



**INFORME TÉCNICO (D.AC) Nº 537 / 30.06.2016**

**INFORME ANUAL DE RESULTADOS**

**PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN**

**SITUACION SANITARIA DE ENFERMEDADES DE ALTO RIESGO EN PECES SILVESTRES**

**2013 – 2014**



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. METODOLOGIA .....	3
3. RESULTADOS.....	11
4. CONCLUSIONES.....	18
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	22

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Zonas de muestreo en mar .....	4
Tabla 2. Agentes patógenos analizados, por tipo de ambiente. ....	7
Tabla 3. Porcentaje de análisis definidos para el estudio, por especie susceptible. ....	8

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número total de peces capturados en la Región de Los Ríos, Región de Los Lagos, Región de Aysén y Región de Magallanes según especie. ....	11
Figura 2. Número de peces capturados en Región de Los Ríos según especie. ....	12
Figura 3. Número de peces capturados en Región de Los Lagos según especie.....	12
Figura 4. Número de peces capturados en Región de Aysén según especie. ....	13
Figura 5. Número de peces capturados en la Región de Magallanes según especie. ....	13
Figura 6. Número de peces capturados por zona geográfica y especie en la Región de Los Ríos y Región de Los Lagos. ....	14
Figura 7. Número de peces capturados por zona geográfica y especie en la Región de Aysén y Región de Magallanes. ....	15



## 1. INTRODUCCIÓN

En el ambiente acuático donde se desarrolla la actividad acuicultora, existe una fauna silvestre de gran diversidad, compuesta por peces nativos y especies introducidas asilvestradas, entre las que se encuentran especies salmonídeas que se adaptaron a los ecosistemas marinos y dulce acuícolas, tanto como consecuencia de proyectos de cultivo con sistema de circuito abierto (ranching), como por efecto de escapes accidentales desde centros de cultivo (Soto et al. 2001, 2004). En el entorno cercano a las balsas jaulas, donde cohabitan todos estos grupos, existe un grado de asociación e interacción con un mismo ambiente, en forma recíproca y dinámica (Intesal, 2000).

El crecimiento explosivo de la producción de cultivo de cualquier especie animal, involucra un aumento en el riesgo de introducir y/o diseminar enfermedades que afectan directamente la salud de los mismos organismos cultivados e indirectamente a la biota local. En este contexto, el desarrollo a gran escala de la salmonicultura en nuestro país no ha estado exento a dicha realidad y ha debido enfrentar la aparición y diseminación de varias enfermedades que, en algunos casos, han llegado a transformarse en patologías endémicas en los salmones cultivados en el sur de Chile, como por ejemplo, la Piscirickettsiosis y la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) (Campalans et al. 1995).

A nivel internacional, países con sectores acuicultores de importancia han desarrollado numerosas investigaciones a objeto de poder determinar el riesgo de transmisión horizontal de enfermedades entre peces cultivados, peces de cultivo escapados y otros peces silvestres. La probabilidad de que los patógenos de peces silvestres interactúen con salmónidos de cultivo, es un hecho real y debe ser evaluado a través del tiempo, sin embargo, se desconoce cuáles de éstos agentes podrían ser patógenos para ambas poblaciones, y que significancia o importancia podría tener este fenómeno en las dinámicas poblacionales en el medio acuático (Intesal, 2000). Es así como existen trabajos que han descrito la presencia de agentes patógenos para las poblaciones en cultivo, tanto en peces silvestres como en moluscos y crustáceos, como es el caso de *Piscirickettsia salmonis* (Garcés et al. 1991). En relación a los agentes virales, destaca el virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa, el que también ha sido registrado en especies nativas (Murray et al. 2003).

En vista de lo antes expuesto y considerando el valor epidemiológico de contar con estudios que permitan establecer cuál es la relación existente entre las especies salmonídeas de confinamiento y los peces nativos circundantes a las estructuras flotantes que los contienen, mediante el D.S. (MINECON) N° 4 de 2013 que modificó al D.S. (MINECON) N° 319 de 2001 que establece las medidas de protección, control y erradicación de enfermedades de alto riesgo para las especies



hidrobiológicas (RESA), se determinó que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura debía establecer un programa de investigación de las especies silvestres, cuyos resultados pueden ser considerados por el Servicio en la zonificación que realice y en las labores de control y fiscalización que lleve adelante.

En este contexto, la Subsecretaria ha implementado un programa de investigación permanente, ejecutado por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), de acuerdo a lo establecido en la Ley General de Pesca y Acuicultura, mediante el cual se realiza una vigilancia de las Enfermedades de Alto Riesgo (EAR) en peces silvestres de cuerpos de agua lacustres, estuarinos y marinos en las regiones donde se han establecido las producciones de peces salmonídeos a nivel industrial (Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes).

La iniciativa considera la evaluación de especies salmonídeas y no salmonídeas, respecto de la detección de agentes patógenos virales y bacterianos, tanto exóticos como endémicos.

La metodología diagnóstica para desarrollar la vigilancia es realizada a través de la técnica molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real, la que fue seleccionada debido a la rapidez, sensibilidad y especificidad de la misma, permitiendo entregar un mayor número y más confiables resultados en un menor tiempo.

Adicionalmente, se realiza un análisis de factores de riesgo, mediante un modelo de regresión logística y un análisis de riesgo utilizando la opinión de un panel de expertos para definir las probabilidades de transmisión para las zonas con que no se cuenta con información a la fecha.

En el presente documento, se informan los resultados correspondientes a la ejecución de dos campañas de muestreos, realizadas entre octubre de 2013 hasta julio de 2014, en 18 zonas de muestreo distribuidas en las regiones de Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, con un total de 3.040 individuos capturados y un promedio de 168 peces por zona geográfica.



## 2. METODOLOGIA

Las especies definidas para pesca en mar fueron:

- Salmón del Atlántico (*Salmo salar*)
- Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*)
- Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)
- Salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*)
- Trucha fario (*Salmo trutta fario*)
- Pejerrey (*Odontheistes regia*)
- Róbalo (*Eleginops maclovinus*)

En el caso de la pesca en agua dulce, se definieron las siguientes especies que se detallan a continuación:

- Salmón del Atlántico (*Salmo salar*)
- Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*)
- Salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*)
- Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)
- Trucha fario (*Salmo trutta fario*)
- Pejerrey (*Basilichthys australis*)
- Perca Trucha (*Percichthys trucha*)
- Puye Grande (*Galaxias maculatus*)

En cuanto a las zonas de muestreo, se consideraron zonas en mar y en lagos de la Región de los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, por ser las principales zonas geográficas en que se lleva a cabo la actividad salmonicultora. Para los lagos, se muestrearon 4 zonas las que correspondieron a los lagos Llanquihue, Chapo, Rupanco y Puyehue. En el caso de mar, se definieron 18 zonas de muestreo, las que se detallan en la tabla 1.

Adicionalmente, la definición de los muestreos contempló la zonificación epidemiológica establecida por Sernapesca, según la condición epidemiológica de las Agrupaciones de Concesiones Salmoneras (ACS), en función de su condición sanitaria para ISAv y Caligidosis, de acuerdo a los respectivos Programas Sanitarios Especifico de Vigilancia y Control, dictados de acuerdo a lo establecido en el D.S. (MINECON) N°319 de 2001. A su vez, estas ACS, fueron agrupadas en las 8 Macrozonas, identificadas por Subpesca (Tabla1).

Debido a que la condición epidemiológica de estas áreas es dinámica en el tiempo, se verificaron zonas que eventualmente puedan ser consideradas prioritarias en el desarrollo de los muestreos, dada su condición de infectada por detección de variantes patogénicas de ISAv o debido a que presenta cargas de *Caligus* superiores a los límites superiores establecidos por la normativa.

Cabe indicar que la información epidemiológica de las respectivas zonas, fue actualizada en forma mensual mediante la recepción de un informe consolidado entregado por una empresa subcontratada por el ejecutor, que contempla un 85% de representatividad de la industria salmonicultora.

**Tabla 1.** Zonas de muestreo en mar

Región	Macrozonas	ACS
Los Lagos	1	1
		2
		3A
		3B
		4
	2	5
		6
	3	7
		8
		9A
		9B
		9C
		10A
	4	10B
		11
		12A
		12B
5	12C	
	13	
	14	
	16	
	17A	
Aysén	6	17B
		18A
		18B

		18C
		18D
		18E
		19A
		19B
		20
		21A
		21B
		21C
		22A
		22B
		22C
		22D
		23A
		23B
		23C
	7	24
		25A
		25B
		26A
		26B
		27
		28A
		28C
		29
		30A
		30B
		31A
	8	31B
		32
		33
		34
		35

Se realizaron dos campañas de muestreo para cada zona, las que fueron ejecutadas a contar de octubre de 2013 y hasta julio de 2014. Cada campaña de muestreo contempló la captura de un mínimo de 80 ejemplares por zona considerando al menos un 15% de ejemplares pertenecientes a especies salmonídeas. Los ejemplares fueron capturados por medio de pesca de investigación en

las concesiones de mar, estuario y lago, autorizada por la Resolución Exenta N° 2330, de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. En cada campaña de muestreo se consideró dar cumplimiento a las medidas de bioseguridad impuestas por SERNAPESCA mediante la resolución N° 332 de 2011 para el control de la diatomea *Dydimosphenia geminata*. Cada zona geográfica consideró un total de 3 puntos de muestreo georreferenciados. Los puntos fueron definidos considerando los siguientes factores para cada una de las zonas previamente señaladas:

- Proximidad a centros de cultivo.
- Cuencas de ríos aledañas.
- Cercanía a afluentes de pisciculturas y/o plantas de proceso.
- Condiciones oceanográficas.
- Antecedentes de retorno de reproductores de especies salmonídeas.
- Antecedentes de salida de crías de especies salmonídeas.

Los ejemplares capturados en cada una de las zonas y puntos de muestreo previamente definidos, fueron clasificados por fecha de muestreo, coordenada geográfica y especie. Los análisis, fueron distribuidos en conformidad a la proporción de las especies capturadas y la susceptibilidad o estado de portadores indicadas en el Manual de Diagnóstico de Enfermedades Acuáticas de la OIE (OIE, 2009) para cada uno de los agentes en estudio y antecedentes científicos disponibles.

Las muestras obtenidas fueron procesadas en instalaciones dispuestas en terreno en las dependencias de IFOP en la zona de Aysén, Magallanes y Chiloé y/o enviadas al laboratorio de IFOP Puerto Montt en el caso de las muestras provenientes de las Regiones de Los Ríos y Los Lagos continente, manteniendo una temperatura inferior a los 10°C con hielo y fijadas en etanol absoluto para biología molecular

Los análisis de las muestras se llevaron a cabo en las instalaciones de la División de Investigación en Acuicultura del Instituto de Fomento Pesquero. Las muestras fueron analizadas en forma individual por medio de la metodología de PCR tiempo real en función del patógeno en cuestión, de acuerdo a los protocolos montados en el Laboratorio de Biología Molecular de IFOP.

Los patógenos de interés en este estudio se señalan clasificados por tipo de ambiente, en la Tabla 2 y según especie susceptible en la Tabla 3. En el caso de Alfavirus y virus ISA, se utilizaron las técnicas oficiales definidas por Sernapesca, las que se encuentran montadas en el Laboratorio de Biología Molecular de IFOP.

En el caso de cuerpos de agua dulce, se consideraron los antecedentes de presencia de reproductores en pisciculturas cuyos afluentes tengan influencia en el cuerpo de agua (Gaggero et

al, 1995) en base a información entregada por el Sernapesca y Subpesca, previo a la elaboración del calendario y propuesta de muestreos.

La extracción de DNA o RNA se realizó mediante la utilización de kits comerciales.

**Tabla 2.** Agentes patógenos analizados, por tipo de ambiente.

Patógenos	Muestreos Agua Dulce	Muestreo Estuario	Muestreo Agua Mar	Órgano blanco
Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Septicemia Hemorrágica Viral (VHS)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Virus de la Necrosis Hematopoyética Epizoótica (EHNV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Piscine reovirus (PRV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Alphavirus de los salmonídeos (SAV)	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Piscirickettsia salmonis	X*	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Renibacterium salmoninarum	X	X	X	Riñón, bazo, corazón y branquias
Flavobacterium psychrophilum	X	No aplica	No aplica	Riñón, bazo, corazón y branquias
Aeromonas salmonicida, Vibrio ordalii, Yersinia ruckerii, Streptococcus phocae,	X**	X**	X**	Riñón, bazo, corazón y branquias

\* Solo en caso de que se asocie a información de antecedentes de reproductores positivos en piscicultura u otro antecedente epidemiológico relevante otorgado por Sernapesca o Subpesca. \*\* Solo en caso de brote.

**Tabla 3.** Porcentaje de análisis definidos para el estudio, por especie susceptible.

Tipo de Agente	Agua Dulce		Agua Mar	
	Salmónidos	No Salmónidos	Salmónidos	No Salmónidos
Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv)	100%	30%	100%	30%
Alphavirus de los salmonídeos (SAV)	100%		100%	
Virus de la Septicemia Hemorrágica Viral (VHS)	100%		100%	
Virus de la Necrosis Hematopoyética Epizoótica (EHNv)	100%		100%	
Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHNv)	100%		100%	
Piscine reovirus (PRV)	100%		100%	
Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNv)	100%	100%	100%	100%
<i>Piscirickettsia salmonis</i>			100%	100%
<i>Renibacterium salmoninarum</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	100%	100%		
<i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Vibrio ordalii</i> , <i>Yersinia ruckerii</i> , <i>Streptococcus phocae</i>	100%*	100%*	100%*	100%*

\* Solo en caso de brote

Para las muestras positivas, se realizó la secuenciación de los productos de PCR previamente purificados utilizando columnas comerciales de purificación (Qia-quick PCR purification, Quiagen). Los resultados de las secuencias fueron contrastados con los productos de PCR esperados, y a su vez, comparados con las secuencias disponibles en el banco de Genes de NCBI para corroborar que sean un indicador del patógeno pesquisado.

Para analizar los datos y análisis de varianza, se utilizó estadística descriptiva utilizando el software STATISTICA v.7.1. StatSoft, Inc. (2005) de forma de identificar diferencias intra e inter grupos.

Para llevar a cabo un análisis más exhaustivo de los datos recopilados, se realizó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, lo que derivó en la utilización de pruebas no paramétricas (datos sin una distribución normal), esto con el propósito de identificar la posible existencia de variaciones o



diferencias dentro de los mismos grupos o entre grupos (prueba de comparaciones múltiples). Este procedimiento se llevó a cabo utilizando el software R versión i386 3.0.3 (2013).

Para lograr diferenciar salmones silvestres de escapados se utilizaron principalmente criterios morfológicos.

Los ejemplares de salmonídeos capturados en sectores donde existen centros de cultivo activos en los tiempos de muestreo (salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico,) se diferenciaron utilizando criterios morfológicos basados en el deterioro dado por las condiciones de cultivo. Estos efectos aparecen en las aletas pectoral, dorsal y anal, en el opérculo y la nariz entre otras, aspectos descritos en la literatura (Soto et al. 1997; Cadrin et al. 2005).

Para la clasificación, también se consideró la presencia o ausencia de erosiones en las aletas, descamación y parásitos, además del factor de condición, madurez gonadal, tipo de alimento y cantidad de grasa (Orellana, 2010).

Adicionalmente, se obtuvo información relacionada con la dieta de los peces capturados y se identificó el tamaño y etapa del ciclo de vida de éstos.

Respecto de análisis de riesgo, se diseñó el modelo de análisis de riesgo a implementar en base a la metodología establecida por la Organización Mundial de Salud Animal (OIE, 2009).

Para la determinación de los factores de riesgo que establecen la positividad a *Piscirickettsia salmonis* de pooles de órganos obtenidos de peces silvestres/asilvestrados capturados en cercanías a centros de cultivo, se procedió a realizar un análisis de regresión logística.

En primera instancia se realizaron análisis univariados para detectar asociaciones incondicionales ( $p \leq 0,25$ ) de las variables independientes o predictivas con la variable respuesta (dependiente). Posteriormente las variables que presentaron una asociación de este tipo fueron incorporadas en un modelo de regresión logística multivariado (modelo condicional). Las variables que resultaron ser no significativas en este modelo condicional fueron eliminadas de forma secuencial mediante un procedimiento hacia adelante (forward elimination), reteniendo aquellas variables con un valor de  $p$  menor a 0,05 y comparando por medio de LRT (Likelihood ratio test) los modelos, incluyendo las posibles interacciones entre una variable y otra (Dohoo et al., 2003). Este procedimiento se llevó a cabo mediante el uso de software R versión i386 3.0.3 (2013).

Finalmente, para identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas puedan actuar como reservorio de una EAR, se realizaron pruebas de desafío de *Eleginops maclovinus* utilizando un modelo bidireccional, que consideró la incorporación de 15 ejemplares de Róbalos (*Eleginops*

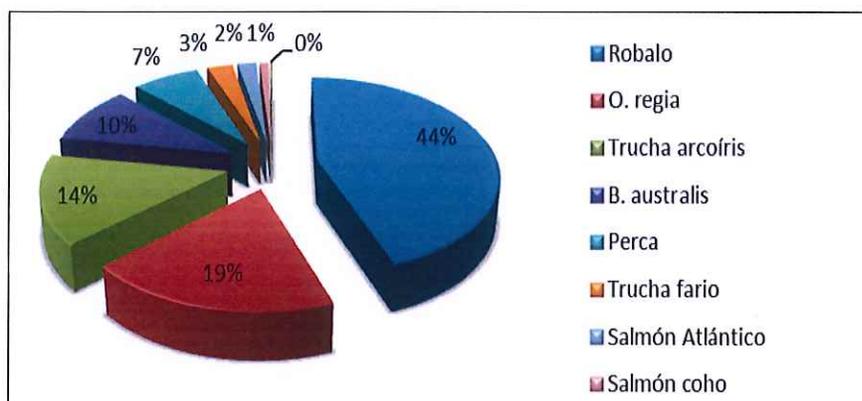


*maclovinus*) y 15 ejemplares de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) que fueron utilizados como troyano, inoculados con una dosis de inóculo de *P. salmonis* de patogenicidad conocida y previamente titulada. Se utilizó un segundo estanque control para cada especie, al que se incorporaron 15 ejemplares de cada especie, según corresponda, inoculados con suero fisiológico. Los desafíos ejecutados fueron Troyano Trucha – Róbalo sin inóculo, Troyano Róbalo – Trucha sin inóculo y Troyano Trucha – Trucha sin inóculo. Los peces fueron mantenidos en los estanques por 60 días post inoculación.

### 3. RESULTADOS

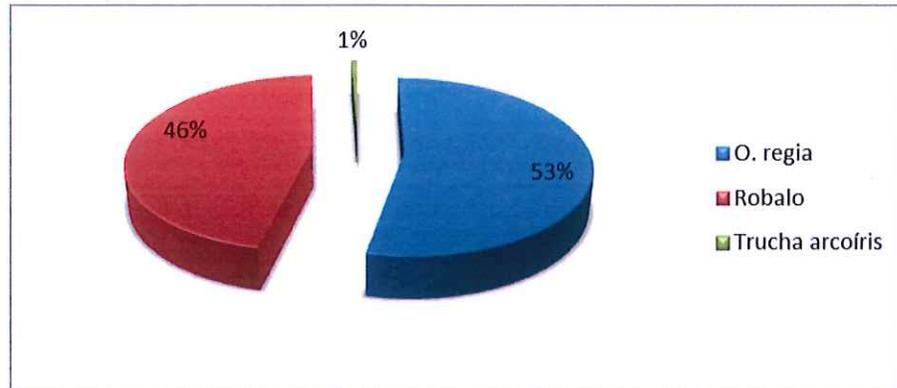
La pesca de investigación llevada a cabo con las dos campañas de captura de peces silvestres/asilvestrados efectuadas, logró abarcar la totalidad de las 18 zonas geográficas estipuladas dentro del proyecto en las regiones de Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, con un total de 3040 individuos capturados y un promedio de 160 peces por zona geográfica.

Del total de peces muestreados en las cuatro regiones estipuladas dentro del marco de estudio (Región de Los Ríos, Región de Los Lagos, Región de Aysén y Región de Magallanes), el 44% (1352) de ellos correspondió a la especie robalo, siendo O. regia (Pejerrey de mar) con un 19% (570) y trucha arcoíris con 14% (439) la segunda y tercer especie más capturada respectivamente. Aquellas con el menor número de capturas con menos del 1% fueron salmón Chinook y salmón coho (Figura 1).

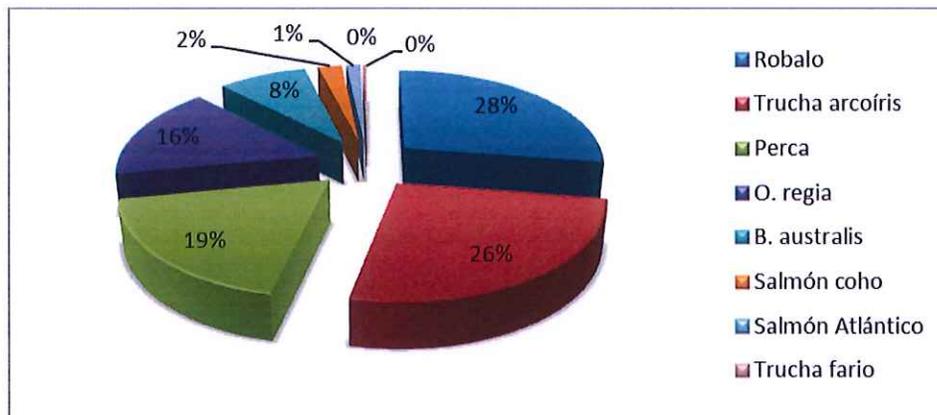


**Figura 1.** Número total de peces capturados en la Región de Los Ríos, Región de Los Lagos, Región de Aysén y Región de Magallanes según especie.

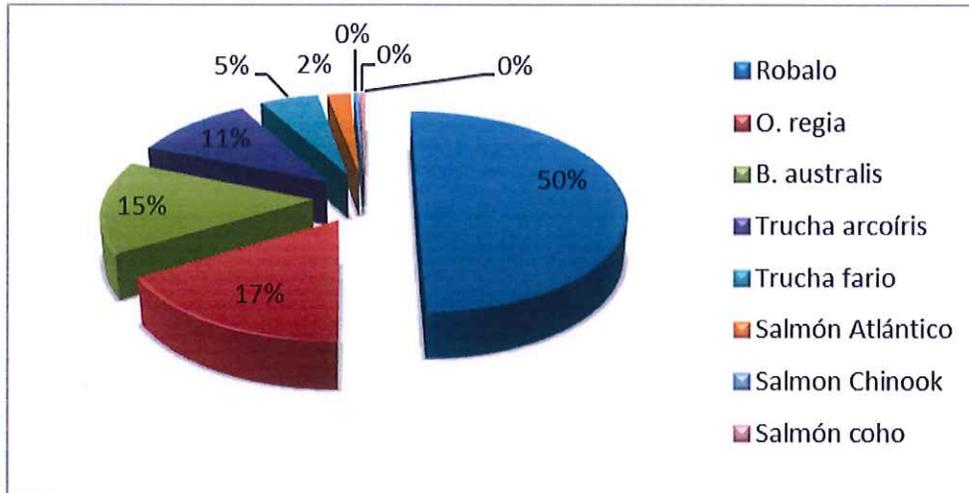
La información anterior disgregada por región se presenta en las siguientes figuras.



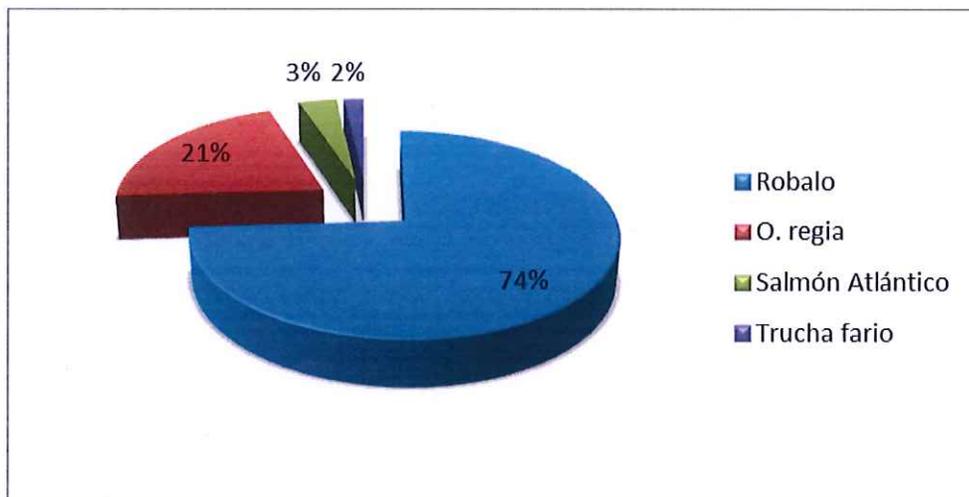
**Figura 2.** Número de peces capturados en Región de Los Ríos según especie.



**Figura 3.** Número de peces capturados en Región de Los Lagos según especie

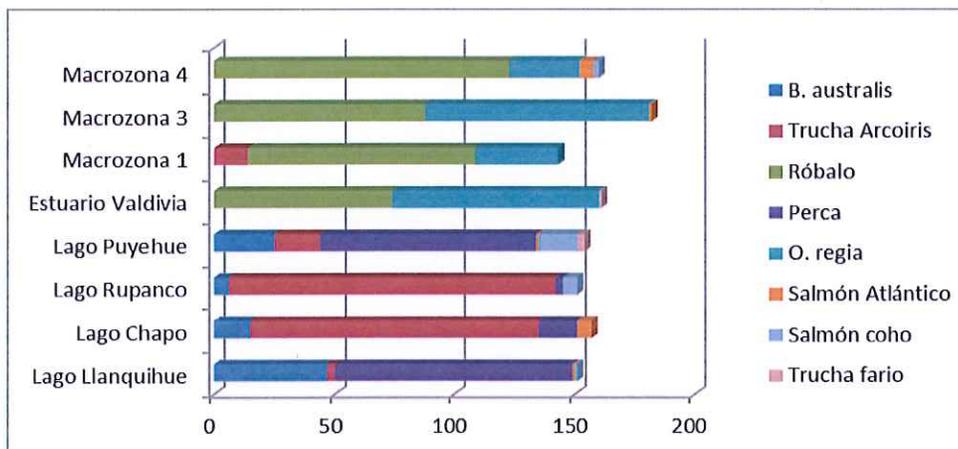


**Figura 4.** Número de peces capturados en Región de Aysén según especie.

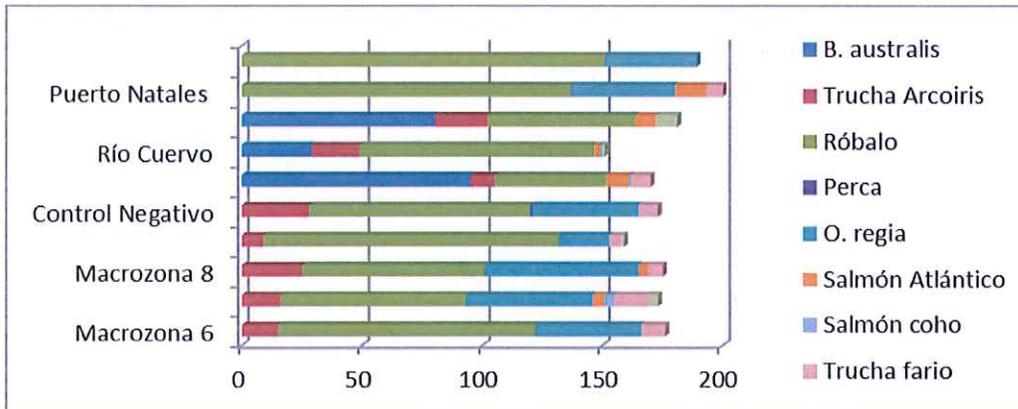


**Figura 5.** Número de peces capturados en la Región de Magallanes según especie.

En relación a la distribución del número de peces capturados para cada zona geográfica para las cuatro regiones estudiadas, los lugares que presentaron el más alto número de peces capturados fueron, en primer lugar, la zona geográfica de Puerto Natales con 200 peces, seguido de Punta Arenas y Macrozona 3, con 189 y 182 individuos capturados respectivamente, luego aparece la zonas del río Cónдор (181), Macrozona 6 (177), Macrozona 8 (175) y Control Negativo (173). Aquellas zonas de muestreo donde se obtuvo la menor cantidad de capturas fueron el Lago Llanquihue y Lago Rupanco, ambas con 151 especies capturadas. En las siguientes figuras, se detalla la distribución de la frecuencia de captura por especie para cada zona geográfica muestreada (Figuras 6 y 7).



**Figura 6.** Número de peces capturados por zona geográfica y especie en la Región de Los Ríos y Región de Los Lagos.



**Figura 7.** Número de peces capturados por zona geográfica y especie en la Región de Aysén y Región de Magallanes.

En relación a las muestras analizadas, se encontraron resultados negativos para los análisis de PCR de: ISAV, Alfavirus, IHNv, VHSV, OMv, EHNv, y *R. salmoninarum*, independiente de la zona geográfica de captura y especie a la que pertenecían. Los resultados positivos correspondieron principalmente a *P. salmonis*, además de muestras positivas a *F. psychrophilum*, IPNv y PRV.

La zona de Macrozona 4 (Chiloé Sur) es la que presenta la mayor prevalencia de pools positivos para *P. salmonis* con un 25%, encontrándose la prevalencia poblacional con un nivel de confianza de 95%, entre 18,07% y 31,93%. La segunda zona que presentó el más alto nivel de prevalencia fue la Macrozona 3 (Chiloé Central) con un 24,54% (IC 15,11% - 33,97%) y luego la zona del Estuario de Valdivia con un 14,38% (IC 8,76 - 19,99%). Por otra parte las zonas donde se obtuvieron los niveles de prevalencia más baja fueron en la Macrozona 8 (Fiordo Puyuhuapi y Raúl Marín Balmaceda) con un 1,85% (IC 0,37% - 4,08%) y Puerto Natales con 2,56% (IC 0,04% - 5,17%). Siendo un total de ocho áreas geográficas las que resultaron con positividad a *P. salmonis*, y solo tres de las restantes no presentaron ningún pool de órganos positivos a este agente.

Respecto de la distribución de frecuencias para *P. salmonis* por especies de peces, las únicas especies que resultaron positivas a la presencia de *P. salmonis* fueron el robalo, pejerrey de mar (*O. regia*) y salmón del Atlántico. En el caso de la primera especie esta presentó una prevalencia de 6,61% (74/1119) con una prevalencia ponderada de 4,22%. Respecto a la proporción de pools positivos encontrada en la especie *O. regia*, este fue del orden del 10,16% (44/433), obteniéndose una prevalencia ponderada de 2,51%. Para el caso de salmón del Atlántico la prevalencia arrojó un



6,67% y una prevalencia ponderada de 0,11%. El número total de muestras analizadas para esta especie bacteriana fue 1753, con una prevalencia para *P. salmonis* de 6,85%.

En el caso de las prevalencias encontradas para el virus IPNV, del total de zonas de donde se extrajeron muestras para el análisis de este virus, sólo cinco de ellas presentaron positividad a este agente. La Macrozona 4 y el Lago Rupanco fueron las zonas que presentaron el mayor número de muestras positivas y por ende de prevalencia con un 4,17% (IC 0,21-7,39) y 3,97 (IC 0,79-715) respectivamente. En las restantes tres zonas (Fiordo Aysén, Río Cuervo, Punta Arenas), sólo se detectó una muestra positiva IPNV en cada una de ellas con un valor de prevalencia cercano al 0,7%.

En cuanto a la distribución de frecuencias para IPNV por especies, las únicas especies que resultaron positivas a la presencia de IPNV fueron el robalo, trucha arcoíris y salmón del Atlántico. Del total de muestras analizadas (2390), sólo 9 de ellas resultaron positivas a IPNV, presentándose 7 en la especie robalo, que le da un 0,54% (7/1287) de prevalencia y 0,29% de prevalencia ponderada. La trucha arcoíris también arrojó 7 muestras positivas con un 1,6% (7/434) de prevalencia y 0,29% de prevalencia ponderada. En la otra especie solo se detectó una muestra positiva, entregando una prevalencia de 1,67% (1/59) y prevalencia ponderada de 0,04%. La prevalencia general para este agente viral fue de 0,63% (15/2390).

Además de las muestras positivas encontradas a *P. salmonis* e IPNV, hubo una muestra positiva a Piscine reovirus (PRV) en la zona del río Cuervo en la especie salmón del Atlántico, correspondiendo a un 3,03% de prevalencia (IC 0,2%-5,86), siendo la primera vez que se desde que se implementó la técnica de análisis en el año 2012.

Por otra parte se pudo pesquisar en el Lago Rupanco peces positivos a *F. psychrophilum*, donde cuatro muestras resultaron positivas, resultando en un 2,65% de prevalencia (IC 0-5,3%) para esta zona. De las cuatro muestras positivas, tres de ellas fueron encontradas en trucha arcoíris y una en perca trucha.

Respecto del análisis de factores de riesgo, mediante un modelo de regresión logística, resultó que ciertas zonas donde se capturaron los peces, algunas especies y brotes de Piscirickettsiosis en los centros de cultivo previo y durante el muestreo de peces silvestres, fueron factores de riesgo para la positividad a *P. salmonis* en individuos silvestres/asilvestrados. La zona de Macrozona 3 fue la que presentó la probabilidad más alta respecto de la categoría de referencia (Control Negativo) con un valor de odds ratio de 3,89.



Por otro lado, en cuanto al análisis de riesgo utilizando la opinión de un panel de expertos, para definir las probabilidades de transmisión para las zonas con que no se cuenta con información a la fecha, los resultados indican que, la Macrozona 3 con un 4,16% (1,90% - 7,26%), macrozona 4 con 2,99% (1,33% – 5,37%), Estuario de Valdivia con 2,49% (1,08% – 4,49%) y Macrozona 1 con riesgo estimado de 1,59% (0,65% - 3,02%), son las zonas de mayor riesgo de transmisión de *P. salmonis* entre poblaciones silvestres y de cultivo.

La mayor correlación con el riesgo de transmisión de *P. salmonis* entre peces silvestres y de cultivo fueron la mortalidad, con valores entre 0,6 y 0,7.

La liberación del agente al medio es la que presenta los valores más bajos de correlación, siendo muy similares entre zonas, alrededor del 0,3.

El bajo impacto que tendría la infección con *P. salmonis* en peces silvestres, así como las consecuencias generadas a partir de ésta sobre las poblaciones cultivadas, se puede asociar con los bajos niveles de probabilidad asignados por el panel de expertos a los eventos relativos al riesgo de transmisión del agente desde los peces silvestres. Por esta razón es relevante la realización de estudios que permitan determinar de manera concreta, los niveles de probabilidad de estos eventos, y así tener estimaciones de riesgo con menores niveles de incertidumbre.

#### 4. CONCLUSIONES

1. Finalizadas las dos campañas de muestreo en las 18 zonas distribuidas en las regiones de Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, se logró obtener un total de 3040 individuos capturados y un promedio de 168 peces por zona geográfica.
2. De la totalidad de los peces capturados, un 20,1% (612 ejemplares), correspondieron a especies salmonídeas.
3. La especie capturada con mayor frecuencia respecto de la totalidad de las cuatro regiones que abarcó este proyecto fue el Róbalo con 40% (1352), seguido de O. regia con un 19% (570) y la trucha arcoíris con un 14% (439).
4. Para la Región de Los Ríos y Los Lagos la mayor cantidad de peces capturados fue en la Macrozona 3 (182) y el menor número en el Estuario de Valdivia con 161 individuos. El más alto número de peces muestreados en la Región de Aysén se encontró en la zona del río Cóndor y la Macrozona 6 con 181 y 177 peces respectivamente. En la zona de la Región de Magallanes donde se capturaron peces con mayor frecuencia fue en el sector de Puerto Natales (200).
5. De las Enfermedades de Alto Riesgo pesqueras investigadas en el marco del presente proyecto de investigación, se detectó la presencia de individuos positivos a los agentes patógenos *Piscirickettsia salmonis*, *Flavobacterium psychrophilum*, PRv e IPNv.
6. Las zonas de Macrozona 4 (25%), Macrozona 3 (24,5%) y Estuario de Valdivia (14,38%) son las de más alta prevalencia para *P. salmonis*.
7. Sólo las zonas de Fiordo Aysén (0,68%), Río Cuervo (0,68%), Macrozona 4 (4,17%) y Punta Arenas (0,61%) presentaron muestras positivas a IPN virus.
8. Se detectó una muestra positiva a Piscine reovirus (PRv) por primera vez en el marco de este proyecto, en la especie salmón del Atlántico, en la zona del Río Cuervo.
9. Cuatro muestras positivas a *F. psychrophilum* se encontraron en la zona del Lago Rupanco, siendo el único lugar con pools positivos a este agente, arrojando un 2,65% de prevalencia en este lago.



10. Las únicas especies que presentaron positividad a *P. salmonis* fueron el robalo con un 6,61% y una prevalencia ponderada de 4,22%, *O. regia* con un 10,16% y una prevalencia ponderada de 2,51%, y salmón del Atlántico con un 6,67% de prevalencia y un 0,11% de prevalencia ponderada.
11. En el caso de IPNV, de las nueve muestras positivas, siete de ellas correspondieron a robalo, con un 0,29% de prevalencia ponderada y las otras dos a salmón del Atlántico y trucha arcoíris, ambas con un 0,04% de prevalencia ponderada.
12. Para las muestras positivas de *F. psychrophilum*, las especies correspondieron a trucha y trucha arcoíris.
13. De la totalidad de peces muestreados, prácticamente en la mitad de ellos hubo una ausencia de contenido gástrico (25%) o estos fueron algún tipo de alga (28%). El otro tipo de contenido que más se pudo observar fue la presencia de contenido líquido en los peces capturados (14%) y diferentes especies de crustáceos (7%).
14. En cuanto a la presencia de pellet en los peces capturados, la proporción del total correspondió a un 7% (212). Encontrándose en su mayoría en la especie trucha arcoíris y en zonas de agua dulce (Lago Rupanco y Lago Chapo) y en la zona del estuario de Valdivia.
15. La mayor media del factor de condición en la Región de Los Lagos se encontró en el Lago Rupanco con 1,502 y Lago Puyehue con 1,308, en el caso de la Región de Aysén el más alto valor del factor de condición fue de 1,040 en el río Cuervo y de 1,053 en Puerto Natales en la Región de Magallanes. Los menores valores promedio calculados para esta variable se observan en las zonas del río Aysén con una valor de 0,921, el Estuario de Valdivia con 0,922, Control Negativo 0,956, río Cóndor con 0,965 y Macrozona 3 y Macrozona 8 con un promedio del factor de condición de 0,980 y 0,986 respectivamente.
16. Las zonas con mayor dispersión del factor de condición se observaron en el Estuario de Valdivia en la Región de Los Ríos, Lago Rupanco, Lago Puyehue y Macrozona 3 en la Región de Los Lagos, el sector de Control Negativo en la Región de Aysén y Punta Arenas para el caso de Región de Magallanes.

17. La perca trucha (1,382), el salmón Chinook (1,352) y la trucha arcoíris (1,303) son las especies con el mayor promedio del factor de condición, siendo las especies *O. regia* y *B. australis* las que presentaron el peor factor de condición con 0,797 y 0,902 respectivamente.
18. En cuanto a la madurez gonadal de las especies salmonídeas, el mayor porcentaje se observó dentro de la categoría de Inmaduro, con un 49% del total de peces capturados.
19. Macrozona 3 con un 4,16% (1,90% - 7,26%), Macrozona 4 con 2,99% (1,33% - 5,37%), Estuario de Valdivia con 2,49% (1,08% - 4,49%) y Macrozona 1 con riesgo estimado de 1,59% (0,65% - 3,02%), son las zonas de mayor riesgo de transmisión de *P. salmonis* entre poblaciones silvestres y de cultivo.
20. Los lugares de menor riesgo de se observaron en la Macrozona 8 con tan sólo un 0,41% (0,10% - 1,00%) y Control Negativo con un valor de 0,83% (0,28% - 1,78%).
21. El mayor riesgo de mortalidad se evidencia en las zonas de Macrozona 3 (0,47%), Macrozona 4 (0,34%) y Estuario de Valdivia (0,28%). Las de menor mortalidad se encontrarían en Control Negativo y Puerto Natales, ambas con un riesgo de mortalidad casi nulo de 0,09%.
22. El bajo impacto que tendría la infección con *P. salmonis* en peces silvestres así como las consecuencias generadas a partir de esta sobre las poblaciones cultivadas, se puede asociar con los bajos niveles de probabilidad asignados por el panel de expertos.
23. La mayor correlación con el riesgo de transmisión de *P. salmonis* entre peces silvestres y de cultivo fueron la mortalidad, con valores entre 0,6 y 0,7.
24. Las otras variables que más correlación presentan fueron el contacto y la prevalencia de cada zona.
25. La liberación del agente al medio es la que presenta los valores más bajos de correlación, siendo muy similares entre zonas, alrededor del 0,3.
26. Ciertas zonas donde se capturaron los peces, algunas especies y brotes de Piscirickettsiosis en los centros de cultivo previo y durante el muestreo de peces silvestres, fueron factores de riesgo para la positividad a *P. salmonis* en individuos silvestres/asilvestrados.

27. La zona de Macrozona 3 fue la que presentó la probabilidad más alta respecto de la categoría de referencia (Control Negativo) con un valor de odds ratio de 3,89.
28. Macrozona 4 presenta una probabilidad de 1,945 veces más de presentar pooles positivos que Control Negativo.
29. Róbalo es la especie que presenta mayores probabilidades de obtener muestras positivas de *P. salmonis* (OR=3,590) en relación a otras especies (salmones, truchas, percas).
30. Muestras obtenidas de *O. regia* tienen 4,229 más probabilidades de ser positivas a *P. salmonis* que especies como salmones, truchas y percas.
31. Brotes de Piscirickettsiosis en centros de cultivo cercanos a donde se tomó la muestra es un factor de riesgo (OR=1,125) para la presentación de peces silvestres/asilvestrados positivos a *P. salmonis*.
32. Respecto del ensayo de cohabitación entre truchas y róbalo, se obtuvo una curva de mortalidad esperada para las truchas troyanas, obteniéndose el 100% de mortalidad atribuida a *P. salmonis* (confirmado por el análisis anatomopatológico y PCR), al día 25 pi.
33. No se produjo mortalidad de ningún róbalo troyano a lo largo del desafío, pese a que fueron desafiados con el mismo inóculo que las truchas troyanas.
34. No se produjo mortalidad de los peces cohabitantes de ninguna de las 2 especies en estudio.
35. En el análisis anatomopatológico de los peces cohabitantes (ambas especies), no se observó signología asociada a *P. salmonis*.
36. Los resultados de IFAT e IHQ resultaron negativos para los grupos cohabitantes (ambas especies), a diferencia de los resultados de PCR que resultaron positivos, pero con cargas bacterianas bajas.
37. No fue posible identificar y evaluar la capacidad de que especies no salmonídeas puedan actuar como reservorio de una EAR mediante el desafío por cohabitación entre truchas y róbalo, ya que no se desarrolló la enfermedad en los peces cohabitantes del grupo control positivo.



## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cadrin S., K.D. Friedland & J. Waldman. 2005.** Stock identification methods: an overview. In S. Cadrin, K. D. Friedland, & J. Waldman, eds. Stock identification methods. San Diego, California: Elsevier Academic Press, pp. 36.
- Campalans B., P. Rojas, J.I. Sepúlveda, R. Castro, I. Guerrero & J. Pascual. 1995.** Programa de vigilancia de salmonídeos cultivados en la zona sur austral. Informe Final FIP N° 1993 – 29, Universidad Católica de Valparaíso: 235 pp.
- Dohoo I., W. Martin and H. Stryhn, 2003.** Veterinary Epidemiologic Research. AVC, Prince Edward Island, pp: 706.
- Gaggero A., H. Castro y A.M. Sandino. 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. *Journal of fish Dis.* 18: 277 -279.
- Garcés L.H., J. Larenas, P.A. Smith, S. Sandino, C.N. Lannan & J.L. Fryer. 1991.** Infectivity of a rickettsia isolated from coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Disease of Aquatic Organism* 11: 93-97.
- Intesal Aquatic Health & Universidad Austral de Chile. 2000.** Catastro de enfermedades de peces nativos circundantes a centros de cultivo de salmónidos. Informe final FIP N° 1997 – 38. Instituto Tecnológico del Salmón: 75 pp.
- Murray A.G., C.D. Busby & D.L. Bruno. 2003.** Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Scottish Atlantic Salmon Farms, 1996 – 2001. *Emerging Infectious Disease* 9: 455 - 460.
- Orellana G. 2010.** Evaluación de hábitos alimenticios de salmónidos escapados y asilvestrados de vida libre en ríos y lagos del sur de Chile. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile. 62 pp.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. 2009.** Aquatic Animal Health code.
- Soto D. & F. Norambuena. 2004.** Evaluation of salmon farming effects on marine systems in the inner seas of southern Chile; a large-scale mensurative experiment. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 493-501.



**Soto D., F. Jara & C. Moreno. 2001.** Escaped salmon in the inner seas, Southern Chile: facing ecological and social conflicts. *Ecological Applications* 11: 1750–1762.

**Soto D., F. Jara, A. Guerrero, C. Godoy, X. Ávila, C. Moreno, E.J. Niklitschek, C. Molinet & J.E. Aedo. 1997.** Evaluación de salmónidos de vida libre existentes en las aguas interiores de las regiones X y XI. Informe Final Proyecto FIP 9531, Puerto Montt, Chile: Universidad Austral de Chile.



**EUGENIO ZAMORANO VILLALOBOS**  
Jefe División de Acuicultura

*AP Maag*  
ABP/MAAG/maag.