

Análisis epidemiológico del programa de vigilancia activa de *Piscirickettsia salmonis* del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile

Este artículo (n.º 23042019-00145-ES) ha sido revisado por expertos, aceptado y sometido a una revisión lingüística aprobada por los autores. Todavía no se ha finalizado el diseño para la impresión. Será publicado en diciembre de 2019, en el volumen 38 (3) de la *Revista científica y técnica*.

A. Gaete-Carrasco ⁽¹⁾, C. Rosenfeld ^{(2)*} & A. Gallardo ⁽¹⁾

(1) Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Departamento Salud Animal, Victoria n.º 2832, Valparaíso, Chile

(2) Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Tejas S/N, Valdivia, Chile

*Autora encargada de la correspondencia: crosenfe@uach.cl

Resumen

Piscirickettsia salmonis es el agente causal de la piscirickettsiosis, enfermedad que causa importantes pérdidas económicas en los centros marinos de cultivos de salmónidos de Chile. Este estudio tuvo como objetivo describir y determinar la distribución geográfica, la estacionalidad y momento de la primera detección de *P. salmonis* en los centros de cultivo estudiados en el programa de vigilancia activa de la piscirickettsiosis del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) de Chile, que se llevó a cabo durante el periodo comprendido entre enero de 2013 y marzo de 2017. Se determinó una prevalencia de piscirickettsiosis del 0,28% en peces de agua dulce y del 58,1% en centros marinos. En la región de Aysén, la prevalencia de *P. salmonis* fue del 61,1%, en Los Lagos, del 59,8%, en Los Ríos, del 5,1%, y en Magallanes, del 3,0%. En Los Lagos y Aysén se identificaron ocho conglomerados, en el espacio y en el tiempo, de centros marinos con diagnóstico positivo del agente, en cambio, en Magallanes no se detectó, lo cual confirma la inexistencia de

transmisión horizontal y de diseminación del agente en esta área geográfica. Se observó una variación estacional en la prevalencia mensual de *P. salmonis*, en la cual se comprueba un alza en verano y otoño en el caso de *Salmo salar* y *Oncorhynchus mykiss*, y en invierno, primavera y verano en el caso de *O. kisutch*. Se determinó que la media de tiempo necesario para la detección del agente desde la transferencia de los peces al mar era de 105 días (mínimo 7 y máximo 351 días), y no se observaron diferencias ni entre regiones ni entre especies. Los resultados contribuyen a conocer la epidemiología del agente a través de un programa de vigilancia activa.

Palabras clave

Chile – Diagnóstico – *Piscirickettsia salmonis* – Piscirickettsiosis – Programa de vigilancia activa – Sernapesca.

Introducción

La piscirickettsiosis (SRS, septicemia rickettsial del salmón) es uno de los principales problemas sanitarios de la salmonicultura marina de Chile, puesto que genera altas mortalidades y costos económicos derivados de su prevención y control en las principales especies de salmónidos cultivadas (1, 2). *Piscirickettsia salmonis*, agente causal de la enfermedad, es una gammaproteobacteria intracelular facultativa, predominantemente de forma cocoide, no encapsulada, muy exigente y que mide aproximadamente 0,2–1,5 µm de diámetro (3). En el análisis *in silico* del pangenoma de *P. salmonis* se identifican dos genogrupos, cuyas respectivas cepas de referencia son EM90 y LF89 (2). Se ha aislado *P. salmonis* en Australia, la Columbia Británica (BC), Canadá, Escocia, Irlanda y Noruega (4, 5); sin embargo, en Chile es donde la enfermedad ejerce el mayor impacto sanitario y económico. En Chile, se ha diagnosticado la enfermedad en las principales especies de salmónidos cultivadas, en salmónidos silvestres y en peces silvestres no salmónidos (1, 6). La principal vía de transmisión del agente es horizontal, mientras que la vertical se ha confirmado sólo *in vitro*, en concreto en *Oncorhynchus mykiss* (7, 8). Aunque en los salmónidos la SRS se puede diagnosticar de forma preliminar a partir de los signos macroscópicos externos e internos (1, 9), se han desarrollado y

perfeccionado varias técnicas moleculares, medios de cultivo sólidos y líquidos y pruebas serológicas, como las basadas en inmunofluorescencia, para el diagnóstico confirmativo de *P. salmonis* (10).

Desde diciembre de 2012, Chile cuenta con el Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Piscirickettsiosis (PSVCSRS), orientado a la detección temprana, el seguimiento de casos y la aplicación de medidas de control oportunas y graduales (11), todo lo cual permite una vigilancia activa de la enfermedad; la finalidad es recopilar sistemáticamente información que represente correctamente la situación de la enfermedad en una población de tamaño conocido mediante el acceso al cálculo de tasas y prevalencias (12). Este trabajo tuvo como objetivo describir y determinar la distribución geográfica, la temporalidad y el momento de la primera detección de *P. salmonis* en los centros de cultivo del PSVCSRS del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) de Chile.

Materiales y métodos

Programa de vigilancia activa

Para este estudio, se utilizaron las bases de datos del PSVCSRS (11) y del Programa Sanitario General de Manejo de Mortalidades (PSGM) y su sistema de clasificación (13), almacenadas en el Sistema de Información para la Fiscalización de la Acuicultura (SIFA) del Sernapesca. El PSVCSRS exige una vigilancia activa del agente en los centros de cultivo a través de muestreos dirigidos de peces y análisis en laboratorios estandarizados, con una frecuencia establecida. En los centros de agua dulce, el muestreo se ejecuta no antes de los 30 días previos al traslado de los peces a los centros marinos. En los centros marinos, se realiza el primer muestreo una vez cumplido el plazo de 30 días a partir del término de la transferencia al mar y posteriormente se lleva a cabo cada dos meses hasta el término del ciclo productivo, excepto en los centros emplazados en Magallanes, donde se lleva a cabo cada cuatro meses. Los muestreos se realizan con un tamaño muestral mínimo de 15 peces (criterio del Sernapesca) y la técnica de diagnóstico es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), conforme a lo

establecido en las normas técnicas LABD/NT 1 (14) y LABD/NT 2 (15) del Sernapesca. Además, todos los resultados de los centros de cultivo que utilizan tamaños de muestra, frecuencias de muestreo y técnicas de diagnóstico (cultivo bacteriológico o inmunofluorescencia) distintos de lo establecido deben ser comunicados al Servicio y se tienen en cuenta en la vigilancia activa del programa. Los laboratorios de diagnóstico notifican semanalmente al SIFA los resultados de los análisis (11). De la base de datos del PSGM, se obtuvo el peso promedio de los peces señalados en los resultados descriptivos generales de agua dulce, de los centros marinos de Magallanes con diagnóstico de *P. salmonis* y en el detalle de conglomerado de los centros marinos con diagnóstico del agente. Para el manejo de datos y el análisis estadístico, se utilizó R (versión 3.3.3, www.r-project.org).

Área de estudio y distribución de los centros de cultivo

Chile tiene un promedio mensual de 311 centros marinos activos, en los cuales se realiza engorde de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (en un 71% de los centros), trucha arcoíris (*O. mykiss*) (en un 11% de los centros) y salmón Coho (*O. kisutch*) (en un 18% de los centros); estos centros marinos abarcan desde la región de Los Ríos hasta Magallanes. Las regiones con centros marinos se subdividen en Agrupaciones de Concesiones de Salmónidos (ACS); Los Lagos cuenta con 22, Aysén, con 37, y Magallanes, con 12, mientras que Los Ríos no dispone de ninguna ACS. Cada ACS tiene un período de 24 semanas productivas y tres semanas de descanso sanitario (16). En agua dulce, hay un promedio anual de 180 centros activos, que abarcan desde la región Metropolitana hasta Magallanes, siendo las principales áreas de cultivo la Araucanía y Los Lagos.

Definición de caso

Para el análisis descriptivo general, se definió como caso el informe que incluyera al menos un diagnóstico de *P. salmonis* mediante PCR, la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) o un cultivo bacteriológico a partir de una muestra proveniente de un centro productivo que cultivara una de las tres principales especies de salmónidos. Se exceptuaron del análisis todos los informes sin código

de centro, fecha de muestreo, número de peces analizados, presencia de actividad experimental, presencia de especies no salmónidas o uso de muestras de laboratorio no de referencia (como el sedimento). Para el análisis descriptivo general correspondiente a la producción en agua dulce y en la región de Magallanes, se examinaron los informes que incluían un diagnóstico positivo, con el fin de conocer el número de peces con y sin infección.

Para el análisis espacial, se definió como caso todo centro marino con al menos un informe de laboratorio mensual (tomando la fecha de muestreo como referencia) que incluyera detección de *P. salmonis* y en el que se cultivara una de las tres principales especies; las regiones analizadas fueron Los Lagos, Aysén y Magallanes, desde enero de 2013 a marzo de 2017. La población de riesgo fue la correspondiente a los centros marinos activos con diagnóstico negativo de *P. salmonis* y que cultivaran una de las tres principales especies; las regiones y el periodo analizados fueron los señalados.

Análisis descriptivo general

Se realizó un análisis exploratorio y descriptivo de los informes de laboratorio reportados al SIFA en el marco del PSVCSRS correspondientes al periodo comprendido entre enero de 2013 y marzo de 2017. Las variables analizadas en cada uno de los informes fueron las siguientes: el origen del agua (marina o dulce), el área geopolítica (región) y la especie (*S. salar*, *O. mykiss* o *O. kisutch*).

Análisis espacial

Se aplicó un test de escaneo espacial con el objeto de examinar la distribución aleatoria de los casos en el espacio y en el tiempo (17) y de realizar un análisis temporo-espacial de Poisson para comparar la tasa de incidencia mensual de los casos dentro de una ventana espacio-temporal en comparación con la de los centros en riesgo situados fuera de la ventana (18). En cuanto al espacio, la ventana se movió sobre las regiones de estudio y osciló, en cuanto al tamaño, entre los 0 y los 10 km de radio, de acuerdo con Rees y col. (19), quienes señalaron que esta distancia es de riesgo para la aparición de SRS procedente de un

centro vecino que tenga la enfermedad; en cuanto a la duración de los brotes de la enfermedad, establecida por Jakob y col. (20), se fijó una ventana temporal máxima de cuatro meses. Se decidió que la ventana comenzara en enero del año 2013 (inicio del PSVCSRS), en un conglomerado temporal mensual, teniendo en cuenta que la enfermedad presenta una incidencia alta en la población, y se buscaron áreas con tasas de incidencia altas. Las coordenadas geográficas (latitud/longitud) de cada centro estudiado se obtuvieron en el Registro Nacional de Acuicultura del Sernapesca. Se realizaron réplicas de Monte Carlo ($n = 999$) para determinar la distribución del estadístico de prueba, la de la razón de verosimilitud y el valor p asociado (17). Todos los análisis fueron llevados a cabo mediante SaTScan (versión 7.0.1, www.satscan.org) con un nivel de significación de $p < 0,05$. Para visualizar los resultados, se utilizó QGIS (versión 2.14.8, www.qgis.org).

Análisis de serie temporal

Se realizó un análisis descriptivo y de descomposición de la serie de prevalencia mensual en los centros marinos con diagnóstico de *P. salmonis*, por especie y por región. La serie representa el número de centros que constituyeron casos para el análisis espacial en Los Lagos y Aysén desde enero de 2013 a marzo de 2017 dividido por el número total de centros marinos que efectuaron análisis mensuales de *P. salmonis* en estas regiones en el mismo período en el marco de PSVCSRS, lo cual da lugar a un porcentaje. Para describir y obtener el índice de estacionalidad, se utilizaron las funciones *ts* y *decompose* de R.

Análisis de la supervivencia

El tiempo de supervivencia se definió como el intervalo de días desde la fecha de transferencia de los peces al mar hasta la fecha de muestreo con diagnóstico de *P. salmonis* dentro de un mismo ciclo productivo de un centro marino. Para este análisis, utilizamos la definición de caso aplicada al análisis descriptivo general realizado para Los Lagos y Aysén desde julio de 2014 a marzo de 2017. En este análisis, se incluyeron los centros que transfirieron peces vacunados, que no

detectaron el agente en agua dulce, que no trataron con antibiótico durante el período de evaluación y que tenían como objetivo productivo el engorde (no la esmoltificación ni la reproducción). El tiempo medio de supervivencia se determinó mediante la curva de Kaplan-Meier y el test de log-rank, con el fin de comprobar diferencias entre regiones y especies. Todos los análisis estadísticos se realizaron en R utilizando las funciones *surfit* y *survdifff*, con un nivel de significación de $p < 0,05$.

Resultados

Análisis descriptivo

Se analizaron 13 440 informes, 1 894 (14,1%) de los cuales corresponden a centros de agua dulce y 11 546 (85,9%) a centros de agua de mar.

En un 0,28% ($n = 90$) del total de peces muestreados en agua dulce ($n = 32 293$) se detectó *P. salmonis*. En un 1,2% ($n = 22$) del total de informes de centros de agua dulce, el diagnóstico del agente se realizó mediante la técnica PCR, y se obtuvo al menos un informe con diagnóstico positivo por año (excepto el 2014); el conjunto de estos informes con diagnóstico positivo provino de diez piscifactorías localizadas en cuatro regiones (Biobío, Los Ríos, Los Lagos y Aysén). Las fuentes de abastecimiento de agua de las piscifactorías fueron de agua mixta (mezcla de agua dulce con marina) en un 68% de los centros y sólo agua dulce (incluye: ríos, vertientes, arroyos y lagos) en un 32%. Se detectó el agente en todas las especies (*S. salar*, *O. mykiss* y *O. kisutch*) de cultivo. La mediana de los pesos promedio en el momento del diagnóstico fue de 153 g (Cuadro I).

Cuadro I**Descripción de informes de piscifactorías con diagnóstico de *P. salmonis*. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)**

| N° Info. | Centro | Lab. (a) | Fecha muestreo | Fuente de agua | Región | Especie | Peso (g) (b) | Muestra (c) | Técnica (d) | Total peces (e) | Peces (+) (f) |
|----------|--------|----------|----------------|----------------|-----------|-------------------|--------------|-------------|-------------|-----------------|---------------|
| 1 | B | 3 | 23-01-2013 | Lago | Los Lagos | <i>O. kisutch</i> | 73,5 | Órgano | PCR | 15 | 15 |
| 2 | H | 2 | 19-02-2013 | Vertiente | Aysén | <i>O. kisutch</i> | 6.500 (h) | Órgano | PCR | 2 | 2 |
| 3 | D | 3 | 29-04-2013 | Arroyo | Los Ríos | <i>O. mykiss</i> | 30,5 | Órgano | PCR | 15 | 15 |
| 4 | F | 1 | 13-08-2015 | Mixta (g) | Los Lagos | <i>S. salar</i> | 69,6 | Órgano | PCR | 5 | 1 |
| 5 | G | 1 | 28-09-2015 | Mixta (g) | Los Lagos | <i>S. salar</i> | 422,6 | Órgano | PCR | 15 | 3 |
| 6 | I | 5 | 30-10-2015 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 75,2 | Órgano | PCR | 13 | 3 |
| 7 | I | 5 | 03-11-2015 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 82,4 | Órgano | PCR | 26 | 1 |
| 8 | I | 5 | 11-11-2015 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 72,1 | Órgano | PCR | 10 | 2 |
| 9 | G | 1 | 16-11-2015 | Mixta (g) | Los Lagos | <i>S. salar</i> | 334,2 | Órgano | PCR | 3 | 1 |
| 10 | G | 1 | 02-03-2016 | Mixta (g) | Los Lagos | <i>S. salar</i> | 417 | Órgano | PCR | 8 | 8 |
| 11 | I | 5 | 10-06-2016 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 94,9 | Órgano | PCR | 20 | 1 |
| 12 | I | 5 | 11-07-2016 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 89,4 | Órgano | PCR | 14 | 1 |
| 13 | I | 5 | 14-07-2016 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 89,4 | Órgano | PCR | 12 | 5 |
| 14 | I | 5 | 21-07-2016 | Mixta (g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 97,8 | Órgano | PCR | 51 | 2 |

| | | | | | | | | | | | |
|----|---|---|------------|----------------------|-----------|------------------|-------|--------|-----|----|---|
| 15 | I | 5 | 29-07-2016 | Mixta ^(g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 92 | Órgano | PCR | 18 | 1 |
| 16 | I | 5 | 05-08-2016 | Mixta ^(g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 88,8 | Órgano | PCR | 7 | 1 |
| 17 | I | 5 | 14-09-2016 | Mixta ^(g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 110,5 | Órgano | PCR | 21 | 5 |
| 18 | J | 5 | 22-09-2016 | Río | Los Ríos | <i>S. salar</i> | S/I | Órgano | PCR | 33 | 4 |
| 19 | I | 5 | 08-10-2016 | Mixta ^(g) | Aysén | <i>S. salar</i> | 125,5 | Órgano | PCR | 10 | 1 |
| 20 | E | 4 | 10-11-2016 | Río | Los Lagos | <i>O. mykiss</i> | 136 | Órgano | PCR | 15 | 6 |
| 21 | A | 4 | 16-11-2016 | Río | Biobío | <i>O. mykiss</i> | 136 | Órgano | PCR | 15 | 6 |
| 22 | C | 4 | 30-01-2017 | Río | Los Lagos | <i>S. salar</i> | 169 | Órgano | PCR | 15 | 6 |

- a) Laboratorio de diagnóstico
b) Peso promedio de los peces
c) Incluye muestras de cerebro, hígado y/o riñón
d) Incluye técnicas desarrolladas por el propio laboratorio o publicadas
e) Total de peces muestreados
f) Número de peces con diagnóstico positivo
g) Mezcla de agua dulce y marina en el abastecimiento
h) Muestra de reproductor

O. mykiss: *Oncorhynchus mykiss*

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

S. salar: *Salmo salar* L

S/I: Sin información

De entre el total de informes marinos ($n = 11\ 546$), *P. salmonis* se detectó en el 62,1% de los informes correspondientes a salmón *S. salar*, en el 53,4% de los correspondientes al salmón *O. kisutch* y en el 40,6% de los correspondientes a la trucha *O. mykiss*. El estudio por regiones indicó un 5,1% de diagnósticos positivos para SRS en la región de Los Ríos, un 59,8% en Los Lagos, un 61,1% en Aysén y un 3,0% en Magallanes (Cuadro II).

Cuadro II

**Número de informes de centros marinos por región y especie.
Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la
piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)**

| Región | Diagnóstico positivo (+) | Total | Porcentaje (+) |
|------------|--------------------------|-------|----------------|
| Los Ríos | 6 | 118 | 5,1 |
| Los Lagos | 3 366 | 5 625 | 59,8 |
| Aysén | 3 326 | 5 441 | 61,1 |
| Magallanes | 11 | 362 | 3,0 |

| Especie | Diagnóstico positivo (+) | Total | Porcentaje (+) |
|-------------------|--------------------------|---------------|----------------|
| <i>S. salar</i> | 5 268 | 8 484 | 62,1 |
| <i>O. kisutch</i> | 616 | 1 518 | 40,6 |
| <i>O. mykiss</i> | 825 | 1 544 | 53,4 |
| Total | 6 709 | 11 546 | 58,1 |

O. kisutch: *Oncorhynchus kisutch*

O. mykiss: *Oncorhynchus mykiss*

S. salar: *Salmo salar*

En el 2,3% ($n = 120$) de los peces muestreados en Magallanes ($n = 5\ 207$) se detectó *P. salmonis*. Todos los informes de Magallanes con diagnóstico positivo para SRS correspondieron a los años 2013 y 2014 y a seis centros de cultivo, y se detectaron mediante PCR en

muestras de órganos en tres laboratorios. El 88,9% de los informes positivos para SRS correspondieron a salmón *S. salar* y el 11,1% a la trucha *O. mykiss*, y el peso promedio de los peces en el momento del diagnóstico fue de 1 948 g (Cuadro III).

Cuadro III

Centros marinos de Magallanes con diagnóstico positivo de *P. salmonis*. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)

| Centro | Mes | Año | Lab. (a) | Especie | Peso (g) (b) | Muestra (c) | Técnica (d) | Peces (+) (e) |
|--------|-----------|------|----------|------------------|--------------|-------------|-------------|---------------|
| 5 | Marzo | 2013 | 1 | <i>S. salar</i> | 557 | Órganos | PCR | 72 |
| 5 | Mayo | 2013 | 1 | <i>S. salar</i> | 835 | Órganos | PCR | 15 |
| 2 | Mayo | 2013 | 2 | <i>S. salar</i> | 548 | Órganos | PCR | 8 |
| 1 | Junio | 2013 | 1 | <i>O. mykiss</i> | 310 | Órganos | PCR | 6 |
| 6 | Junio | 2013 | 2 | <i>S. salar</i> | 1 948 | Órganos | PCR | 5 |
| 6 | Julio | 2013 | 2 | <i>S. salar</i> | 3 945 | Órganos | PCR | 2 |
| 5 | Junio | 2014 | 1 | <i>S. salar</i> | 5 329 | Órganos | PCR | 3 |
| 3 | Junio | 2014 | 1 | <i>S. salar</i> | 5 958 | Órganos | PCR | 3 |
| 4 | Noviembre | 2014 | 3 | <i>S. salar</i> | 2 569 | Órganos | PCR | 6 |

a) Laboratorio de diagnóstico

b) Peso promedio de los peces

c) Incluye muestras de cerebro, hígado y/o riñón

d) Incluye técnicas desarrolladas por el propio laboratorio o publicadas

e) Número de peces con diagnóstico positivo

O. mykiss: *Oncorhynchus mykiss*

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

S. salar: *Salmo salar*

Análisis espacial

Hubo casos en todas las ACS activas de las regiones de Los Lagos y Aysén; sin embargo, el 54,5% de las ACS activas se hallaban en Magallanes. El modelo espacio-temporal de Poisson identificó ocho conglomerados de centros con riesgo de presentar *P. salmonis*, cinco en Los Lagos y tres en Aysén (Fig. 1). En Magallanes, no se detectaron conglomerados significativos ($p > 0,05$) ni en el espacio ni en el tiempo

(Fig. 2). De los dos conglomerados primarios (conglomerado más probable jerárquicamente), el primero (C1) se produjo en el periodo comprendido entre octubre de 2015 y enero de 2016, se propagó a partir de un único centro infectado (con centroide en $42^{\circ}33'50.4''\text{S}$, $73^{\circ}29'42.0''\text{W}$) y acabó abarcando un radio de 9,56 km, de tal forma que involucró a doce centros de cultivo de *S. salar* y *O. kisutch* pertenecientes a las ACS 9A y 10, con unos pesos promedio, al principio del periodo y por ACS, de 389 g y 3 116 g, respectivamente. El segundo conglomerado (C6) se produjo en el periodo comprendido entre abril y junio de 2013, se propagó a partir de un único centro infectado (con centroide en $45^{\circ}27'14.4''\text{S}$, $73^{\circ}48'25.2''\text{W}$) y acabó abarcando un radio de 6,81 km, de tal forma que involucró siete centros de cultivo de *S. salar* pertenecientes a las ACS 22D y 24, con unos pesos promedio, al principio del periodo y por cada ACS, de 658 g y 3 681 g, respectivamente (Cuadro IV).

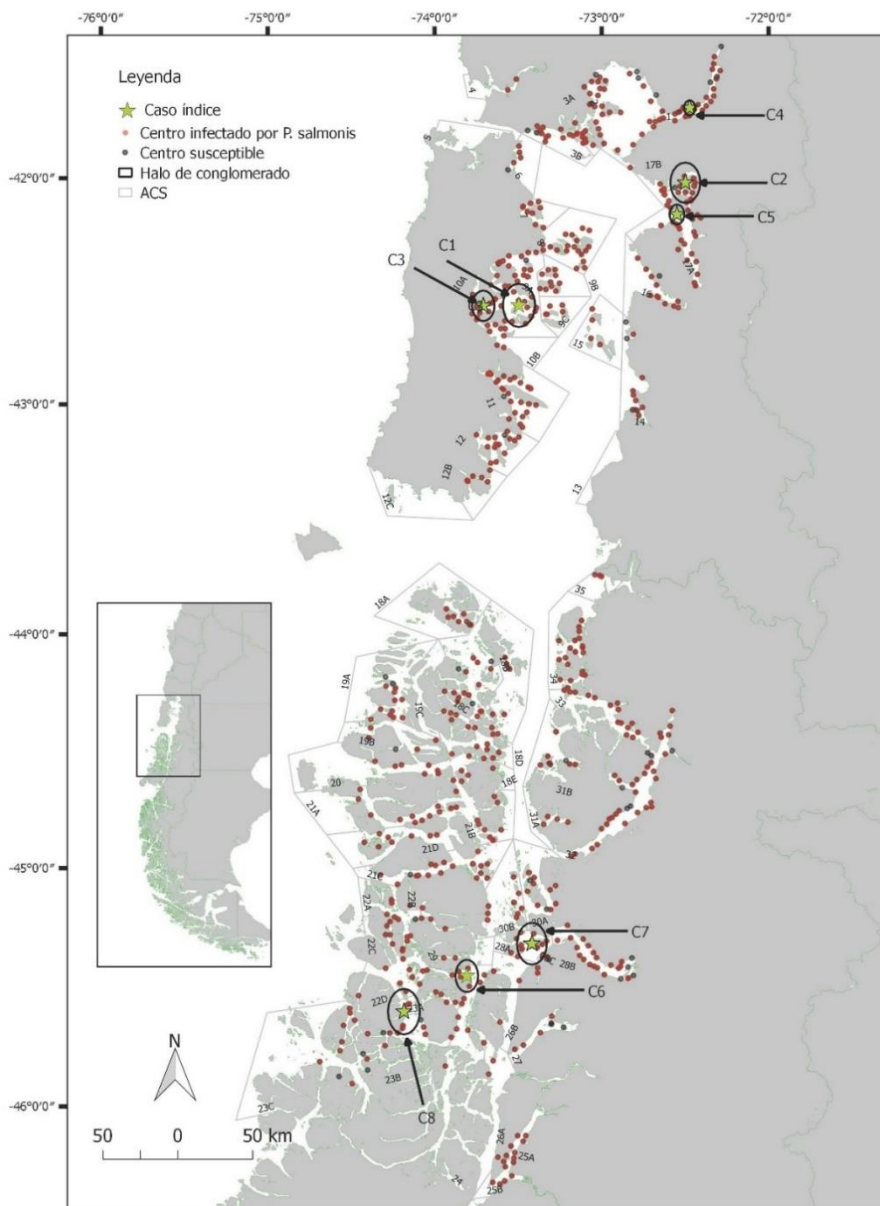


Fig. 1

Distribución espacial y conglomerados en el espacio y el tiempo de centros marinos de producción de salmónidos de Los Lagos y Aysén con diagnóstico positivo. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)

ACS: Agrupaciones de Concesiones de Salmónidos
 C1 – 8: Conglomerados 1 - 8
P. salmonis *Piscirickettsia salmonis*

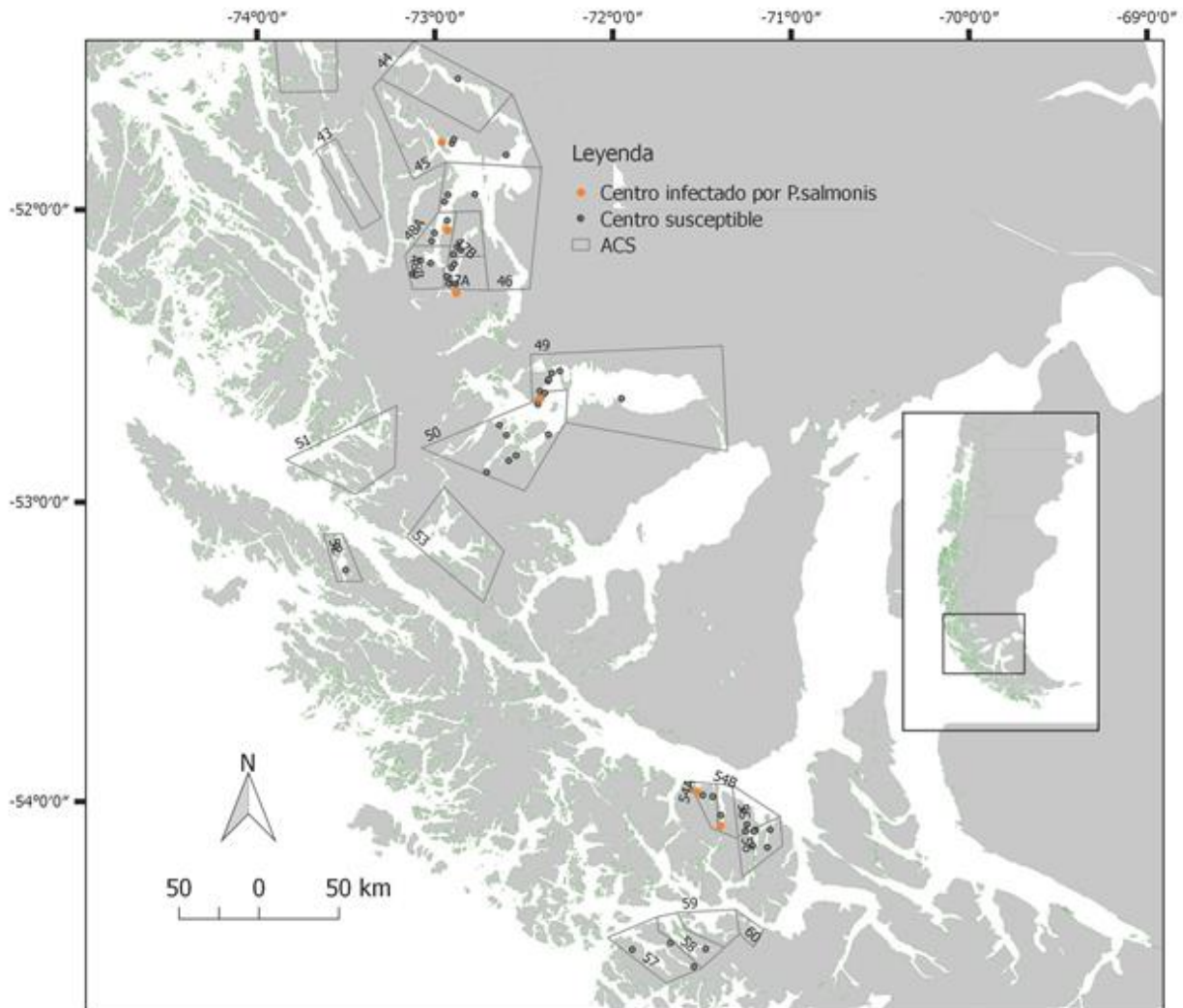


Fig. 2

Distribución espacial de centros marinos de producción de salmónidos de Magallanes con diagnóstico positivo. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)

ACS: Agrupaciones de Concesiones de Salmónidos
P. salmonis *Piscirickettsia salmonis*

Cuadro IV

Detalle de los conglomerados de centros marinos con diagnóstico positivo de *Piscirickettsia salmonis*. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)

| Conglomerado | Tipo de conglomerado | Período del conglomerado | Radio (km) | RR | Chi ² P | ACS ¹ involucradas | Número de centros involucrados | Especie | Peso (g) promedio de los peces |
|--------------|---------------------------|--|------------|-----|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| C1 | Primario ^(a) | Octubre de 2015 – Enero de 2016 | 9,56 | 3,3 | 0,001 | 9A | 2 | <i>S. salar</i> | 389 |
| | | | | | | | 7 | <i>S. salar</i> | 3 355 |
| | | | | | | | 3 | <i>O. kisutch</i> | 2 877 |
| C2 | Secundario ^(b) | Noviembre de 2013 – Febrero de 2014 | 9,00 | 4,3 | 0,001 | 17B | 4 | <i>O. kisutch</i> | 2 155 |
| | | | | | | | 7 | <i>O. mykiss</i> | 1 132 |
| C3 | Secundario | Junio de 2015 – Septiembre de 2015 | 6,73 | 3,6 | 0,002 | 10A | 2 | <i>S. salar</i> | 1 407 |
| | | | | | | | 6 | <i>O. kisutch</i> | 1 220 |
| | | | | | | | 1 | <i>S. salar</i> | 2 517 |
| C4 | Secundario | Septiembre de 2013 – Diciembre de 2013 | 3,37 | 6,7 | 0,023 | 1 | 1 | <i>O. kisutch</i> | 1 129 |
| | | | | | | | 4 | <i>O. mykiss</i> | 1 494 |

| | | | | | | | | | |
|----|------------|----------------------------------|------|-----|-------|-----|---|-------------------|-------|
| C5 | Secundario | Marzo de 2015 – Junio de 2015 | 4,41 | 6,5 | 0,035 | 17A | 3 | <i>S. salar</i> | 2 719 |
| C6 | Primario | Abril de 2013 – Junio de 2013 | 6,81 | 6,7 | 0,003 | 22D | 5 | <i>S. salar</i> | 658 |
| | | | | | | 24 | 2 | <i>S. salar</i> | 3 681 |
| C7 | Secundario | Marzo de 2013 – Junio de 2013 | 8,83 | 3,9 | 0,004 | 28A | 5 | <i>O. mykiss</i> | 1 918 |
| | | | | | | | 4 | <i>S. salar</i> | 2 086 |
| | | | | | | | 1 | <i>O. kisutch</i> | 1 918 |
| C8 | Secundario | Marzo de 2014 – Junio de 2014 | 9,56 | 4,2 | 0,031 | 22D | 1 | <i>S. salar</i> | 4 082 |
| | | | | | | 23A | 3 | <i>S. salar</i> | 984 |
| | | | | | | 23B | 2 | <i>S. salar</i> | 5 270 |

a) Primario: Conglomerado más probable jerárquicamente

b) Secundario: Conglomerado secundario

ACS: Agrupaciones de Concesiones de Salmónidos

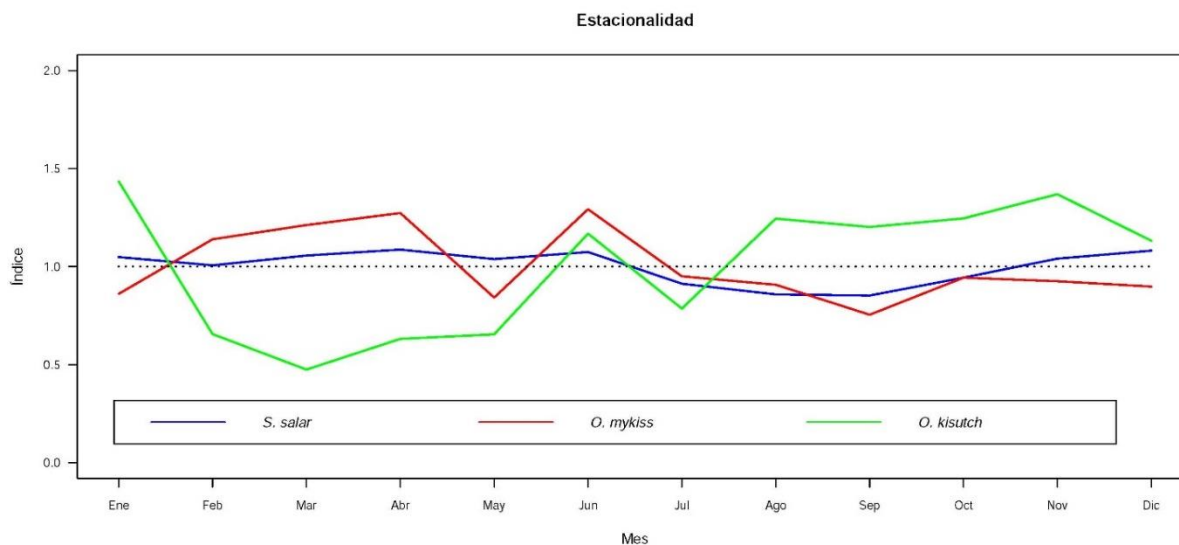
C1 – 8: Conglomerados 1 - 8

O. kisutch: *Oncorhynchus kisutch*

O. mykiss: *Oncorhynchus mykiss*

RR: Riesgo Relativo

S. salar: *Salmo salar*

**Fig. 4**

Prevalencia mensual de la piscirickettsiosis en los centros marinos de Los Lagos y Aysén con diagnóstico positivo, por especie. Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la piscirickettsiosis (enero de 2013 – marzo de 2017)

O. kisutch: *Oncorhynchus kisutch*

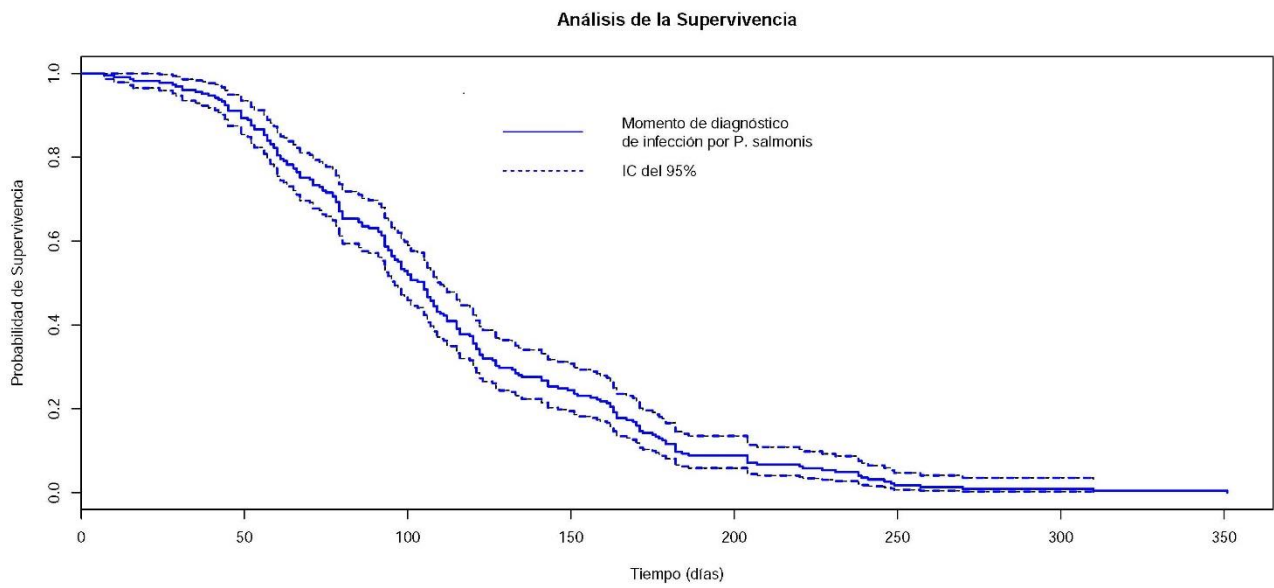
O. mykiss: *Oncorhynchus mykiss*

S. salar: *Salmo salar*

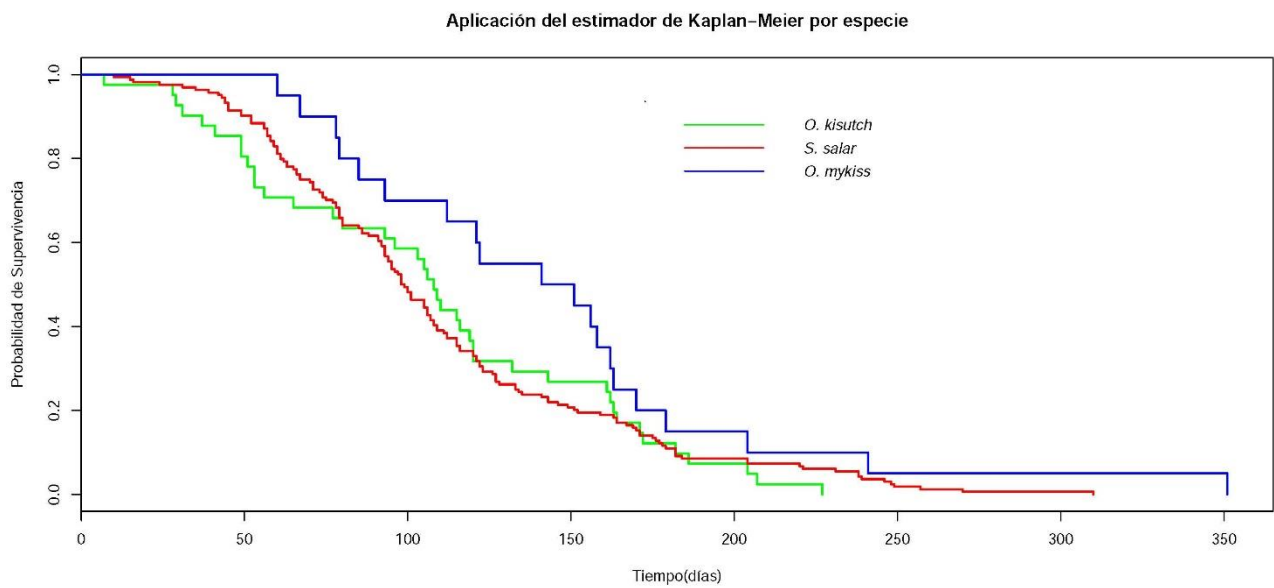
Análisis de la supervivencia

Se analizaron 225 ciclos productivos y se observó una mediana de la sobrevivencia global, desde el primer diagnóstico, de 105 días, con un mínimo de siete días y un máximo de 351 días. La curva de sobrevivencia de Kaplan-Meier determinó que en el caso de *S. salar*, la mediana fue de 99 días (IC 95%: 93–107), en el caso de *O. kisutch*, de 108 días (IC 95%: 93–120), y en el caso de *O. mykiss*, de 146 días (IC 95%: 112–170), y no hubo diferencias significativas entre especies ($p = 0,130$). En la comparación de regiones, la curva de Kaplan-Meier mostró que la mediana de tiempo en el caso de Los Lagos fue de 100 días (IC 95%: 93–110), y en el caso de Aysén, de 106 días (IC 95%: 95–119); tampoco hubo diferencias significativas entre regiones ($p = 0,319$) (Fig. 5).

General



Especie



Región

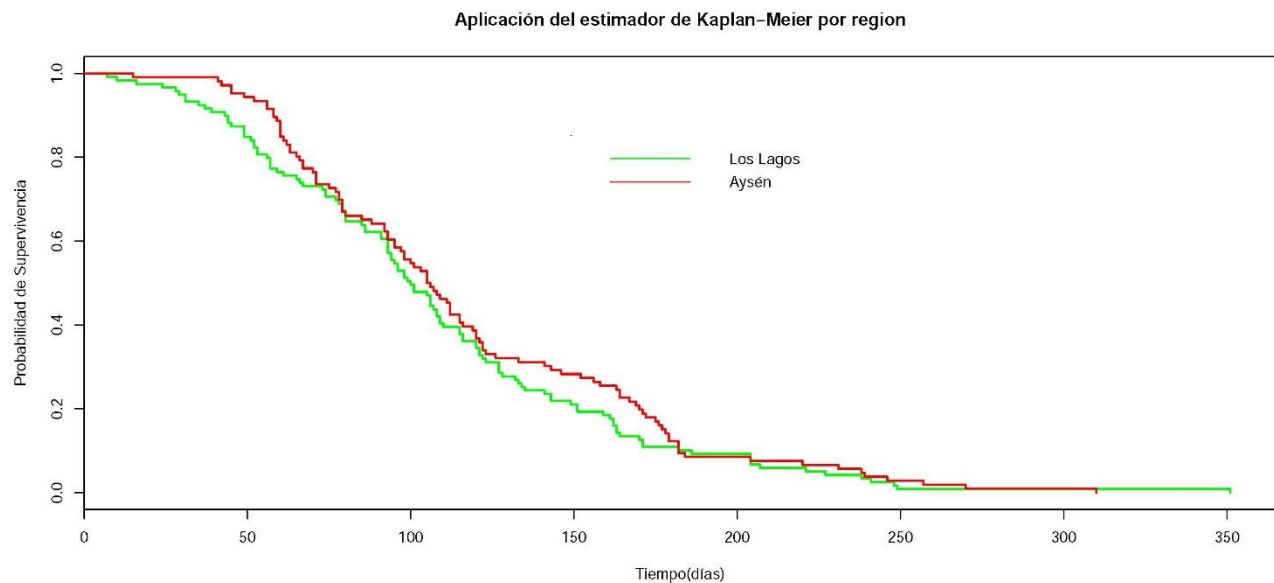


Fig. 5

Curvas de Kaplan-Meier (IC95%) desde el momento en que se realiza el primer diagnóstico en los centros marinos en general, así como por especie y por región

- IC: intervalo de confianza
- K–M: Kaplan-Meier
- O. kisutch*: *Oncorhynchus kisutch*
- O. mykiss*: *Oncorhynchus mykiss*
- S. salar*: *Salmo salar*

Discusión

Se obtiene una baja prevalencia (0,28%) de *P. salmonis* en los peces cultivados en agua dulce, lo cual se correlaciona con los escasos brotes de SRS en salmónidos cultivados en este ambiente (10, 21) y podría explicarse por la rápida inestabilidad de la bacteria en agua dulce (22). La detección del agente en peces de piscifactorías puede estar asociada a manejos productivos que aumentan el riesgo de infección, como el abastecimiento de agua marina sin desinfección, la entrada de animales portadores provenientes de agua de mar que tal vez estén destinados a la reproducción, la detección del agente vacunal tras la vacunación de los peces o una baja especificidad y sensibilidad de las pruebas de diagnóstico.

Se produce un alto porcentaje de diagnósticos positivos en centros de agua de mar, que se asocia con la condición ubicua de *P. salmonis* en zonas marinas y la alta frecuencia de brotes en este ambiente (20, 22, 23), lo cual podría explicarse por las condiciones propias de la bacteria, que permiten su supervivencia y replicación en este medio. De hecho, se ha descrito que *P. salmonis* genera una estructura de *biofilm* que le permite sobrevivir en el mar en condiciones ambientales adversas e incluso sin peces hasta 40 días (24, 25). Existen varios reservorios biológicos de *P. salmonis*, como crustáceos y moluscos marinos de vida libre (10, 26). Los peces infectados eliminan la bacteria a través de la bilis, las heces y la orina (27). Se ha determinado una prevalencia de diagnóstico de SRS del 9,8% en peces silvestres y asilvestrados, siendo el róbalo (*Eleginops maclovinus*) y el pejerrey de mar (*Odontesthes regia*) los que presentan mayores niveles de infección (28). Son fuente de la bacteria peces asilvestrados, sobre todos los que se encuentran cercanos a centros de cultivo, y peces de cultivo, ya estén sanos, moribundos o muertos como consecuencia de la enfermedad (10, 29). Sin embargo, aún falta conocer el rol que tienen los organismos acuáticos, como vectores biológicos o mecánicos, en el mantenimiento del agente en el mar.

Las tres especies estudiadas son muy susceptibles a la infección, lo cual se relaciona con lo descrito por Murray y col. (29), quienes señalan que estas especies presentan un alto riesgo de contraer la SRS. Sin embargo, existen diferencias en la presentación de la enfermedad en función de la especie afectada. Jakob y col. (20) señalaron que un brote en *O. mykiss* afecta a más jaulas, es más extenso y tiene mayor tasa de mortalidad que un brote en *S. salar*, lo cual podría explicarse porque existen diferencias en la virulencia de *P. salmonis* en función de la especie a la que afecte (19). Existen serotipos y genovariantes que tienen preferencia por un hospedador específico. Así, Saavedra y col. (30) señalaron que el genotipo de la cepa EM-90 muestra una marcada preferencia de infección en *S. salar*, mientras que el genotipo de la cepa LF-89 se detecta en *S. salar*, *O. mykiss* y *O. kisutch*. Se determinó *in vitro* que, en *S. salar*, EM-90 causa una infección con menor tiempo hasta la muerte y mayor mortalidad acumulada que en el caso de LF-89 (31). Sin embargo, falta información sobre la patogenicidad según la

especie, sobre la prevalencia y sobre la distribución geográfica que presentan los distintos serotipos y/o genogrupos, unos datos que son relevantes para establecer estrategias de control de la enfermedad (26).

Los Lagos y Aysén son las principales zonas con diagnóstico y de conglomerados de centros, lo cual se asocia a la alta prevalencia de centros con enfermedad en estas áreas, condición que puede deberse a que ambas regiones mantienen más del 90% del cultivo de engorde del país (32), a que cuentan con áreas geográficas con una alta concentración de centros, a veces con una distancia entre ellos < 10 km, un factor que ayuda a una rápida diseminación de la bacteria, y a que se dan unas condiciones ambientales y de temperatura del agua adecuadas para el desarrollo y la supervivencia de la bacteria, algo que se correlaciona con lo demostrado experimentalmente por Larenas y col. (33); estos autores señalaron la acción sinérgica de las temperaturas cercanas a los 14°C y de una alta densidad poblacional (20 kg/m³) en la aparición de la SRS. Por otro lado, en la región de Magallanes se obtuvo una prevalencia baja (3,0%) y una detección nula de conglomerados de centros infectados, lo cual se relaciona con la ausencia de brotes y la diseminación de la enfermedad entre centros marinos de la zona (32). La baja prevalencia encontrada en Magallanes podría explicarse por la posibilidad de entrada de peces portadores o subclínicos provenientes de otra zona geográfica endémica, y la ausencia de conglomerados, que implica una diseminación nula, se debería a las condiciones productivas y ambientales que tiene la región, como el bajo número/concentración geográfica de centros marinos y temperatura del agua (32), puesto que se ha comprobado *in vitro* que la enfermedad no se manifiesta mientras los peces se mantengan en agua marina por debajo de 7,5–8,5°C debido a que la bacteria retarda su crecimiento a temperaturas inferiores a los 10°C (34, 35). Sin embargo, y teniendo en cuenta que en Magallanes la salmonicultura ha aumentado en los últimos años, es relevante generar medidas sanitarias preventivas que disminuyan el riesgo de entrada y de diseminación del agente en la región.

El índice estacional de diagnóstico de SRS en *S. salar* y *O. mykiss* presenta un alza en la temporada verano–otoño que se asocia a lo publicado por Rees y col. (19), quienes encontraron en ambas especies

una correlación entre el aumento de la temperatura y el de la tasa de incidencia de SRS. Esto podría explicarse porque en Los Lagos y en Aysén el promedio de las temperaturas máximas del verano en la superficie marina es de 14–15°C (32), lo cual podría inducir un estado de estrés en los peces y un mayor consumo de alimento, así como favorecer la supervivencia de la bacteria, que tiene una replicación óptima *in vitro* a 15–18°C (35). Se ha comprobado que ciertas cepas del genogrupo 1 (G1) presentan un crecimiento óptimo a 16–19°C, mientras que ciertas cepas del genogrupo 2 (G2) presentan un crecimiento óptimo a 19–22°C (36). En este sentido, Branson y col. (37) señalaron que aparecen brotes de la enfermedad después de unos períodos de variaciones significativas en la temperatura del agua que se observan en otoño y primavera. Es importante señalar que la enfermedad afecta preferentemente a animales que pesan más de 1 kg y que el primer brote se manifiesta de promedio a los 8,3 meses de producción en *S. salar* y a los 6,6 meses de producción en *O. mykiss* (20, 32). Por lo tanto, durante las estaciones señaladas aumenta la concentración de centros con alta biomasa productiva en el agua. La razón por la que este grupo productivo tiene un mayor riesgo de infección puede ser una disminución de su inmunidad pasiva ante el agente, asociada a ciertos grados de estrés debidos a las altas densidades de cultivo, las cuales producen daños en la piel, como infecciones parasitarias de tipo *Caligus* o enfermedades víricas. Por otro lado, la estacionalidad en *O. kisutch* explica la primera epizootia de la enfermedad descrita en Chile en el año 1989, en la cual aparecieron brotes desde otoño hasta mediados de invierno y se repitieron en primavera y principios de verano (38), fenómeno que puede explicarse por la estacionalidad del ciclo productivo anual y por el hecho de que la siembra se realice preferentemente de enero a abril y la cosecha de diciembre a febrero.

En la región de Los Lagos o Aysén, la primera detección de *P. salmonis* en un centro marino de cultivo de cualquiera de las tres especies se produjo en un mínimo de 7 días, un máximo de 351 días y una media de 105 días (3,5 meses) respecto al inicio del ciclo de producción, lo cual concuerda con lo que describen Gaggero y col. (39), quienes señalan que la enfermedad se presenta a los 1,5 - 3 meses después de

iniciado el ciclo productivo marino. Sin embargo, Bravo (21) señala que la infección empieza en un plazo máximo de dos semanas tras la transferencia al mar y Jakob y col. (20) señalaron que la enfermedad ya se detecta dos meses después de iniciarse el ciclo productivo. La infección temprana en el mar puede explicarse por una imperfección en la vacunación activa de los peces contra *P. salmonis* en las piscifactorías, la cual puede asociarse al serotipo de la vacuna, al tipo de antígeno inoculado (vivo, atenuado u otros) o a una incorrecta aplicación de la vacuna de acuerdo a las indicaciones del producto. Lo anterior se asocia a la transferencia al mar de grupos de peces que no alcanzan las condiciones fisiológicas, morfológicas o de comportamiento óptimas (calidad de esguín) y que, por lo tanto, son más susceptibles a las infecciones. En concordancia con lo señalado, se puede tener en cuenta el estrés que ocasiona el transporte previo a la entrada en el mar y la baja respuesta de adaptación y climatización de los peces al mar. Así, Jakob y col. (20) señalaron que estos factores se relacionan con una alta mortalidad acumulada en las primeras semanas de cultivo, situación que se correlaciona con una alta severidad de los brotes de SRS durante el ciclo productivo, y se ha determinado que los peces introducidos en primavera-verano están más expuestos a cargas altas de *P. salmonis* que los que se introducen en otoño-invierno.

Conclusión

Los resultados obtenidos durante la vigilancia activa llevada a cabo por el PSVCSRS permiten conocer la epidemiología de *P. salmonis* en Chile; se ha detectado una baja prevalencia del agente en peces cultivados en piscifactorías, lo cual confirma que el diagnóstico de la bacteria tiene lugar principalmente durante la etapa de engorde marino y en las tres especies de importancia comercial. En los centros marinos, la infección se produce en etapas tempranas y, en el caso de *S. salar* y *O. mykiss*, se observa estacionalidad asociada principalmente a las estaciones de verano-otoño, mientras que en *O. kisutch* se asocia sobre todo a las estaciones de otoño-primavera-verano. La distribución espacial de la enfermedad se concentra esencialmente en dos regiones: Los Lagos y Aysén; sin embargo, en Magallanes es de bajo riesgo

sanitario debido a la escasa detección del agente y a la nula diseminación a centros vecinos.

Bibliografía

1. Almendras F.E. & Fuentealba I.C. (1997). – Salmonid rickettsial septicemia caused by *Piscirickettsia salmonis*: a review. *Dis. Aquat. Organ.*, **29** (2), 137–144. <https://doi.org/10.3354/dao029137>.

2. Nourdin-Galindo G., Sánchez P., Molina C.F., Espinoza-Rojas D.A., Oliver C., Ruiz P., Vargas-Chacoff L., Cárcamo J.G., Figueroa J.E., Mancilla M., Maracaja-Coutinho V. & Yáñez A.J. (2017). – Comparative pan-genome analysis of *Piscirickettsia salmonis* reveals genomic divergences within genogroups. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **7**, Artículo 459, 16 págs. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00459>.

3. Marshall S.H., Henríquez V., Gómez F.A. & Cárdenas C. (2011). – ISPsa2, the first mobile genetic element to be described and characterized in the bacterial facultative intracellular pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **314** (1), 18–24. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02132>.

4. Corbeil S., Hyatt A.D. & Crane M.S.J. (2005). – Characterization of an emerging rickettsia-like organism in Tasmanian farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Organ.*, **64** (1), 37–44. <https://doi.org/10.3354/dao064037>.

5. Olsen A.B., Melby H.P., Speilberg L., Evensen Ø. & Håstein T. (1997). – *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway – epidemiological pathological and microbiological findings. *Dis. Aquat. Organ.*, **31** (1), 35–48. <https://doi.org/10.3354/dao031035>.

6. Contreras-Lynch S., Olmos P., Vargas A., Figueroa J., González-Stegmaier R., Enríquez R. & Romero A. (2015). – Identification and genetic characterization of *Piscirickettsia salmonis* in native fish from southern Chile. *Dis. Aquat. Organ.*, **115** (3), 233–244. <https://doi.org/10.3354/dao02892>.

7. Larenas J.J., Bartholomew J., Troncoso O., Fernández S., Ledezma H., Sandoval N., Vera P., Contreras J. & Smith P. (2003). – Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and *in vitro* study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. *Dis. Aquat. Organ.*, **56** (1), 25–30. <https://doi.org/10.3354/dao056025>.

8. Mauel M.J. & Miller D.L. (2002). – Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review. *Vet. Microbiol.*, **87** (4), 279–289. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00085-8).

9. Fryer J.L. & Hedrick R.P. (2003). – *Piscirickettsia salmonis*: a gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *J. Fish Dis.*, **26** (5), 251–262. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00460.x>.

10. Rozas M. & Enríquez R. (2013). – Piscirickettsiosis and *Piscirickettsia salmonis* in fish: a review. *J. Fish Dis.*, **37** (3), 163–188. <https://doi.org/10.1111/jfd.12211>.

11. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (2012). – Programa sanitario específico de vigilancia y control de Piscirickettsiosis (PSEVC-Piscirickettsiosis). Resolución exenta n.º 3174–2012. SERNAPESCA, Victoria, Chile, 9 págs. Disponible en: www.sernapesca.cl/sites/default/files/importacion/Acuicultura/resex_3174_2012.pdf (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

12. Cameron A. (2002). – Survey toolbox for aquatic animal diseases: a practical manual and software package. ACIAR monograph n.º 94. ACIAR, Canberra, Australia, 375 págs. Disponible en: www.aciar.gov.au/node/7276 (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

13. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (2012). – Programa sanitario general de manejo de mortalidades y su sistema de clasificación estandarizado conforme a categorías preestablecidas (PSGM). Resolución exenta n.º 1468–2012. SERNAPESCA, Victoria, Chile, 10 págs. Disponible en: www.sernapesca.cl/sites/default/files/resex_1468_2012_0_0.pdf (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

14. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (2018). – Programa sanitario general laboratorios de diagnóstico de enfermedades de animales acuáticos. Norma técnica n.º 1, Procedimiento para el muestreo de animales acuáticos. Departamento de salud animal, SERNAPESCA, Victoria, Chile, 24 págs. Disponible en: www.sernapesca.cl/sites/default/files/labd-nt1.pdf (fecha de consulta: 14 de septiembre de 2018).

15. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (2018). – Programa sanitario general laboratorios de diagnóstico de enfermedades de animales acuáticos. Norma técnica n.º 2, Pruebas diagnósticas para enfermedades de animales acuáticos. Departamento de salud animal, SERNAPESCA, Victoria, Chile, 31 págs. Disponible en: www.sernapesca.cl/sites/default/files/labd-nt2.pdf (fecha de consulta: 14 de septiembre de 2018).

16. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; Subsecretaría de Pesca; Servicio Nacional de Pesca (2009). – Establece medidas de manejo sanitario por área. Resolución exenta n.º 1449–2009. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, Valparaíso, Chile, 7 págs. Disponible en: www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1003741 (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

17. Kulldorff M. & Nagarwalla N. (1995). – Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat. Med.*, **14** (8), 799–810. <https://doi.org/10.1002/sim.4780140809>.

18. Kulldorff M. (1997). – A spatial scan statistic. *Commun. Stat. Theor. Meth.*, **26** (6), 1481–1496. <https://doi.org/10.1080/03610929708831995>.

19. Rees E.E., Ibarra R., Medina M., Sanchez J., Jakob E., Vanderstichel R. & St-Hilaire S. (2014). – Transmission of *Piscirickettsia salmonis* among salt water salmonid farms in Chile. *Aquaculture*, **428–429**, 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.031>.

20. Jakob 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*) salt water aquaculture farms in Chile. *Aquaculture*, **433**, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.018>.

21. Bravo S. (1994). – Piscirickettsiosis in freshwater. *Bull. Eur. Assn. Fish P.*, **14** (4), 137–138. Disponible en: www.researchgate.net/publication/285135229_Piscirickettsiosis_in_freshwater (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

22. Lannan C.N. & Fryer J.L. (1994). – Extracellular survival of *Piscirickettsia salmonis*. *J. Fish Dis.*, **17** (5), 545–548. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1994.tb00251.x>.

23. Almendras F.E., Fuentealba I.C., Jones S.R.M., Markham F. & Spangler E. (1997). – Experimental infection and horizontal transmission of *Piscirickettsia salmonis* in freshwater–raised Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.*, **20** (6), 409–418. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1997.00315.x>.

24. Marshall S.H., Gómez F.A., Ramírez 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** (8), 557–566. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.08.002>.

25. Olivares J. & Marshall S.H. (2010). – Determination of minimal concentration of *Piscirickettsia salmonis* in water columns to establish a fallowing period in salmon farms. *J. Fish Dis.*, **33** (3), 261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01119.x>.

26. Yuksel S.A., Thompson K.D. & Adams A. (2006). – Rickettsial infections of fish. *Turk. J. Fish Aquat. Sci.*, **6**, 63–78. Disponible en: www.trjfas.org/uploads/pdf_268.pdf (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

27. Smith P.A., Rojas M.E., Guajardo A., Contreras J., Morales M.A. & Larenas J. (2004). – Experimental infection of Coho salmon *Oncorhynchus kisutch* by exposure of skin, gills and intestine with *Piscirickettsia salmonis*. *Dis. Aquat. Organ.*, **61** (1–2), 53–57. <https://doi.org/10.3354/dao061053>.

28. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA) (2017). – Informe técnico (D.AC) n.º 1060/24.10.2017: informe anual de resultados. Programa de investigación: situación sanitaria de enfermedades de alto riesgo en peces silvestres 2015–2016. SUBPESCA, Valparaíso, Chile, 59 págs. Disponible en: www.subpesca.cl/portal/618/articles-98659_documento.pdf (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

29. Murray A.G. & Peeler E.J. (2005). – A framework for understanding the potential for emerging diseases in aquaculture. *Prev. Vet. Med.*, **67** (2–3), 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.10.012>.

30. Saavedra J., Hernandez N., Osses A., Castillo A., Cancino A., Grothusen H., Navas E., Henriquez P., Bohle H., Bustamante F., Bustos P. & Mancilla M. (2017). – Prevalence, geographic distribution and phenotypic differences of *Piscirickettsia salmonis* EM-90-like isolates. *J. Fish Dis.*, **40** (8), 1055–1063. <https://doi.org/10.1111/jfd.12581>.

31. Rozas-Serri M., Idefonso R., Peña A., Enríquez R., Barrientos S. & Maldonado L. (2017). – Comparative pathogenesis of Piscirickettsiosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolt experimentally challenged with LF-89-like and EM-90-like *Piscirickettsia salmonis* isolates. *J. Fish Dis.*, **40** (10), 1451–1472. <https://doi.org/10.1111/jfd.12671>.

32. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (2017). – Informe sanitario de salmonicultura en centros marinos año 2016. SERNAPESCA, Victoria, Chile, 37 págs. Disponible en: www.sernapesca.cl/sites/default/files/informe_sanitario_2016.pdf (fecha de consulta: 29 de agosto de 2018).

33. Larenas J.J., Contreras J., Oyanedel S., Morales M.A. & Smith P. (1997). – Efecto de la densidad poblacional y temperatura en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) inoculadas con *Piscirickettsia salmonis*. *Arch. Med. Vet.*, **29** (1), 113–119. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X1997000100013>.

34. Birkbeck T.H., Rennie S., Hunter D., Laidler L.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. Organ.*, **60** (2), 97–103. <https://doi.org/10.3354/dao060097>.

35. Fryer J.L., Lannan C.N., Garces 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** (2), 107–114. <https://doi.org/10.3147/jsfp.25.107>.

36. Otterlei A., Brevik Ø.J., Jensen D., Duesund H., Sommerset I., Frost P., Mendoza J., McKenzie P., Nylund A. & Apablaza P. (2016). – Phenotypic and genetic characterization of *Piscirickettsia salmonis* from Chilean and Canadian salmonids. *BMC Vet. Res.*, **12**:55. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0681-0>.

37. Branson E.J. & Nieto Díaz-Muñoz D. (1991). – Description of a new disease condition occurring in farmed Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in South America. *J. Fish Dis.*, **14** (2), 147–156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00585.x>.

38. Cvitanich J.D., Garate 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** (2), 121–145. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00584.x>.

39. Gaggero A., Castro H. & Sandino A.M. (1995). – First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the freshwater stage of their life cycle. *J. Fish Dis.*, **18** (3), 277–280. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00303.x>.