al., 1997) y recientemente se observó correlación entre el aumento de la temperatura y la incidencia de la enfermedad en centros de cultivo (Rees et al., 2014 y Jacob et al., 2014). El grado en el que la temperatura del agua afecta la respuesta inmune depende de la especie y de la adaptación previa a la misma. Los efectos de las bajas temperaturas disminuyen la respuesta mediada por linfocitos y altera la fagocitosis y la citotoxicidad. En salmónidos, el sistema inmune no responde bajo los 4°C (Penagos et

al., 2009). El periodo de sobrevivencia de *P. salmonis* fuera de las células es mayor a temperaturas bajas (5°C) y disminuye a medida que ésta aumenta (Lannan y Fryer, 1994).

- Densidad: Larenas et al. (1997) determinaron experimentalmente en *O. mykiss* que a mayor densidad mayor tasa de mortalidad en los peces inoculados.

2.4.2.3. Agente

- Cepa: se ha observado distinto grado de virulencia entre diferentes aislados (House et al., 1999).
- Dosis infectante: la mortalidad acumulada ha sido directamente proporcional a la concentración de células bacterianas administradas (House et al., 1999).

2.5. Medidas de prevención, detección, control y vigilancia de la piscirickettsiosis adoptadas por Sernapesca

Sernapesca mandata a los centros a determinadas acciones que promuevan la prevención, detección y control de la enfermedad.

Dentro de las actividades de Sernapesca, en relación a las enfermedades en general se encuentran las indicadas en la tabla 2.

TABLA 2: Legislación vigente para la Vigilancia, detección y control de enfermedades

Medidas	Acciones	Legislación
Prevención	Reportar vacunaciones.	D.S. N° 319 del 2001 (Chile, 2001)
	Trasladar solo peces sanos.	Res. Ex. N°.064 del 2003 (Chile, 2003)
	Solicitud de permiso para trasladar peces (eliminación o cosecha).	Res. Ex. N°.064 del 2003 (Chile., 2003)

Medidas	Acciones	Legislación
	Descanso sanitario de las Agrupaciones de Concesiones (ACS) ¹	Res. Exenta N° 1449 del 2009 (Chile, 2009)
Detección	Laboratorios deben registrarse oficialmente ante Sernapesca.	D.S. N° 319 del 2001 (Chile, 2001)
	Laboratorios deben informar sobre los diagnósticos relacionados con las enfermedades alto riesgo de la lista 2 de Sernapesca, tal como piscirickettsiosis.	Res. Exenta N° 061 del 2003 (Chile, 2003)
Control	Notificación mensual de tratamientos para piscirickettsiosis.	D.S. N° 319 del 2001 (Chile, 2001)
Vigilancia	Registro, clasificación y notificación semanal de las mortalidades por causa.	Res. Ex. N° 1468 del 2012 (Chile, junio 2012)

Las medidas específicas adoptadas por Sernapesca en el Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Piscirickettsiosis (Chile, diciembre 2012) se presentan en la tabla 3.

TABLA 3: Medidas adoptadas por Sernapesca a través del Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Piscirickettsiosis

Medidas	Acciones
Vigilancia y Detección	Muestreo en agua dulce previo traslado al mar.
	Muestreo cada dos meses en agua de mar.
	Muestreo a centros de riesgo.
	Clasificación de centros en categorías de riesgo (en base a la mortalidad).
	Inspecciones de Sernapesca a los centros de cultivo.

¹ Conjunto de concesiones de acuicultura que se encuentran dentro de un área apta para el ejercicio de la acuicultura en un sector que presenta características epidemiológicas, oceanográficas, operativas o geográficas que justifiquen su manejo sanitario coordinado por grupo de especies hidrobiológicas (Res. Exenta 3174).

Medidas	Acciones
Control de Centros en Brote	Aumento en la frecuencia del retiro de mortalidades y extracción de peces moribundos.
	Centros en brote deben cumplir un plan de acción tendiente a la bio-contención del agente patógeno.
	Cosecha anticipada o eliminación de las jaulas más afectadas.

Hasta el momento prácticamente no existen estudios de campo que permitan revelar las relaciones entre el agente, el hospedero y el medio ambiente, la totalidad de ellos se basan en estudios experimentales. Es por esta razón que resulta de gran utilidad para diseñar estrategias de prevención y control eficiente, llevar a cabo una investigación enfocada a describir la situación epidemiológica de la bacteria en el país.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Caracterizar la situación epidemiológica de la piscirickettsiosis en los centros de cultivo de salmónidos en agua de mar y estuario entre Enero y Diciembre del 2013, en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

3.2. Objetivos Específicos

1. Determinar y comparar la tasa mensual de mortalidad, prevalencia e incidencia de la piscirickettsiosis en diferentes niveles; regional, especie, categoría de riesgo de los centros de cultivo y etapa del ciclo productivo.
2. Cuantificar y comparar la duración de los brotes de piscirickettsiosis en diferentes niveles; regional y especie.

3. Describir los tratamientos utilizados por la industria salmonera para el control de piscirickettsiosis en diferentes niveles; regional, especie, categoría de riesgo de los centros de cultivo y etapa del ciclo productivo.
4. Comparar y describir la presentación de la enfermedad y de tratamientos por ciclo productivo en dos ACSs seleccionadas mediante muestreo por conveniencia, una de la Región de Los Lagos y otra de la Región de Aysén.

4. MATERIALES Y MÉTODO

4.1. Materiales

4.1.1. Centros de Cultivo

En el presente estudio se analizaron un total de 579 centros de cultivo marinos y de estuario, de los cuales 265 pertenecían a la Región de Los Lagos, 281 a la Región de Aysén y 33 a la Región de Magallanes.

4.1.2. Fuentes de Información

Los datos se obtuvieron a partir de dos fuentes oficiales de Sernapesca: (i) una Planilla de Categorización de centros de cultivo, en la cual se establecen semanalmente las categorías de riesgo en la que se encuentran los centros activos y (ii) el Sistema de Información de Acuicultura (SIFA) que contiene información ingresada por un responsable de cada centro de cultivo y verificada por personal de Sernapesca. En la tabla 4 se muestran los detalles de las variables que fueron utilizadas en este estudio.

TABLA 4: Variables y fuentes de información utilizadas en el estudio

Variable	Descripción
Semana y año de inicio de la siembra en un centro de mar	Número de la semana y año según calendario, en la cual ingresan los peces a un centro de cultivo en mar dando inicio al ciclo productivo.
Especie sembrada en el centro de cultivo	Corresponde a la(s) especie(s) (<i>S. salar</i> , <i>O. mykiss</i> , <i>O. kisutch</i>) que ingresaron a un centro de cultivo al inicio del ciclo productivo.
Categorización de riesgo de los centros	Corresponde a la categorización semanal que realiza Sernapesca para clasificar los centros de acuerdo a la mortalidad atribuible a piscirickettsiosis (centros en Vigilancia, Alerta y de alta diseminación (CAD)).
Número de peces por centro	Corresponde al número de peces contados al inicio de la semana en un centro de cultivo.
Número de peces por unidad de cultivo²	Corresponde al número de peces contados al inicio de la semana en una unidad de cultivo.
Peso promedio de los peces por centro	Corresponde al peso promedio de los peces de un centro de cultivo medido al inicio de la semana.
Peso promedio de los peces por unidad de cultivo	Corresponde al peso promedio de los peces de una unidad de cultivo medido al inicio de la semana.
Número de peces muertos por piscirickettsiosis por centro	Corresponde a la sumatoria de peces muertos por piscirickettsiosis en una semana en un centro de cultivo.
Número de peces muertos por piscirickettsiosis por unidad de	Corresponde a la sumatoria de peces muertos por piscirickettsiosis en una semana en una

² Estructura de tamaño, material y forma variable, utilizada en el cultivo de peces en agua de mar que cumple la utilidad de mantener los peces confinados, permitiendo el intercambio de agua con el medio circundante.

Variable	Descripción
cultivo	unidad de cultivo.
Tratamiento por centro contra piscirickettsiosis	Corresponde a los tratamientos antimicrobianos realizados por centro de cultivo e informados mensualmente a Sernapesca.
Tratamiento por unidad de cultivo de piscirickettsiosis	Corresponde a los tratamientos antimicrobianos realizados por unidad de cultivo de cultivo e informados mensualmente a Sernapesca.

* La fuente de información utilizada para todas las variables fue SIFA, excepto para la variable “Categorización de riesgo de los centros” en donde como fuente de información se utilizó la Planilla de Categorización.

4.1.3. Programas

El programas utilizado para la elaboración de las bases de datos y los análisis estadísticos fue Microsoft Excel 2010.

4.2. Método

4.2.1. Unidad de Estudio

La información se encuentra disponible a nivel de centro de cultivo y jaula. Sin embargo, para los análisis se utilizaron diferentes unidades epidemiológicas, las cuales son: centro de cultivo y Región.

4.2.2. Definiciones

4.2.2.1. Definición de caso:

Para efectos de este estudio la definición de caso es diferente para la estimación de incidencia y prevalencia que la utilizada para la caracterización de brote, debido a que un centro con infección no necesariamente presenta la enfermedad y en consecuencia un brote (Dohoo et al., 2009). Para estimación de incidencia y prevalencia, la definición de caso fue:

- **Centro Infectado:** Corresponde a todo aquel centro de cultivo que presente una o más unidades de cultivo con mortalidades atribuibles a la enfermedad.

La definición de caso para la caracterización del brote fue la utilizada por Sernapesca (Chile., diciembre 2012) presentada a continuación:

- **Centro en Brote:** Se considerará como Centro en Brote a todo aquel centro de cultivo que cumpla con una de las siguientes condiciones:
 - a) Presentar simultáneamente el 50% o más de sus jaulas con un valor igual o superior a 0,35% de mortalidad asociada a la enfermedad.
 - b) Presentar una mortalidad asociada en un valor igual o superior a 0,35% semanal, a nivel de centro, por un periodo de 4 semanas consecutivas.

4.2.2.2. Definiciones generales

- **Categorización de Riesgo:** clasificación semanal efectuada por Sernapesca de los centros de cultivo en base al Programa Específico de Vigilancia y Control de la Piscirickettsiosis (Categorías de riesgo: Centro en Vigilancia, Centro en Alerta y CAD).
- **Categorías de Riesgo:**
 - **Centro Vigilancia:** Se consideró como centro Vigilancia todo centro de cultivo que haya iniciado un ciclo productivo, manteniéndose en esa categoría mientras no haya calificado como centro en Alerta o CAD.
 - **Centro Alerta:** Se consideró como centro en Alerta todo aquel centro de cultivo que haya cumplido con una de las siguientes condiciones:
 - a) Presentar en una o más jaulas mortalidad asociada a piscirickettsiosis en un valor igual o superior a 0,35% semanal.
 - b) Haber finalizado el periodo de seguimiento posterior a su clasificación como Centro en Brote, y cumplir con tener menos de 25% de sus jaulas con mortalidades atribuibles a piscirickettsiosis superiores a 0,35%.

El centro categorizado en Alerta pudo haberse re categorizado como Centro en Vigilancia cuando durante doce semanas consecutivas haya presentado

mortalidades asociadas a la enfermedad, a nivel de jaula, menos de 0,35% semanal.

- **Centros Activos:** Corresponde a aquellos centros que permanecen con peces en el agua durante un mes determinado.
- **Ciclo productivo:** corresponde al tiempo que transcurre entre el ingreso o siembra de los peces en etapa de *smolt* a los centros de mar o estuario, y el egreso o cosecha de los mismos ejemplares.
- **Inicio del brote:** semana y año en que un centro de cultivo es categorizado CAD.
- **Término del brote:** semana y año en que la mortalidad atribuible a piscirickettsiosis de un centro que ha sido categorizado CAD se mantiene inferior a 0,35% en a un 75% de sus jaulas por 3 semanas consecutivas.
- **Etapas del ciclo productivo:** Se dividió el ciclo productivo de un centro de cultivo en tres etapas de igual duración, de acuerdo al largo del ciclo productivo por especie y a la fecha de descanso sanitario de las ACS³.
- **Duración del Brote:** tiempo, expresado en semanas, que transcurrió entre el inicio y el término del brote.

4.2.3. Construcción de base de datos

A partir de las fuentes de información oficiales entregadas por Sernapesca, se construyó una nueva base de datos que permitió identificar e individualizar los ciclos productivos y los brotes para realizar la descripción de la frecuencia y distribución de la enfermedad.

4.2.4. Objetivo específico 1: Determinar y comparar la tasa mensual de mortalidad, prevalencia e incidencia de la piscirickettsiosis en diferentes niveles; regional, especie, categoría de riesgo de los centros de cultivo, y etapa del ciclo productivo.

³ Corresponde al periodo de tiempo determinado por SERNAPESCA, en el que las ACS deben permanecer sin peces en el agua (Resolución Exenta 1381 del 2011).

4.2.4.1. Estimación de Tasa de Mortalidad

Se estimó la tasa de mortalidad atribuible a la piscirickettsiosis con una frecuencia mensual utilizando la siguiente fórmula y adecuándola para cada uno de los niveles:

$$\text{Tasa de mortalidad} = \frac{\text{Número de peces muertos por piscirickettsiosis}}{\text{Número total de peces}^4}$$

4.2.4.2. Estimación de las Incidencias y Prevalencias

Se estimó la incidencia y prevalencia con una frecuencia mensual utilizando la siguiente fórmula (Dohoo et al., 2009) para cada uno de los niveles:

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Casos}}{(\text{inicio} - \frac{1}{2} \text{retiros} + \frac{1}{2} \text{ingresos}) * \text{tiempo}}$$

Donde:

- Casos: nuevos centros infectados
- Inicio: centros en situación de riesgo al inicio del periodo
- Retiros: centros cosechados o eliminados en el periodo
- Ingresos: centros sembrados en el periodo
- Tiempo: longitud del periodo de estudio (igual para todos los centros)

Para el cálculo de la prevalencia se utilizó la siguiente fórmula para cada uno de los niveles:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de centros infectados}}{\text{Número de centros activos promedio}}$$

Para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los diferentes grupos (Región, especie, etapa del ciclo productivo y categoría de riesgo), en primer lugar se aplicó la prueba no paramétrica de Kolmogorov- Smirnov que se utiliza para determinar la bondad del ajuste de dos distribuciones de probabilidades entre sí, verificándose de este modo si existe igualdad entre las

⁴ Corresponde al número promedio de peces contados al inicio de cada semana que compone un mes.

distribuciones de las poblaciones y posteriormente análisis de varianza o prueba de la mediana, dependiendo si los datos se ajustan o no a la curva de normalidad. Ambas pruebas permiten determinar si existen o no diferencias significativas entre las medias poblacionales (Wayne, 2002).

4.2.5. Objetivo específico 2: Cuantificar y comparar la duración de los brotes de piscirickettsiosis a nivel regional y especie

Para la estimación de la duración del brote se consideraron los centros CAD del año 2013. Con el fin de abarcar los brotes en toda su extensión, fue necesario hacer un seguimiento de aquellos centros que fueron CAD en enero del 2013 y que arrastraban ese brote desde el 2012 y también de aquellos que fueron CAD en diciembre del 2013 y continuaron con el mismo brote en enero del 2014. Todos aquellos brotes en los que los centros cosecharon antes del término del brote, no fueron considerados en el análisis. Para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los diferentes grupos (Región y especie), en primer lugar se aplicó la prueba no paramétrica de Kolmogorov- Smirnov que se utiliza para determinar la bondad del ajuste de dos distribuciones de probabilidades entre sí, verificándose de este modo si existe igualdad entre las distribuciones de las poblaciones y posteriormente análisis de varianza o prueba de la mediana, dependiendo si los datos se ajustan o no a la curva de normalidad. Ambas pruebas permiten determinar si existen o no diferencias significativas entre las medias poblacionales (Wayne, 2002).

4.2.6. Objetivo específico 3: Describir los tratamientos utilizados por la Industria Salmonera para el control de piscirickettsiosis a nivel regional, especie, categoría de riesgo de los centros de cultivo y Etapa del ciclo productivo.

4.2.6.1. Estimación de Tasas de Tratamiento

Se estimó la tasa de tratamiento contra piscirickettsiosis con una frecuencia mensual utilizando la siguiente fórmula para cada uno de los niveles:

Tasa de tratamiento centros infectados=	$\frac{\text{Número de centros tratados}}{\text{Número de centros infectados}}$
---	---

Se realizó descripción de los principios activos utilizados para el tratamiento de piscirickettsiosis en la industria salmonera estimando:

- Toneladas y frecuencia relativa de los principios activos administrados en el periodo a nivel nacional.

- Toneladas de principios activos por Región y especie.

4.2.7. Objetivo específico 4: Comparar y describir la presentación de la enfermedad y de tratamientos por ciclo productivo en dos ACSs seleccionadas mediante muestreo por conveniencia, una de la Región de Los Lagos y otra de la Región de Aysén.

Se seleccionó por conveniencia la ACS 2 en la Región de Los Lagos y la ACS 21B en la Región de Aysén. En ambas ACS para los centros constituidos por *S. salar* se describió estadísticamente:

- Tiempo transcurrido entre el ingreso de los peces y la aparición de la primera mortalidad asociada a piscirickettsiosis, expresado en semanas.
- Tiempo transcurrido entre el ingreso de los peces y la primera categorización de Alerta y CAD, expresado en semanas.
- Tiempo transcurrido entre primera mortalidad y primera categorización de Alerta y/o CAD, expresado en semanas.
- Antimicrobianos utilizados, expresado en kilogramos.
- Consumo de antimicrobianos (suma de biomasa semanal /kg de antimicrobianos utilizados en el ciclo productivo). Cabe destacar que, la estimación del consumo considera los kilogramos de antimicrobianos utilizados por biomasa y tiempo en riesgo.

Para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los diferentes grupos, en primer lugar se aplicó la prueba no paramétrica de Kolmogorov- Smirnov que se utiliza para determinar la bondad del ajuste de dos distribuciones de probabilidades entre sí, verificándose de este modo si existe igualdad entre las distribuciones de las poblaciones y posteriormente análisis de varianza o prueba de la mediana, dependiendo si los datos se ajustan o no a la curva de normalidad. Ambas pruebas permiten determinar si existen diferencias significativas entre grupos o que sus medias poblacionales no difieren (Wayne, 2002).

5. RESULTADOS

5.1. Población en Riesgo

A continuación en la tabla 5 se muestra la población anual promedio, utilizada para el cálculo de tasa de mortalidad, incidencia y prevalencia.

TABLA 5: Población anual promedio utilizada para el cálculo de tasa de mortalidad, incidencia y prevalencia para cada uno de los niveles señalados

Nivel		N° promedio de peces para estimación de tasa de mortalidad	N° promedio de centros en riesgo para estimación de incidencia	N° promedio centros activos para estimación de prevalencia
Región	Los Lagos	127.948.875	62	165
	Aysén	146.415.823	74	185
	Magallanes	13.164.309	21	22
Especie	<i>O. kisutch</i>	40.547.511	33	53
	<i>S. salar</i>	186.410.563	91	239
	<i>O. mykiss</i>	59.357.933	30	75
Categoría de Riesgo	Vigilancia	216.132.803	143	271
	Alerta	55.954.541	5	74
	CAD	14.146.174	0	23
Etapa	1	120.795.791	86	148
	2	111.852.356	43	131
	3	53.660.971	19	88

5.2. Determinación y comparación de tasa mensual de mortalidad, prevalencia e incidencia de piscirickettsiosis en diferentes niveles; regional, especie, categoría de riesgo y etapa del ciclo productivo

5.2.1. Nivel regional:

La tasa de mortalidad promedio anual fue similar entre la Región de Los Lagos y Aysén, 0,33% y 0,30% respectivamente, observándose en ambas regiones, mayor mortalidad en meses de verano, a partir de marzo, comenzó a descender, elevándose en octubre. La Región de Magallanes presentó mortalidades solo en abril y mayo en un centro de cultivo, siendo significativamente menores ($p < 0,05$) las mortalidades que en las regiones de Los Lagos y Aysén (gráfico 1).

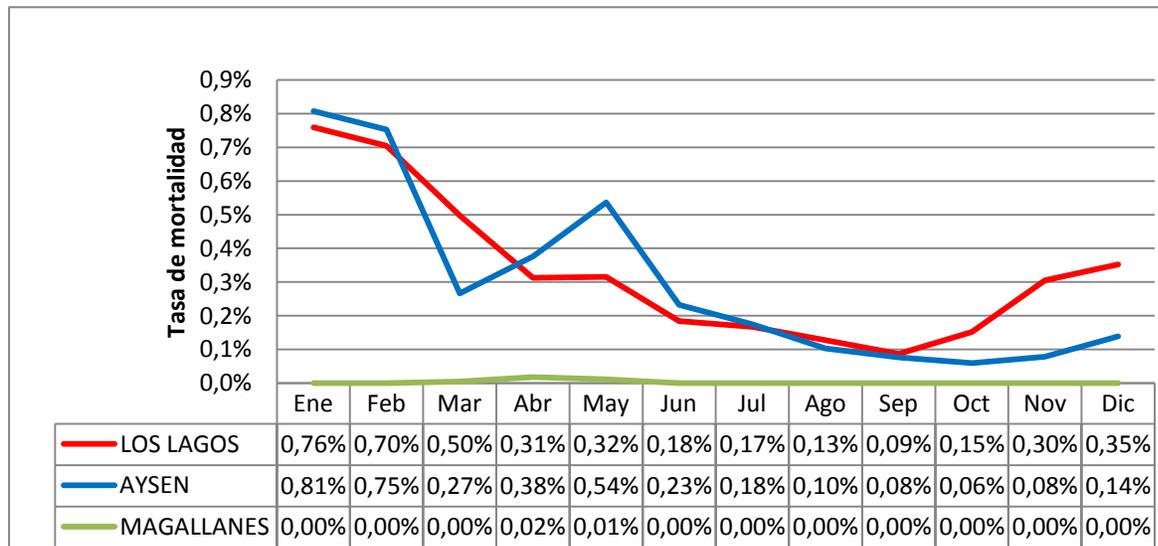


GRÁFICO 1: Tasa de mortalidad mensual por Región

La mayor tasa de prevalencia promedio se observó en Los Lagos (63%), seguido por Aysén (60%) y finalmente Magallanes presentó prevalencias significativamente ($p < 0,05$) menores (2%). La prevalencia en Los Lagos y Aysén fluctuó entre 45 y el 70% durante el año (gráfico 2).

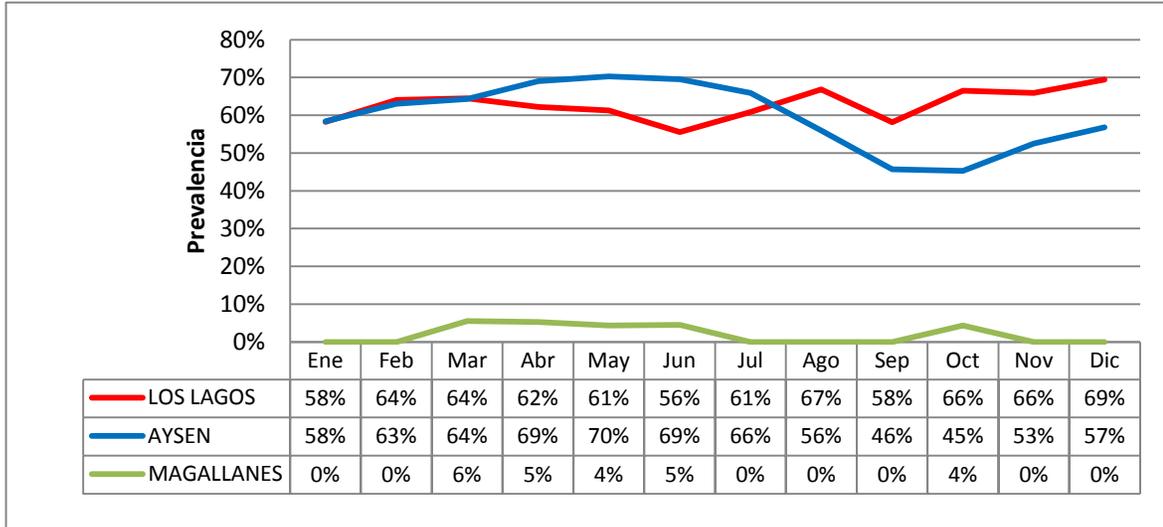


GRÁFICO 2: Tasa de prevalencia mensual según Región

Al igual que la prevalencia, la incidencia promedio anual presentó escasa diferencia entre Los Lagos (22%) y Aysén (21%). No se aprecia un patrón de incidencias en Los Lagos a diferencia de Aysén en donde se observaron mayor número de nuevos casos en abril y mayo para disminuir paulatinamente hasta septiembre (gráfico 3).

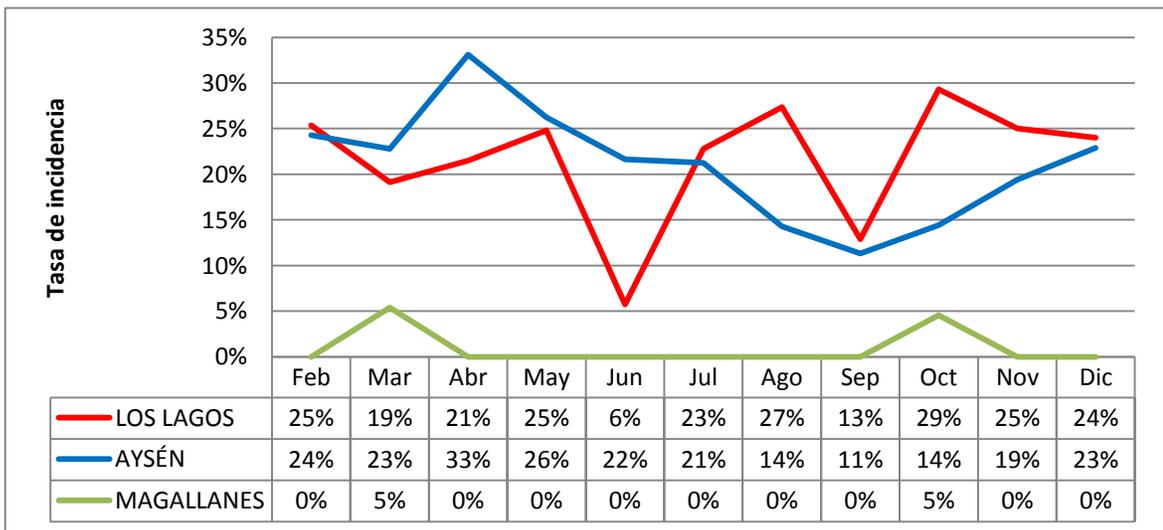


GRÁFICO 3: Tasa de incidencia mensual según Región

5.2.2. Nivel Especie:

Se observó mayor mortalidad promedio en *O. mykiss* (0,74%) que en *S. salar* (0,20%) y *O. kisutch* (0,11%), siendo ésta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). La estacionalidad de la mortalidad en *O. mykiss* es más marcada que en las demás especies, concentrándose de enero a febrero (gráfico 4).

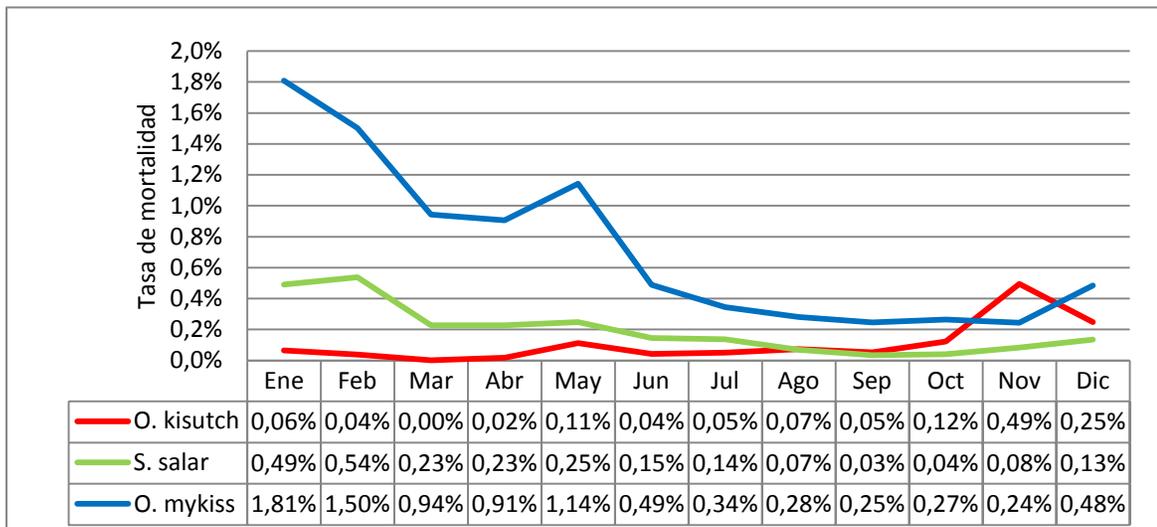


GRÁFICO 4: Tasa de mortalidad mensual atribuible a piscirickettsiosis según especie

La prevalencia fue mayor en *S. salar* (62%) que en *O. mykiss* (59%), contrastando con la tasa de mortalidad en donde *O. mykiss* duplicó la mortalidad de *S. salar* (gráfico 5).

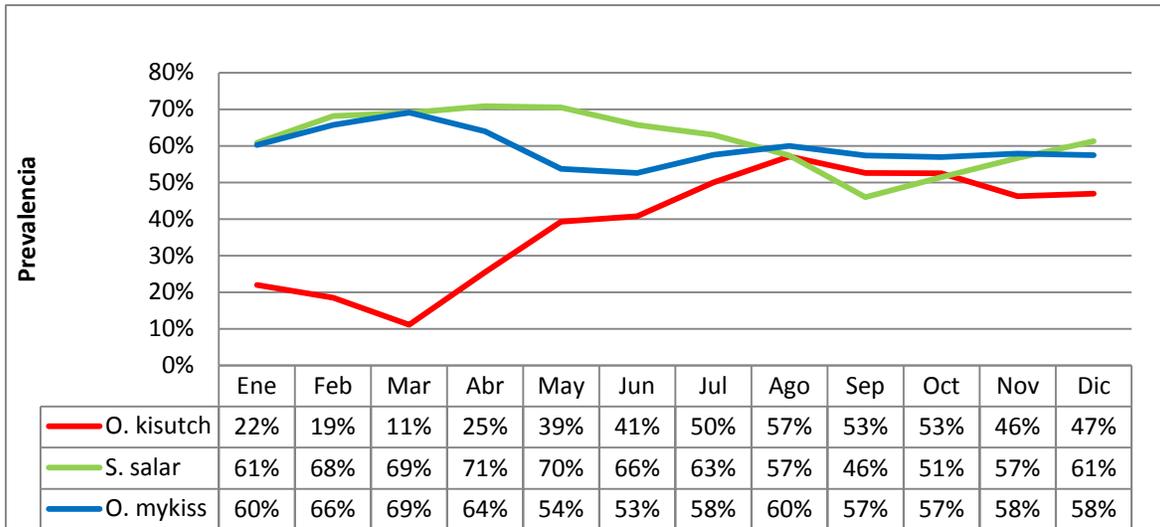


GRÁFICO 5: Tasa de prevalencia mensual atribuible a piscirickettsiosis según especie

La incidencia promedio anual fue mayor en *S. salar* (21%) que en *O. mykiss* (18%) y *O. kisutch* (14%). Los primeros se enfermaron mayoritariamente de febrero a mayo y de octubre a diciembre, mientras que *O. mykiss* y *O. kisutch* no presentaron un patrón estacional en la aparición de nuevos centros infectados (gráfico 6).

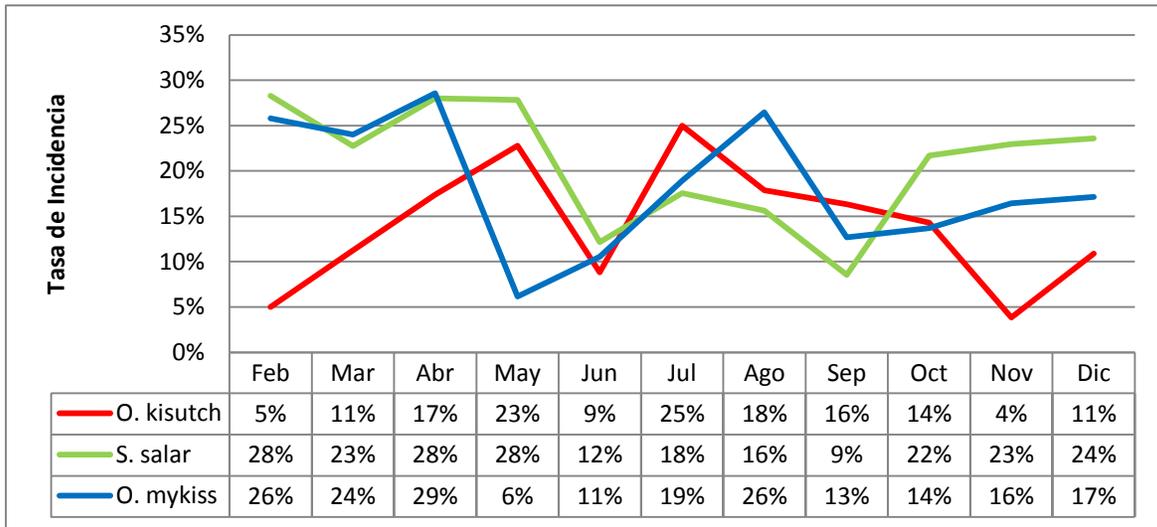


GRÁFICO 6: Tasa de incidencia mensual según especie

5.2.3. Nivel categoría de riesgo:

Los centros categorizados CAD presentaron una tasa de mortalidad promedio significativamente mayor (4,06%) que los centros Alerta (0,36%) y Vigilancia (0,03%). Se observó que los centros CAD presentaron mortalidades muy superiores a su categoría predecesora de Alerta y se pudo observar que la mayoría de centros que alcanzaron la categoría de Alerta en la Etapa 2 de ciclo, cambiaron a categoría de Vigilancia (72%) a diferencia de los centros que alcanzaron la categoría de Alerta en la Etapa 3 del ciclo, donde solo un 18% de los centros retornó a dicha categoría (gráfico 7).

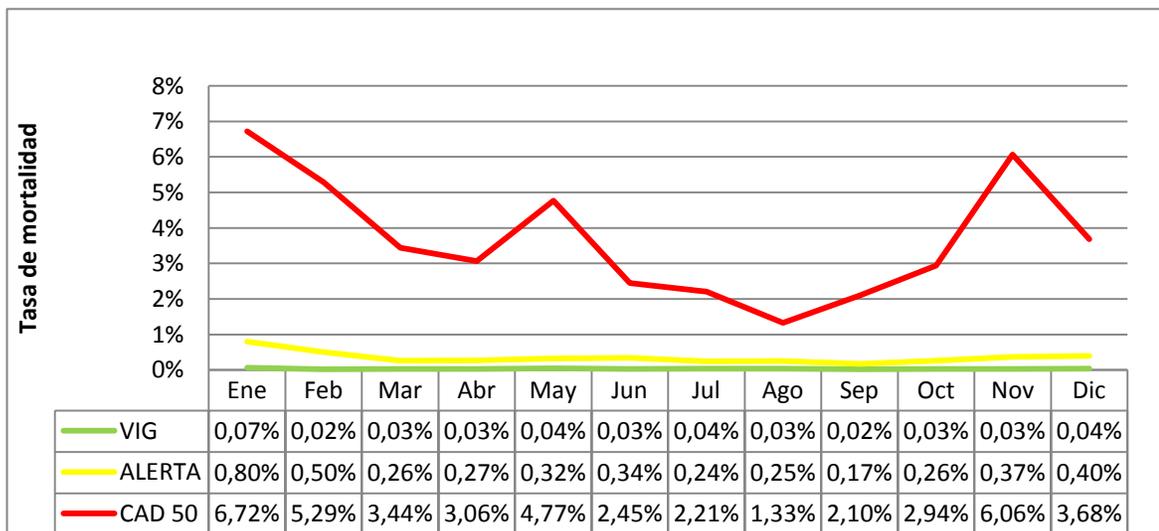


GRÁFICO 7: Tasa de mortalidad mensual según categoría de riesgo

Las mayores prevalencias se encontraron en los centros Alerta y CAD con prevalencias del 97 y 100%, respectivamente. Destaca que casi la mitad de los centros en Vigilancia tuvieron algún grado de infección (44%) (gráfico 8).

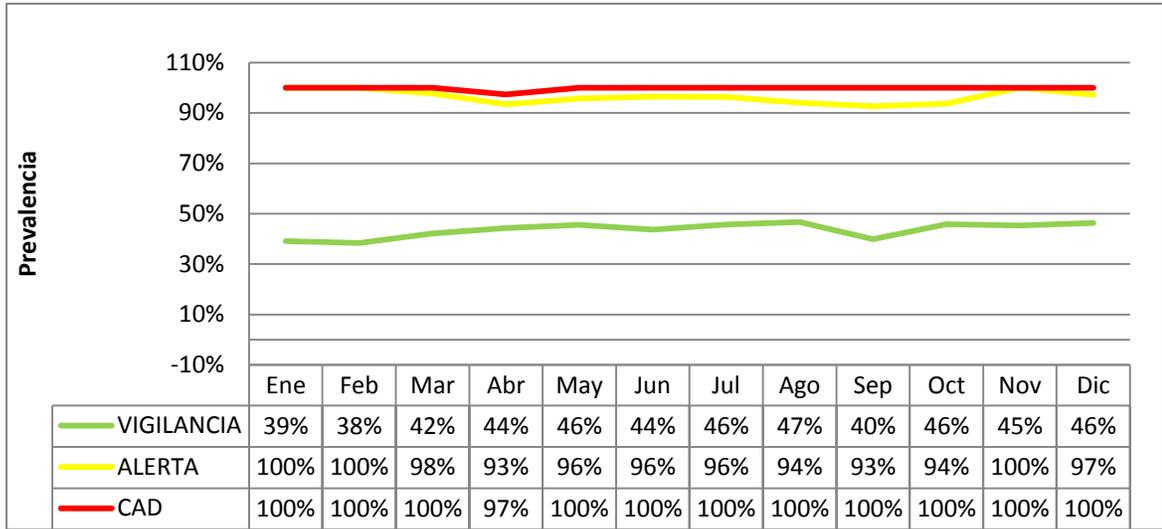


GRÁFICO 8: Tasa de prevalencia mensual según categoría de riesgo

No hubo incidencia en centros CAD ya que arrastraban infección del mes anterior y por lo tanto no hubo nuevos centros infectados. La incidencia mayor se evidenció en los centros en Alerta, los que de agosto a octubre no presentaron incidencia debido a que venían arrastrando la misma categoría de meses anteriores (gráfico 9).

De los centros que alcanzan la categoría Alerta, un 67% de ellos, en menos de un mes pasan de no declarar mortalidades atribuibles a piscirickettsiosis a declarar mortalidades sobre el 0,35% en una de sus jaulas.

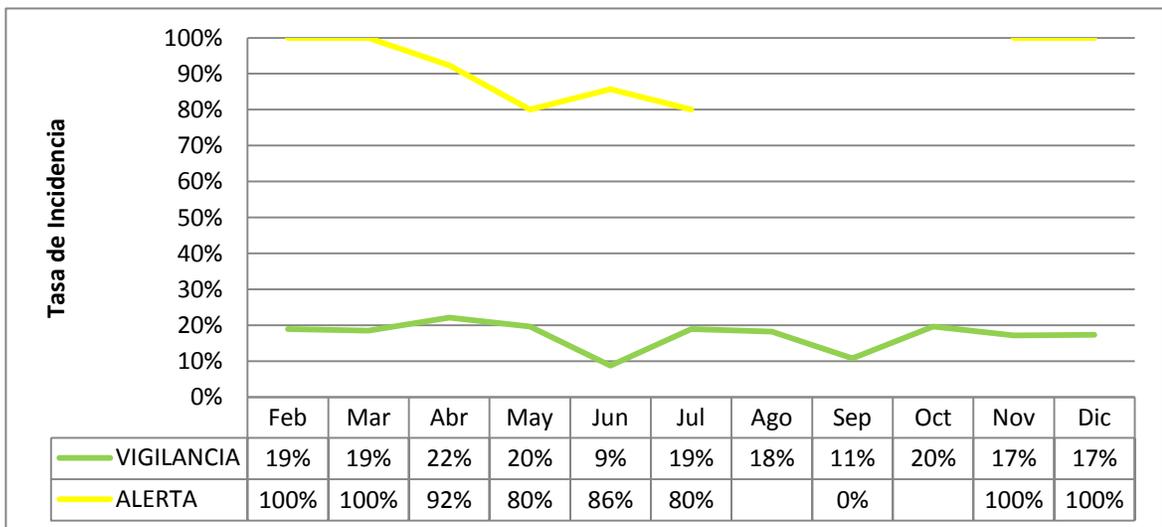


GRÁFICO 9: Tasa de incidencia mensual según categoría de riesgo

5.2.4. Nivel Etapa del ciclo productivo:

Se observó que a mayor Etapa del ciclo productivo, mayor mortalidad promedio, con 0,93, 0,25 y 0,06% de mortalidad en las Etapas 3, 2 y 1, respectivamente, siendo la tasa de mortalidad en la Etapa 3 significativamente mayor que las etapas 2 y 1 ($p < 0,05$).

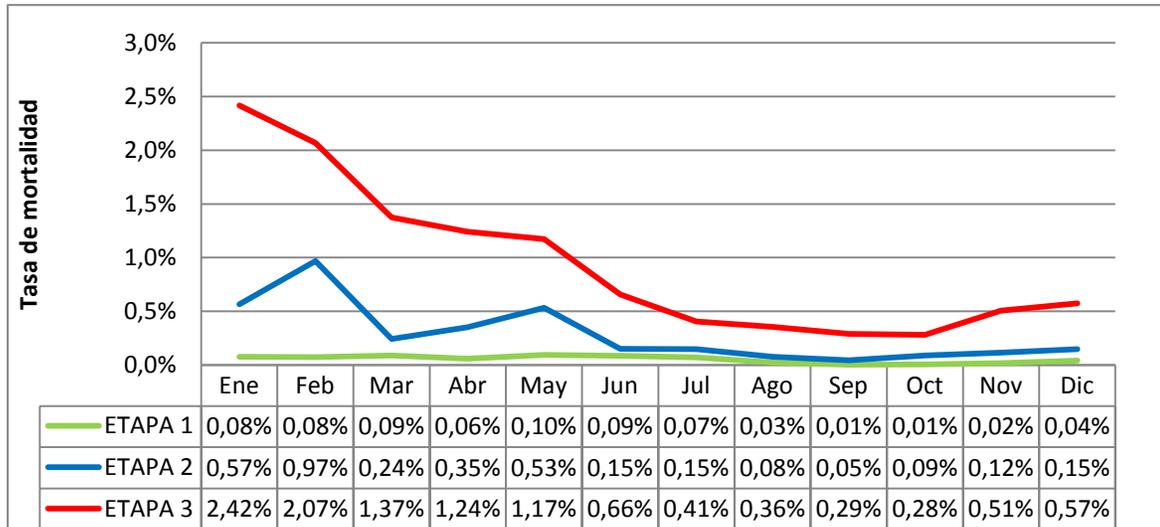


GRÁFICO 10: Tasa de mortalidad mensual según etapa del ciclo productivo

La prevalencia promedio fue mayor en la Etapa 3 (78%), seguido por la Etapa 2 (74%) y la Etapa 1 que presentó una prevalencia significativamente menor de la enfermedad (32%). Las prevalencias de las Etapas 2 y 3 presentaron curvas similares en el transcurso del año, mostrando mayor prevalencia ambas en el mes de agosto (gráfico 11).

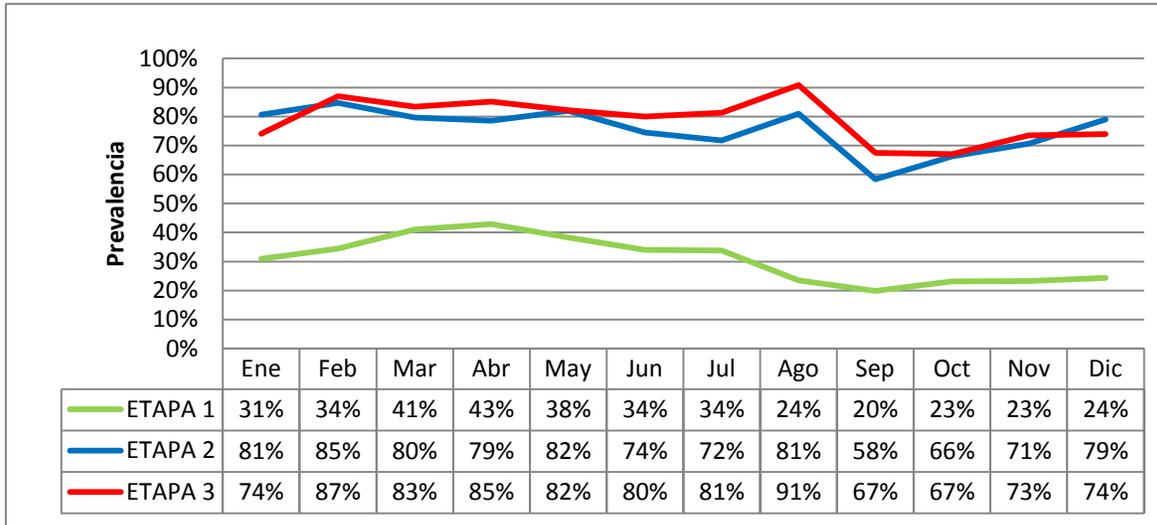


GRÁFICO 11: Tasa de prevalencia mensual según etapa del ciclo productivo

Se observó que el promedio de la tasa de incidencia fue significativamente mayor en la Etapa 2 (29%) que en la Etapa 3 (19%) y la Etapa 1 (16%) ($p < 0,05$). A partir del mes de mayo, la curva de la Etapa 1 se asemeja a la de la Etapa 2, teniendo la primera menos centros nuevos afectados (Gráfico 12).

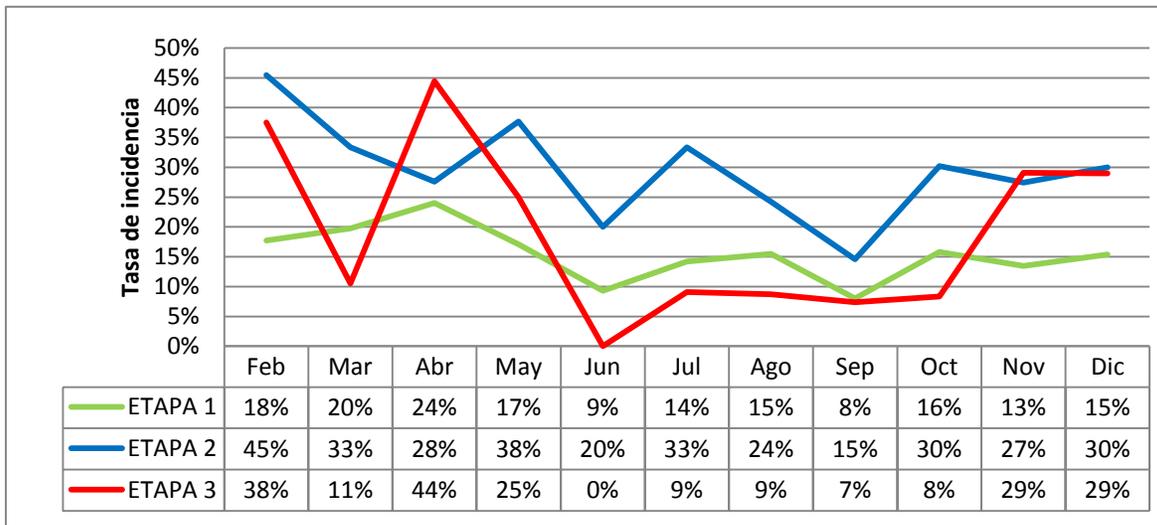


GRÁFICO 12: Tasa de incidencia mensual según etapa del ciclo productivo

5.3. Cuantificación y comparación de la duración de los brotes de piscirickettsiosis a nivel regional y especie.

De un total de 106 centros categorizados CAD durante el año 2013, un 56% cosechó durante el brote. Por este motivo, la duración del brote se estimó en el 44% de los centros restantes con la finalidad de que la estimación de la duración del brote no se viera subestimada por la cosecha. En la Región de los Lagos un 67% de los centros categorizados CAD correspondieron a centros cultivados con la especie *O. mykiss* y un 33% con la especie *S. salar*, a diferencia de la Región de Aysén, en donde esta proporción se invierte perteneciendo un 82% de los centros CAD a la especie *S. salar* y un 15% a la especie *O. mykiss*.

A nivel Nacional, la duración promedio de los brotes fue de 5,6 semanas. Se observó que en la Región de Los Lagos la duración de los brotes es significativamente mayor que en la Región de Aysén (tabla 6).

TABLA 6: Descripción de duración de los brotes (semanas) en la Región de Los Lagos y Aysén

Región	Promedio	Mínimo	Máximo	Desv. Est.	N° Centros
Los Lagos	8,0	1	19	4,3	15
Aysén	4,5	1	19	3,8	33

En cuanto a la duración de los brotes por especie, los centros cultivados con la especie *O. mykiss* presentaron una duración significativamente mayor (7,8 semanas,) seguido por *S. salar* y *O. kisutch* con 4,7 y 4,0 semanas respectivamente (tabla 7).

TABLA 7: Descripción de duración de los brotes (semanas) por especie

Región	Promedio	Mínimo	Máximo	Desv. Est.	N° Centros
<i>O. kisutch</i>	4,0	4	4	0,0	1
<i>S. salar</i>	4,7	1	15	3,0	34

Región	Promedio	Mínimo	Máximo	Desv. Est.	N° Centros
<i>O. mykiss</i>	7,8	1	19	4,3	15

5.4. Descripción de tratamientos utilizados por la Industria Salmonera para el control de piscirickettsiosis a nivel regional, especie, categoría de riesgo de los centros de cultivo y etapa del ciclo productivo

El principio activo más utilizado para el tratamiento de piscirickettsiosis fue el florfenicol (69%), seguido de la oxitetraciclina (30%). La especie que consumió mayor cantidad de antimicrobianos fue *S. salar* a pesar de mostrar menor tasa de tratamiento de centros infectados que las otras especies (gráfico 13 y 14).

La Región que presentó mayor tasa de tratamiento de centros infectados es la de Los Lagos (40%) seguida por Aysén (31%).

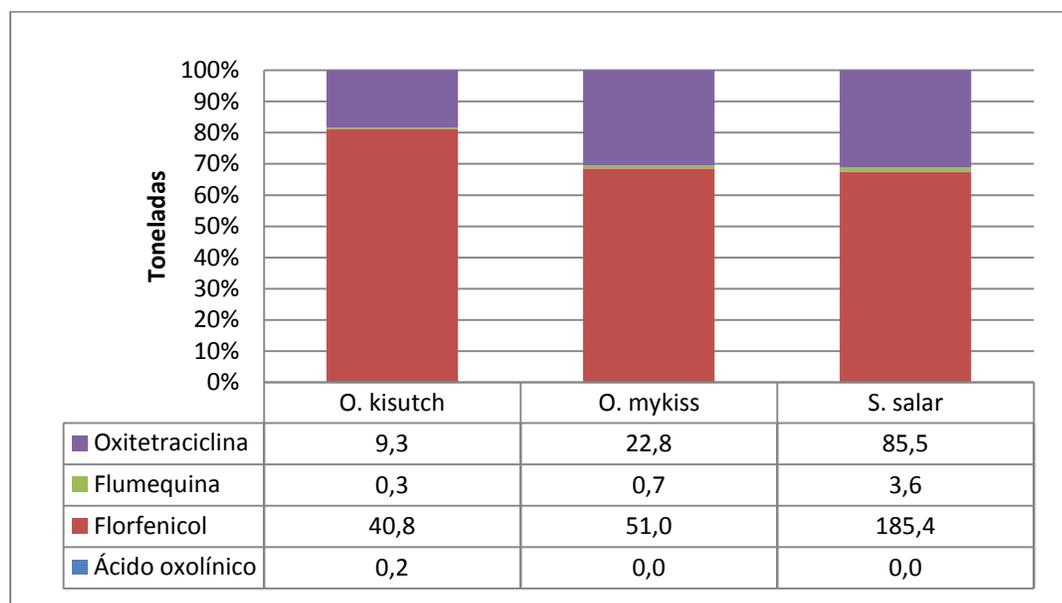


GRÁFICO 13: Toneladas de antimicrobiano utilizado para el tratamiento de piscirickettsiosis según principio activo y especie

La tasa de tratamiento de los centros *O. kisutch* (56%) fue significativamente mayor que la tasa de tratamiento de los centros *S. salar* (32%), siendo la tasa de tratamiento de los centros con *O. mykiss* de 39% (gráfico 14).

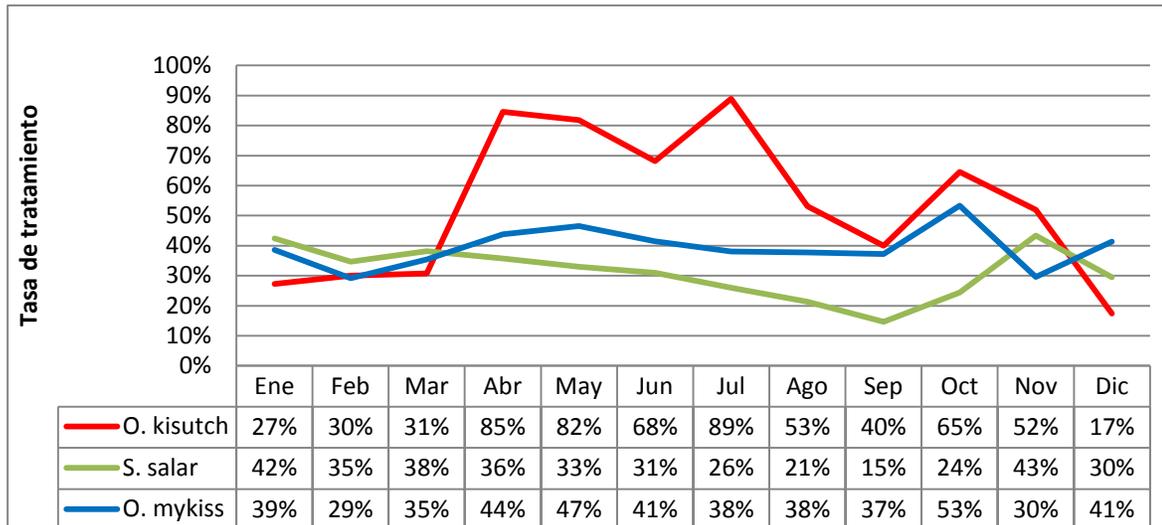


GRÁFICO 14: Tasa de tratamiento piscirickettsiosis en centros infectados según especie

Los centros con mayor tasa de tratamiento fueron los categorizados en Alerta (38%) seguidos por los centros en Vigilancia (36%), seguido por los centros CAD (29%) (gráfico 15).

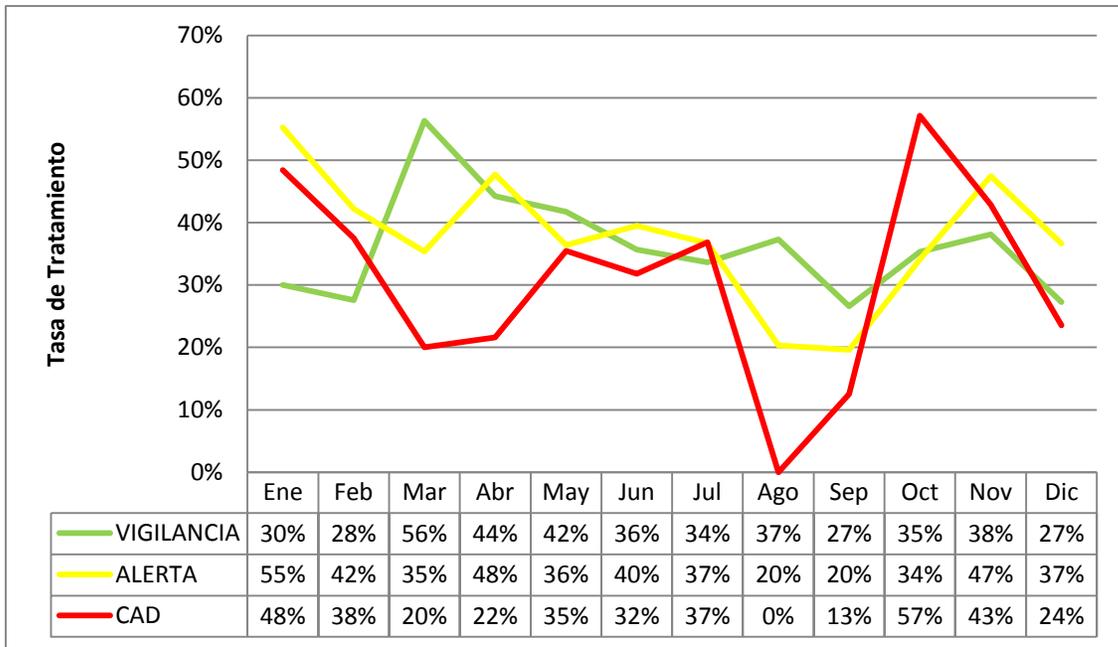


GRÁFICO 15: Tasa de tratamiento piscirickettsiosis en centros infectados según categoría de riesgo

En relación a las etapas, la Etapa 2 presentó mayor tasa de tratamiento (42%), seguida por la Etapa 1 (35%) y la Etapa 3 del ciclo productivo presentó significativamente menores tasas de tratamiento (25%) (gráfico 16).

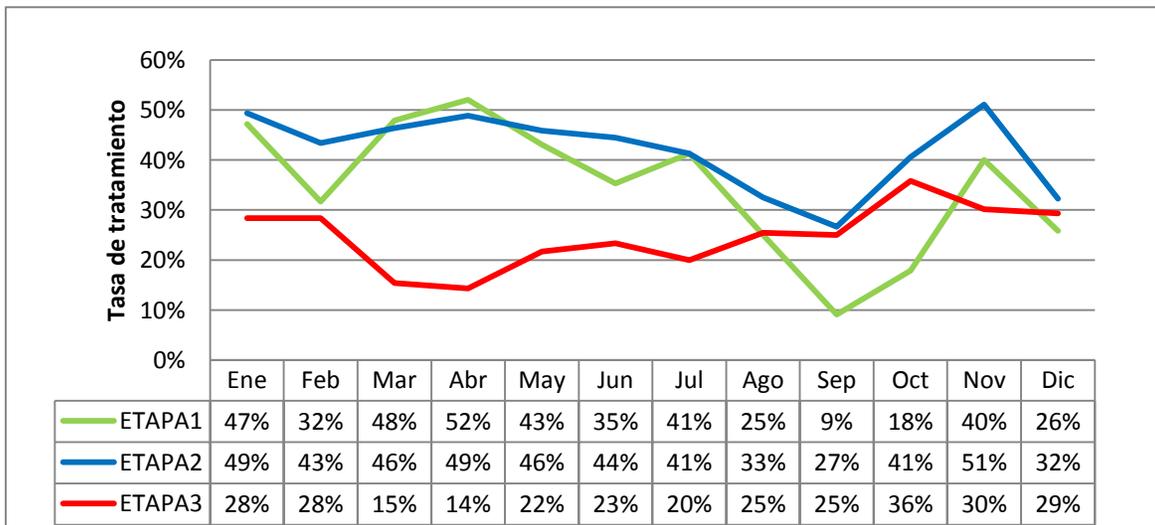


GRÁFICO 16: Tasa de tratamiento piscirickettsiosis en centros infectados según etapa del ciclo productivo

5.5. Comparación y descripción de la presentación de la enfermedad y de tratamientos por ciclo productivo en dos ACSs seleccionadas mediante muestreo por conveniencia, una de la Región de Los Lagos y otra de la Región de Aysén en centros cultivados con *S. salar*.

Se observa que para las ACS de ambas regiones, la aparición de las primeras mortalidades atribuibles ocurre entre las 10 (2,5 meses) y las 51 semanas (13 meses) posteriores a la siembra. Siendo en promedio, la ACS 21B de la Región de Aysén más tardía en la aparición de las primeras mortalidades que la ACS 2 de la Región de Los Lagos, 29 (7,2 meses) y 19 semanas (4,7 meses), respectivamente (tabla 8 y 9).

TABLA 8: Descripción de la presentación de la piscirickettsiosis y consumo de antimicrobianos por ciclo productivo en centros cultivados con *S. salar* en la ACS 2, Región de Los Lagos

	Promedio	Desv. Est.	Min	Max	N° casos	Pobl. Total
Tiempo entre siembra y mortalidad atribuible (semanas)	19	10	10	51	17	18
Tiempo entre siembra y categorización Alerta (semanas)	37	19	21	77	9	18
Tiempo entre mortalidad y categorización Alerta	19	19	1	57	9	18
Tiempo entre siembra y categorización CAD (semanas)	-----	-----	-----	-----	0	18
Tiempo entre categorización Alerta y categorización CAD (semanas)	-----	-----	-----	-----	0	18
Kg de Ab	2.267	1842	0	5,1	16	18
Consumo de Ab	0,157	0,61	0	2,6	16	18

Por otro lado, La ACS 2 de Los Lagos, muestra mayor utilización y tasa de consumo de antimicrobianos que la ACS 21B de Aysén. En cuanto a las mortalidades atribuibles, la ACS 2, presentó una mortalidad acumulada atribuible a piscirickettsiosis promedio por ciclo de 0,73%, y la ACS 21B de 1,18%.

TABLA 9: Descripción de la presentación de la piscirickettsiosis y consumo de antimicrobianos por ciclo productivo en centros cultivados con *S. salar* en la ACS 21B, Región de Aysén

	Promedio	Desv. Est.	Min	Max	N° casos	Pobl. Total
Tiempo entre siembra y mortalidad atribuible (semanas)	29	15	16	44	6	6
Tiempo entre siembra y categorización Alerta (semanas)	43	20	22	62	3	6
Tiempo entre mortalidad y categorización Alerta	7	9	1	18	3	6
Tiempo entre siembra y categorización CAD (semanas)	33	0	33	33	1	6
Tiempo entre categorización Alerta y categorización CAD (semanas)	11	0	11	11	1	6
Kg de Ab	1860	730	1134	2821	6	6
Consumo de Ab	0,019	0,013	0,009	0,043	6	6

Cabe destacar que no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la presentación de la piscirickettsiosis entre ambas ACSs.

6. DISCUSIÓN

Nivel regional

En relación a la presentación de la enfermedad en las regiones de Los Lagos y Aysén, la curva de mortalidad se ajustó a las temperaturas promedio semanales publicadas por Sernapesca (2013a). Ambas regiones presentaron elevadas mortalidades en verano, esto coincide con lo reportado por Sernapesca (2013a), quienes indicaron que durante el año 2013 fue mayor la proporción de centros CAD durante los meses estivales. En Los Lagos, mayores niveles de mortalidad fueron observados en los meses en que las temperaturas mensuales promedio fueron mayores (enero a abril y septiembre a diciembre) (Sernapesca, 2013a). Rees et al. (2014) y Jacob et al. (2014) observaron una correlación entre el aumento de la temperatura y la incidencia de la enfermedad.

A pesar de no ser significativas, se observaron mayores tasas de tratamiento en los centros infectados de la Región de Los Lagos, esto podría explicarse por problemas logísticos en la distribución de alimento medicado existente en algunas zonas de Aysén, lo que llevó al Servicio Nacional de Pesca a autorizar el stock de alimento medicado mediante el Ordinario N° 61466 del año 2015 y también podría influir la mayor duración de los brotes en Los Lagos estimada en éste análisis.

Nivel Especie

Centros de *O. mykiss* mostraron estacionalidad en la presentación de mortalidades (enero a febrero), mientras que en *S. salar* se observó estacionalidad en la infección de nuevos centros (febrero a mayo), lo que sugiere estacionalidad en la presentación de la enfermedad en ambas especies, esto coincide a lo descrito por Rees et al. (2014) quienes también observaron estacionalidad en *S. salar* y *O. mykiss*. Los centros de *O. kisutch*, no presentaron estacionalidad.

En relación a la duración de los brotes, la mayor duración en la Región de Los Lagos podría explicarse porque en esta Región un 67% de los centros CAD pertenecían a la especie *O. mykiss*, cuya duración de los brotes resultó ser significativamente mayor que en centros cultivados con *S. salar*, versus la Región de Aysén en la que el 82% de los

centros CAD mantenían la especie *S. salar*. Esto podría deberse a la diferencia en la distribución de las especies en ambas regiones durante el año 2013, que según indica Sernapesca (2013c), un 22% de la biomasa en cultivo perteneció a la especie *O. mykiss* en Los Lagos y un 12% en Aysén. Por otro lado, la Región de Los Lagos registró condiciones climáticas más favorables para la replicación de la bacteria el año 2013, con una temperatura de agua promedio de 11,6°C en comparación con Aysén que registró una temperatura de 10,9°C⁵.

La mayor duración de los brotes en los centros *O. mykiss* (7,8 versus 4,8 semanas en *S. salar*), podría explicarse por la mayor susceptibilidad de la especie (Larenas et al., 2006), al ser más aguda la presentación del cuadro en *O. mykiss* y más corta la duración del ciclo productivo en relación al ciclo de *S. salar*, el lapso para realizar una terapia oportuna se ve reducido.

A la luz de estos resultados, se hace necesario evaluar la pertinencia de que la duración de los brotes en el Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de Piscirickettsiosis, sea diferenciada por especie.

La mayor tasa de tratamientos observada en *O. mykiss* que en *S. salar* podría explicarse por la presentación aguda de la enfermedad en esta especie mientras que la menor tasa de tratamientos en centros *S. salar*, podría ser consecuencia de las menores tasas de mortalidad presentadas en esta especie. No obstante, se requieren estudios adicionales que demuestren esta hipótesis.

A nivel de especies se observaron diferencias en la presentación de la enfermedad, mostrando *S. salar* mayor prevalencia e incidencia pero significativamente menores tasas de mortalidad que las presentadas por los centros *O. mykiss*. Estos resultados coinciden con lo observado por Jacob et al. (2014) quienes determinaron una mayor susceptibilidad en *O. mykiss* a presentar brotes de la enfermedad.

La mayor incidencia y prevalencia en *S. salar* podría explicarse por la mayor permanencia en el agua en la Etapa 3, que en este estudio resultó ser la de mayor mortalidad y prevalencia. En este sentido, Rees et al. (2014) observaron que el riesgo de contraer piscirickettsiosis está asociado al tiempo de permanencia en el agua salada, mientras que la mayor letalidad en *O. mykiss* podría explicarse por los diferentes grados

5 Temperaturas promedio obtenidas de SIFA, Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

de virulencia que presentan las cepas de *P. salmonis* y *O. mykiss* podría ser más susceptible a ciertas cepas (Larenas et al., 2006). Por otro lado, Jacob et al. (2014) señalan *O. mykiss* al alimentarse, presenta un comportamiento agresivo que aumenta la tasa de contacto entre los individuos, además, observaron que a diferencia de *S. salar*, en *O. mykiss* la vacunación no logra disminuir las mortalidades. No obstante, tal como señala Rees et al. (2014), al no estar distribuidas las especies en forma aleatoria, no se puede descartar que las diferencias observadas se deban a factores ambientales.

Nivel categoría de riesgo

Este es el primer trabajo que describe la distribución de centros CAD en base a su etapa del ciclo productivo, considerando la duración del ciclo de los centros. Durante el periodo analizado, del total de centros categorizados CAD, un 69% fue categorizado durante la Etapa 3 y un 25% en la Etapa 2 del ciclo productivo. Este resultado es similar al obtenido por Sernapesca (2013a), quienes determinaron que un 63% de los centros se encontraba en T3 al momento de la categorización, un 26% en T2. No obstante, la determinación de las etapas T por Sernapesca, se basó exclusivamente en el peso promedio de los peces según la especie cultivada. Se observó que los centros CAD presentaron mortalidades atribuibles a piscirickettsiosis muy superiores (4,06%) a su categoría predecesora de Alerta (0,36%) y se pudo observar que un 72% de los centros categorizados Alerta durante la Etapa 2 de ciclo productivo evolucionaron positivamente, siendo re categorizados como centros en Vigilancia, a diferencia de los centros Alerta categorizados durante la Etapa 3, donde solo un 18% presentó una evolución favorable. Por otro lado, ningún centro categorizado como CAD durante la Etapa 2 continúa en la misma categoría en un lapso de 6 semanas siguientes a la categorización, a diferencia de los categorizados durante la Etapa 3, donde un 91% de los centros mantiene la categoría de CAD hasta la cosecha. Esta situación podría ocurrir por la confluencia de 2 variables importantes en el desarrollo y control de las enfermedades, la primera es el aumento de la biomasa en la Etapa 3 del ciclo, lo que aumenta la tasa de contacto efectivo entre peces infectados y susceptibles, la segunda es la baja tasa de tratamientos antimicrobianos durante la Etapa 3, explicada por los periodos de carencia de los antimicrobianos que son de al menos 2 meses,

dependiendo su extensión del principio activo y vía de administración utilizada (San Martín et al., 2015).

Destaca que prácticamente la mitad (44%) de los centros en Vigilancia presentaron la enfermedad sin llegar a desarrollar un brote, contribuyendo posiblemente estos centros en la mantención del agente en el medio ambiente. Por otro lado, de los centros que alcanzaron la categoría Alerta, un 67% de ellos, en menos de un mes pasan de no declarar mortalidades atribuibles a piscirickettsiosis a declarar mortalidades sobre el 0,35% en una de sus jaulas, lo que sugiere que la enfermedad se presenta de forma aguda en los centros categorizados en Alerta.

Nivel Etapa del ciclo productivo

En relación a la presentación de la enfermedad por etapa del ciclo productivo, se observa que a mayor etapa, mayor mortalidad promedio, con 0,93, 0,25 y 0,06% de mortalidad en las etapas 3, 2 y 1 respectivamente. Esto puede ser explicado por el mayor tiempo de exposición de los peces al agente, el aumento de las densidades de cultivo y los periodos de carencia que deben cumplir los centros previo a la cosecha. Se observó que el promedio de la tasa de incidencia fue mayor en la Etapa 2, esto podría explicarse porque en la Etapa 1 los peces tienen menos probabilidad de infectarse debido al periodo de descanso y a la duración de la inmunidad otorgada por las vacunas disponibles que de acuerdo a los resultados obtenidos por Jakob et al. (2014) en condiciones de campo, comienza a disminuir a partir de los 5 y 7 meses post siembra en *O. mykiss* y *S. salar* respectivamente y porque en la Etapa 3, al tener los peces mayor probabilidad de estar expuestos al agente, podrían presentar menor susceptibilidad a manifestar signos clínicos, de acuerdo a lo planteado por Larenas et al. (2003), quien señala que los peces que se infectan y no enferman, se vuelven portadores asintomáticos. Otro aspecto a considerar, son los resultados de este análisis que concluyen que en los centros cultivados con *S. salar*, el 100% de los centros que se infectaron lo hicieron antes de los 13 meses post siembra, lo que explicaría la baja incidencia en la Etapa 3 del ciclo productivo.

Uso de antimicrobianos

En cuanto al uso de antimicrobianos para el tratamiento de la piscirickettsiosis, el principio activo más utilizado fue el florfenicol, seguido de la oxitetraciclina, la preferencia del florfenicol por sobre la oxitetraciclina se explica por el menor tiempo de carencia, lo que permite utilizarlo más cercano a la cosecha (San Martín et al., 2015). Estos resultados coinciden con lo informado por Sernapesca (2013b) quienes señalan que el 69% de los antimicrobianos usados para el tratamiento de piscirickettsiosis en ese periodo correspondió a florfenicol y un 30% a oxitetraciclina.

Caracterización de la enfermedad y de los tratamientos por ciclo productivo en dos ACSs

Al analizar la presentación de la enfermedad considerando en el ciclo productivo completo de centros cultivados con la especie *S. salar*, se obtuvo como resultado que el 96% de los centros se infectaron en durante el ciclo y un 100% de ellos lo hizo antes de los 13 meses post siembra. Esta información es relevante, ya que es la primera aproximación de la prevalencia de la enfermedad por ciclo productivo.

Al describir y comparar la presentación de la enfermedad y el uso y consumo de antimicrobianos en centros *S. salar* entre ACS de ambas regiones, se observaron diferencias, aunque no significativas, tanto en el intervalo de presentación de las mortalidades desde la siembra, como en la primera clasificación como centro Alerta. Siendo la ACS 21B de Aysén, más tardía en la presentación de las primeras mortalidades y la primera clasificación de Alerta. Esto podría deberse en parte, a que la duración de la inmunidad que otorgan las vacunas depende de la temperatura del agua y considerando las temperaturas registradas por Sernapesca en ambas regiones para el año 2013, la duración de la inmunidad sería mayor en la Región de Aysén. Por otro lado, tanto el uso como el consumo de antimicrobianos fue mayor en la Región de Los Lagos, a pesar de presentar menor mortalidad acumulada atribuible a la enfermedad. Esto podría atribuirse a que en la ACS 21B, al presentarse mortalidades durante un periodo reducido de tiempo, el uso de antimicrobianos fuera más acotado que en la ACS 2. La aparición de las primeras mortalidades atribuibles ocurrieron al segundo mes post siembra, mientras que las categorizaciones de Alerta ocurrieron a partir del quinto

mes, en este sentido, Jakob et al. (2014), determinaron que el primer brote de piscirickettsiosis ocurre al segundo mes de que los peces fueron ingresados al agua salada. No obstante, la definición de brote utilizada por los investigadores fue más sensible, considerando mortalidades atribuibles a piscirickettsiosis iguales o mayores a 0,1% semanal.

El presente estudio es el primero que describe la presentación de la piscirickettsiosis incluyendo todos los centros de cultivo presentes en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, así como también la estimación de prevalencias a nivel de ciclo productivo, de este modo, los resultados obtenidos son un punto de partida para establecer hipótesis que permitan dilucidar la influencia de las diferentes variables en la presentación y severidad de la enfermedad. Las conclusiones de esta investigación se basan en el supuesto de que la información entregada por las empresas es fidedigna. Como limitación al estudio, cabe indicar que debido a que el periodo de estudio abarcó solo un año calendario, en gran parte de la descripción epidemiológica no estuvieron considerados los ciclos productivos. No obstante, se consideraron ciclos completos en todos los centros de cultivo de 2 ACS seleccionadas de Los Lagos y Aysén, entregando estos resultados una aproximación de lo que podría ocurrir a nivel Nacional.

7. CONCLUSIONES

- Se observó estacionalidad en la presentación de la enfermedad, observándose mayores mortalidades en verano en ambas regiones y en los centros cultivados con las especies *O. mykiss* y *S. salar*.
- En relación a las especies, pudo observarse mayor prevalencia e incidencia de la enfermedad en centros cultivados con *S. salar* y mayores tasas de mortalidad y duración de los brotes en centros cultivados con la especie *O. mykiss*. No está claro si la mayor duración de los brotes en *O. mykiss* se debió al factor especie, a la influencia ambiental o a ambas, ya que las especies no se encuentran distribuidas aleatoriamente y Los Lagos, Región con mayor proporción de centros compuestos por *O. mykiss*, resultó ser la Región con mayor duración de los brotes. Por lo tanto, se requieren estudios que permitan determinar la medida en que afecta la duración del brote ambas variables.
- En cuanto a la descripción de la presentación de la enfermedad por categoría de riesgo, un 69% de los centros CAD fueron categorizados en la Etapa 3 del ciclo y la evolución de los brotes en estos centros es menos favorable que la de los centros categorizados en las etapas 1 y 2 del ciclo productivo. Un 56% de los centros CAD, fueron cosechados mientras el brote estaba en curso.
- Se observó que a mayor tiempo de permanencia de los centros de cultivo en el agua, mayor fue la tasa de mortalidad. La prevalencia en las etapas 2 y 3 fue similar, siendo significativamente menor en la Etapa 1.
- Al analizar los centros cultivados con la especie *S. salar* por ciclo productivo, se observó que la aparición de las primeras mortalidades fue dentro del segundo mes después de la siembra y la aparición de la primera categorización de centros Alerta dentro del quinto mes.

8. REFERENCIAS

ALMENDRAS F., E. FUENTEALBA I., C. FREDERICK MARKHAM R., F. SPEARE D., J. 2000. Pathogenesis of liver lesions caused by experimental infection with *Piscirickettsia salmonis* in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Vet. Diagn. Invest. 12, 552-557.

BARNES A., C. HASTING T. AMYES S., G. 1995. Aquaculture antibacterials are antagonized by seawater cations. J. Fish Dis. 18, 436- 465.

BIRKBECK T., H. RENNIE S. HUNTER D. LAIDLER A. WADSWORTH S. 2004. Infectivity of a Scottish isolate of *Piscirickettsia salmonis* for Atlantic salmon *Salmo salar* and immune response of salmon to this agent. Dis. Aquat. Org. 60, 97-103.

CHILE. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Resolución Exenta 061: Programa sanitario específico de Vigilancia activa para enfermedades de alto riesgo en peces de cultivo, Enero 2003.

CHILE. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Resolución Exenta 064: Programa sanitario general de procedimientos de transporte, Enero 2003.

CHILE. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Resolución Exenta 1449: Medidas de manejo sanitario por área, Junio 2009.

CHILE. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Resolución Exenta 1468: Programa sanitario general de manejo de mortalidades y su sistema de clasificación estandarizado conforme a categorías preestablecidas, Junio 2012.

CHILE. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Resolución Exenta 3174: Programa sanitario específico de Vigilancia y control de piscirickettsiosis, Diciembre 2012.

CHILE. Subsecretaría de Pesca. Decreto Supremo 319: Reglamento de medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies hidrobiológicas, Agosto 2001.

BRAVO S. CAMPOS M. 1989. Coho salmon syndrome in Chile. Am. Fish. Soc. 17, 3.

CVITANICH J., D. GARATE N., O. SMITH C., E. 1990. Etiological agent in a Chilean coho disease isolated and confirmed by Koch's postulates. Am. Fish. Soc. 18, 1- 2.

CVITANICH J., D. GARATE N., O. SMITH C., E. 1991. The isolation of a rickettsia- like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulate. J. Fish Dis. 14, 121- 145.

DOHOO I., R. MARTIN S., W. SRTYHN H. 2009. Veterinary epidemiologic research. 2da Ed. Canadá, Ver Inc. 9 y 70p.

FAO. 2012. Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura. Roma.

FRYER J., L. LANNAN C., N. GARCÉS L., H. LARENAS J., J. SMITH P., A. 1990. Isolation of a rickettsiales- like organism from diseased coho salmon *Oncorhynchus kisutch* in Chile. *Fish Pathol.* 25, 107- 114.

FRYER J., L. LANNAN C., N. GIOVANNONI S. J. WOOD N., D. 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the causative agent of an epizootic disease in salmonid fishes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42, 120-126.

FRYER J., L. LANNAN C., N. 2005. Family II *Piscirickettsiaceae* fam.nov. En: GARRITY D. BRENNER D., J. KRIEG N.,R. y STALEY J., R. (Eds). Bergey's manual of systematic bacteriology. 2ª ed. Nueva York. Springer. Volumen 2.

FRYER J., L. HEDRICK R., P. 2003. *Piscirickettsia salmonis*: a Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *J. Fish Dis.* 26, 251-262.

GARCÉS L., H. LARENAS J., J. SMITH P., A. SANDINO S. LANNAN C., N. FRYER J., L. 1991. Infectivity of a rickettsia isolated from Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Dis. Aquat. Organ.* 11, 93-97.

HOUSE M., L. BARTHOLOMEW J., L. WINTON J., R. FRYER J., L. 1999. Relative virulence of three isolates of *Piscirickettsia salmonis* for coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Dis. Aquat. Organ.* 35, 107-113.

JACOB E. STRYHN H. YU J. MEDINA M., H. REES E., E. SANCHEZ J. ST-HILAIRE S. 2014. Epidemiology of Piscirickettsiosis on selected Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) saltwater aquaculture farms in Chile. *Aquacult.* 433: 288–294

LANNAN C., N. FRYER J., L. 1994. Extracellular survival of *Piscirickettsia salmonis*. *J. Fish Dis.* 17, 545- 548.

LARENAS J., J. CONTRERAS J. SMITH P. 1997. Efecto de la densidad poblacional y temperatura en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) inoculadas con *Piscirickettsia salmonis*. *Arch. Med. Vet.* 29, 113- 119.

LARENAS J., J. BARTHOLOMEW J. TRONCOSO O. FERNANDEZ S. LEDEZMA H. SANDOVAL N. VERA P. CONTRERAS J. SMITH P. 2003. Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and *in vitro* study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. *Dis. Aquat. Organ.* 56, 25-30.

LARENAS J. GALLEGUILLOS M. ADARMES H. RAMIREZ A., M. GATICA C. SMITH P., A. 2006. Virulence and electrophoretic profiles of the *Piscirickettsia salmonis* type strain IF-89 in different culture passage numbers. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 26: 247–252.

MARSHALL S., H. GÓMEZ F. RAMIREZ R. NILO L. HENRÍQUEZ V. 2012. Biofilm generation by *Piscirickettsia salmonis* under growth stress conditions: a putative in vivo survival/persistence strategy in marine environments. *Res. Microbiol.* 163, 557-66.

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

PENAGOS G. BARATO P. AREGUI C. 2012. Sistema inmune y vacunación de peces. *Acta Biol. Colomb.* 14, 3-24.

REES E. IBARRA R. MEDINA M. SANCHEZ J. JACOB E. 2014. Transmission of *Piscirickettsia salmonis* among salt water salmonid farms in Chile. *Aquacult.* 428-429: 189-194.

SAG. 2015. Sistema Medicamentos Veterinarios (en línea) <http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos_1.asp> (Consulta: 26 Julio 2015).

SANDOVAL R. OLIVER C. VALDIVIA S. VALENZUELA K. HARO R. SÁNCHEZ P. OLAVARRÍA P. VALENZUELA P. AVENDAÑO- HERRERA R. ROMERO A. CÁRCAMO J. FIGUEROA J. YÁÑEZ A. 2016. Resistance-nodulation-division efflux pump *acrAB* is modulated by florfenicol and contributes to drug resistance in the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 363.

SAN MARTÍN B. GALLARDO A. LARA M. MEDINA P. 2015. Manual de buenas prácticas en el uso de antimicrobianos y antiparasitarios en salmonicultura chilena. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

SERNAPESCA. 2011. Anuario 2011, Subsector Acuicultura. Chile.

SERNAPESCA. 2013a. Informe sanitario salmonicultura centros marinos. Chile.

SERNAPESCA. 2013b. Informe sobre uso de antimicrobianos en la salmonicultura Nacional. Chile.

SERNAPESCA.s.a.a. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis, (en línea) <http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=531&Itemid=632> (Consulta: 18 Diciembre 2013).

SERNAPESCA. s.a.b. Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) (en línea) <http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=588&Itemid=695> (Consulta: 18 Diciembre 2013).

SMITH P., A. CONTRERAS J. GARCÉS L., H. LARENAS J. OYANEDEL S. CASWELL-RENO P. FRYER J., L. 1996. Experimental challenge of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with *Piscirickettsia salmonis*. J. Aquat. Anim. Health. 8, 130-134.

SMITH P., A. PIZARRO P. OJEDA P. CONTRERAS J. OYANEDEL S. LARENAS J. 1999. Routes of entry of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Dis. Aquat. Organ. 37, 165-172.

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

WAYNE D. 2002. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. 3a Ed. México. Editorial Limusa. Capitulo N° 8 y 13.