



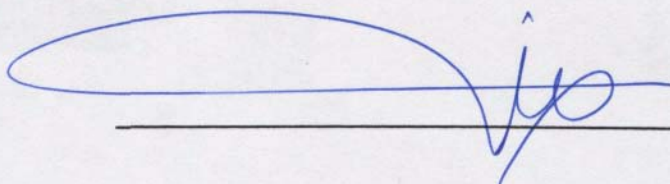
**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**Facultad de Ciencias Veterinarias**  
**Instituto de Patología Animal**  
**Ictiopatología**

**Presencia de Leucemia Linfoblástica en Salmonideos de cultivo  
en la Décima Región de Chile**

**Tesis de grado presentada como parte de los  
requisitos para optar al Grado de LICENCIADO  
EN MEDICINA VETERINARIA**

**Marcos Alberto Soto Rivera**  
**Valdivia Chile 1997**

**PROFESOR PATROCINANTE**

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, sweeping loop followed by a vertical stroke and a horizontal stroke.

**PROFESOR COPATROCINANTE**

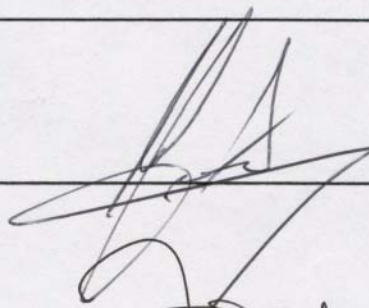
---

**COLABORADOR**

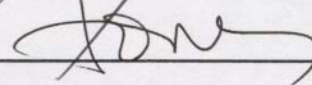
---

**PROFESORES CALIFICADORES**

---

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized initial 'A' and a horizontal stroke.

---

A handwritten signature in black ink, appearing to be a name written in a cursive style.

**FECHA DE APROBACION**

---

**A KA.TI**

# ÍNDICE

	<b>Pag.</b>
<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. SUMMARY.....</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>7</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>16</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>21</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>22</b>

## 1. RESUMEN

Antecedentes de una nueva enfermedad diagnosticada como Leucemia Linfoblástica se presentan desde 1994 en salmónidos de cultivo en Chile, afectando principalmente a salmón del atlántico (*Salmo salar*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). Esta situación motiva la realización de un muestreo dirigido durante los meses de mayo a agosto de 1996 (temporada otoño-invierno), como parte de un estudio a largo plazo con el fin de conocer y caracterizar esta enfermedad.

Un total de 24 centros de cultivo en fase marina de la X región fueron visitados para la recolección de eces clínicamente sospechosos a Leucemia Linfoblástica. Se realizaron necropsias, estudios sanguíneos, y tinciones de Gram y Giemsa en tejidos y frotis sanguíneos respectivamente. Asimismo se seleccionaron muestras para estudio histopatológico y microscopía electrónica.

De un total de 275 peces analizados, 6 (2,2%) peces fueron identificados con la enfermedad mediante diagnóstico histológico, los cuales provenían de Puerto Montt-Calbuco, y Chiloé Norte, cinco (1,8%) de los peces afectados eran salmónes del atlántico y uno (0,4%) salmón coho. Se caracterizaron por su coloración oscura, natación errática y superficial, palidez branquial y exoftalmia bilateral. En la necropsia se evidenció esplenomegalia, renomegalia y acumulación de líquido en el estómago. Los exámenes realizados arrojaron los siguientes resultados: aumento de capa flogística, leucocitosis y linfoblastosis. Al estudio histopatológico se apreció infiltración de células identificadas como linfoblastos en el riñón, ocasionalmente estas células presentaron cuerpos de inclusión intranucleares que mediante microscopía electrónica se definieron como esporas Gram+, identificadas como diversos estadios de un parásito Microsporidio denominado *Nucleospora salmonis*. Asimismo se observaron partículas virales similares a retrovirus en 50% de los peces con Leucemia Linfoblástica,

Como conclusión, la enfermedad diagnosticada corresponde clínicamente a una enfermedad neoplásica observada desde 1988 en salmónes chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) en Canadá y Estados Unidos denominada "Anemia marina" o "Leucemia Plasmacitoídea".

## 2. SUMMARY

Evidences of a new disease diagnosticated fish as "Lymphoblastic Leukemia" has presented since 1994 in cultivated salmonids in Chile, affecting mainly Atlantic Salmon (*Salmo Salar*), Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). This situation motivate the realization of a directed sample between May an August of 1996 (autumn-winter season), as a part of a long-term with the end of know and characterize this disease

Twenty four culture centers of the X region in marine stage were visited; recollecting fishes clinically suspects to Linfoblastic Leukemia. The necropsy, blood studies and Gram and Giemsa stains of tissues and blood smears were examined. Samples for hystopathologic studies and electronic microscopy studies were selected too.

From 275 analyzed fishes, in 6 (2,2%) were identificated the disease by hystologic diagnostic, those were sampled in the Puerto Montt-Calbuco and north Chiloe zones; 5 (1,8%) were Atlantic salmon and 1 (0,4%) was Coho salmon. The characteristics were dark color, erratic and superficial swimming, pale gills and bilateral exophthalmia. The necropsy showed esplenomegalia, renomegalia and liquid accumulation in the stomach. The test showed flogistic cape increased, leukocytosis and linfoblastosis. At the hystopathologic study lymphoblastic cells in the kidney were observed, occasionally this cells present intranuclear inclusion bodies of viral particles like retrovirus. In the 50 % of the fishes with Linfoblastic Leukemia, the presence of Gram+ spores identified as species of microspora parasite named *Nuceospora salmonis*.

In conclusion, this disease corresponds to a neoplastic disease observed since 1988 in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Canada and the United States named "Marine Anemia" or "Plasmacytoid Leukemia".

Key words: Linfoblastic Leukemia, salmoniculture, ictiopathology, retrovirus, Nucleospora salmonis

### 3. INTRODUCCION

La industria salmonera en Chile, desde hace una década presenta un sostenido crecimiento, siendo una de las actividades más pujantes del sector acuícola. Este desarrollo se ha visto sustentado por la abundancia de sitios en agua dulce y mar que poseen características favorables para los cultivos, dentro de las cuales se destacan la temperatura y luminosidad, ventajas comparativas que explican porque el salmón chileno experimenta mejores tasas de crecimiento que el salmón producido en el hemisferio norte (Méndez y Vidal, 1994).

Se puede destacar que por las exportaciones generadas por la acuicultura, en una superficie total de porciones de agua y fondo que no superan el 1,1% de la zona delimitada por la primera milla marina, el país percibió US\$ 552.472.000 durante 1995, cifra que representó el 31% de las exportaciones del sector pesquero nacional. En el ámbito internacional, desde 1992, el país ostenta el segundo lugar a nivel mundial en la exportación de salmón cultivado (Bravo, 1993; Méndez y Vidal, 1994), aportando un poco más del 17% de la producción mundial total (Infante<sup>1</sup>, 1996).

La industria nacional ha buscado aumentar su competitividad a través de la reducción de costos, objetivo que involucra mejorar las tasas de conversión de alimento y disminuir las tasas de mortalidad. Es en este último punto donde el efecto de enfermedades constituye la variable que mayor trastorno puede provocar en los cultivos de salmónidos. Al respecto se puede señalar que la ventaja histórica de Chile, como poseedor de un ambiente libre de ictiopatologías se ha ido perdiendo paulatinamente (Méndez y Munita, 1989), originado en parte por el alto nivel de importación de ovas que presenta Chile (Bravo, 1992; Mardones y Vega, 1993; Méndez y Vidal, 1994), en su mayoría desde países que presentan enfermedades infectocontagiosas y otras de etiología desconocida, las que causan altas mortalidades y grandes pérdidas económicas cuando se establecen en los nuevos ecosistemas (Macchiavello, 1992; Bravo, 1993). Además la presencia en el medio acuático de otros animales que conviven con el cultivo (peces nativos, aves y mamíferos acuáticos), sin duda establece una fuente de contagio y reservorio de enfermedades que debe ser considerada y estudiada (Bustos, 1991).

Recientemente se ha comunicado una enfermedad que provoca mortalidad en salmones de cultivo de la X región, en diferentes edades con manifestaciones clínicas inespecíficas como tumefacción renal y exoftalmia. Al estudio histopatológico se diagnosticó como "Leucemia Linfoblástica" (Cubillos<sup>2</sup>, 1997).

---

<sup>1</sup> Rodrigo Infante. 1996. Gerente General Asociación Productores de Salmón y Trucha de Chile A.G. Comunicación personal.

<sup>2</sup> Víctor Cubillos. 1997. Comunicación personal, Unidad de Anatomía Patológica de la facultad de Ciencias Veterinarias de la U.A.C.H..

Esta enfermedad, a la cual también se ha llamado Anemia Marina o Leucemia Plasmacitoídea (LP) causó severas pérdidas en peces de cultivo en British Columbia (Canadá). La enfermedad aparentemente de carácter neoplásico infecciosa (Stephen y col., 1995), fue reconocida a mediados de 1988 en peces de 2 a 4 Kg (Kent y Dawe, 1993), los cuales presentaron una mortalidad acumulada de hasta un 50%, hecho que se repitió en la siguiente temporada con mortalidad de un 80%. Una enfermedad similar ha sido diagnosticada en salmones chinook en fase de agua dulce en las regiones de Washington y California (USA), donde a partir de octubre y noviembre de 1987 se han producido pérdidas en la producción (Morrison y col., 1990).

La etiología de LP no ha sido determinada con claridad, sin embargo investigaciones realizadas sobre su mecanismo de transmisión, indican que la enfermedad es causada por un agente infeccioso. En este momento existen dos posibles etiologías para la enfermedad; un parásito microsporidio (*Enterocytozoon salmonis*) (Chilmonczyk y col., 1991), actualmente denominada *Nucleospora salmonis* y un virus oncogénico (retrovirus) (Hedrick y col., 1991).

Elston y col. (1987) determinaron que un parásito microsporidio intranuclear de células hematopoyéticas era el causante de anemia en salmones chinook de 3 años en fase marina en el estado de Washington, Estados Unidos. Similar enfermedad fue posteriormente diagnosticada en salmón chinook en fase de agua dulce en Washington (Morrison y col., 1990). En ambas ocasiones, tanto en peces adultos como en juveniles la signología se caracterizó por anemia, además de una severa y crónica linfoblastosis (Morrison y col., 1990), con signos de leucemia (Hedrick y col., 1990). Elston y col. (1987) propusieron que el principal tipo de célula involucrada era un precursor eritroide, al respecto, Morrison y col. (1990) determinaron a través de un detallado examen ultraestructural que la población celular más afectada era del tipo linfoblástico.

Los microsporidios han sido descritos como parásitos intracelulares obligados, los cuales, por su biología y organización conforman el Phylum Microspora. Por sus características ribosomales y ausencia de mitocondrias y peroxisomas, se les ha considerado como organismos primitivos, insertos entre las bacterias (procarióticos) y organismos eucarióticos. Estos miden entre 2 y 4 micrones, poseen una pared indivisa de dos láminas (una exospora y una endospora), y en su interior se encuentra el elemento plasmodial, el esporoplasma, que es la forma infectante del parásito. El esporoplasma presenta un núcleo y el tubo polar, el cual conforma un complejo filamento que se enrolla alrededor del parásito, siendo su parte anterior recta y conectada al saco polar ubicado en la extremidad anterior de la espora, justo donde la exospora se adelgaza. La sección recta del tubo polar está rodeada por el polaroplasto, conformada por membranas dispuestas en capas laxas o densas. Cuando la espora alcanza una célula hospedera, las membranas del polaroplasto se hinchan y provocan una intensa presión que determina la salida al exterior del tubo polar, el cual se estira y desenrolla en busca de la célula hospedera, a la cual penetra. Conseguido este objetivo, el esporoplasma avanza a través del tubo polar, quedando inoculado dentro de la célula infectada. Dentro de la célula hospedera los microsporidium se multiplican activamente y se produce primero una fase de divisiones binarias



o múltiples (merogonia), seguido de una fase de producción de esporas (esporogonia) (Spragge, 1977).

Los retrovirus son conocidos como agentes etiológicos de leucemia en vertebrados, y han sido asociados con procesos neoplásicos en peces (Eaton y col., 1993). Los retrovirus, surgen de membranas celulares y contienen una estructura central compuesto por un genoma de ácido ribonucleico (RNA). La característica más particular de un retrovirus es la polimerasa DNA, conocida como transcriptasa reversa (RT), que se encuentra en un complejo con el ARN en el núcleo viral y cataliza la transcripción del genoma RNA a una forma DNA (provirus). La forma DNA suele emigrar del citoplasma al núcleo y después de convertirse en una forma circular de doble hélice, se integra al DNA de la célula huésped, donde los genes virales podrán permanecer durante toda la vida de la célula. Como el provirus se duplica con el DNA celular durante la fase S del ciclo celular, los genes virales son transmitidos a las células hijas. Por lo tanto, la infección de un organismo por lo general dura toda la vida. Cuando el provirus se expresa, el RNA y las proteínas virales se encuentran en el citoplasma celular y se ensamblan en la membrana celular, donde forman yemas y liberan virus, completando el ciclo viral. A veces hay delección del provirus y esto puede ir seguido de la adquisición de secuencias celulares del huésped por elaboración normal o anormal de RNA. En consecuencia el virus formado con estas secuencias de nucleótidos recién adquiridas logra algunas propiedades diferentes a las del virus original (Harrison y col, 1994).

Un retrovirus, conocido como Salmon Leukemia Virus (SLV), fue aislado de riñón y tejido tumoral ocular de salmón chinook con LP (Eaton y col., 1993), al examen de los plasmoblastos mediante microscopía electrónica se revelaron partículas virales reconocibles como retrovirus de 105 a 125 nm de diámetro. Asimismo se ha encontrado un aumento de RT en tejidos de peces positivos a la enfermedad (Bowser, 1993).

Los peces afectados por esta enfermedad presentan natación errática y superficial, su aspecto es oscuro y presentan una marcada palidez de las branquias, cerca de un 20% demuestran una severa exoftalmia bilateral, lo cual se debe a una acumulación de tejido tumoral en el espacio periorbital (Kent y col, 1990). Al examen interno se observa la inflamación de bazo hígado y riñón, por otra parte, estos órganos internos además de páncreas y corazón presentan hemorragias petequiales. Algunos peces presentan ascitis con fluido claro o sanguinolento y aumento del grosor de las paredes intestinales. Histológicamente los plasmoblastos proliferan en prácticamente todos los tejidos examinados incluyendo riñón, bazo, hígado, grasa mesentérica, meninges, corazón, músculo esquelético, piel y ojos. En la región periorbital existe una masiva infiltración de plasmoblastos en el tejido conectivo y muscular (Kent y col., 1991).

Se han realizado experiencias en orden a determinar si existe la transmisión horizontal de la enfermedad, en las cuales se aprecia que peces sanos cultivados en compañía de peces positivos a LP en centros marinos no presentan la enfermedad, sin embargo, esto si ocurre en

centros de agua dulce. Esto supone que los smolt pueden ser portadores de la enfermedad y expresarla en forma clínica después de 6 meses de su ingreso al mar (Kent y col., 1993).

En cuanto a la transmisión interespecies de la enfermedad, se ha experimentado con la inoculación intraperitoneal de homogeneizado de riñón de salmón chinook afectado de LP, a través de la cual se ha logrado inducir la enfermedad. En salmón sockeye se observó signología inequívoca de LP, siendo la especie más afectada; en salmón del atlántico se obtuvieron signos histológicos que evidenciaron la enfermedad, por su parte los salmones coho y trucha arcoiris exhibieron una hiperplasia intersticial renal, además de presentar células similares a plasmoblastos en los mesenterios, sin embargo ambas especies no demostraron signos clínicos de la enfermedad (Newbound y Kent, 1991a; Baxa y col., 1992).

En cuanto al diagnóstico, éste se ha basado en hallazgos clínicos, los cuales no poseen gran sensibilidad debido a la complejidad que existe para diferenciar lesiones atribuibles a BKD o LP.

Un diagnóstico de laboratorio de carácter presuntivo puede obtenerse a través de tinciones en frotis de hígado y riñón. Es recomendable realizar el examen en un órgano no hematopoyético en busca de plasmoblastos. También se utilizan exámenes histológicos en los cuales se pesquisa infiltración de células blásticas en los diferentes órganos, pero existe el inconveniente que no se han validado criterios en cuanto al diagnóstico histológico mismo (Eaton y col., 1993).

Buscando un diagnóstico de carácter etiológico, se han desarrollado medios de cultivo y anticuerpos monoclonales para el parásito microsporidio (Wongtavatchi y col, 1993). Además de implementarse pruebas bioquímicas para medir niveles de RT en busca de indicios de retrovirus (Eaton y Kent, 1992).

El desarrollo futuro de esta actividad considera necesario alcanzar la máxima eficiencia del sistema, en los factores productivos y sanitarios especialmente, por lo cual resulta fundamental, la generación de información científica y tecnológica que permita sustentar el esfuerzo del sector.

Este estudio tiene como principal objetivo estudiar la presencia de Leucemia Linfoblástica en salmonídeos de cultivo intensivo en fase marina de la X región del país, determinando su etiología y definiendo clínicamente la enfermedad.

## 4. MATERIAL Y METODO

### 4.1. MATERIAL:

#### 4.1.1. Lugares de muestreo

Se visitaron 24 centros de cultivo intensivo de salmonídeos en fase marina, los cuales pertenecen a 13 empresas que operan en la décima región (Latitud 41° 20' S, Longitud 42° 10'S). La región en estudio fue dividida en 5 zonas (Tabla 1).

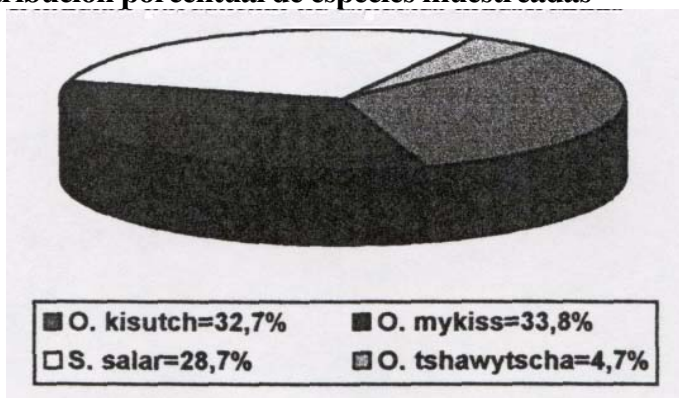
**Tabla N° 1: Distribución de los centros muestreados en la décima región según zona y área geográfica estudiada.**

Zona	Área Geográfica	Centros Muestreados
I	Puerto Montt – Calbuco	8
II	Fiordo Reloncaví - Ralún	2
III	Río Negro Hornopirén - Cholgo	4
IV	Chiloé Insular (Sector Norte)	7
V	Chiloé Insular (Sector Sur)	3
TOTAL CENTROS VISITADOS		24

#### 4.1.2. Material biológico

El material biológico consistió de 275 peces, los cuales fueron obtenidos mediante muestreo dirigido. Del total 90 (32,7 %) correspondieron a salmón coho (*O. kisutch*), 93 (33,8%) a trucha arcoiris (*O. mykiss*), 79 (28,7 %) a salmón del atlántico (*S. salar*) y 13 (4,7%) salmón chinook (*O. tshawytscha*) (Gráfico 1). El período de muestreo se extendió entre mayo de 1996 y agosto de 1996.

**Gráfico N°1: Distribución porcentual de especies muestreadas**



La distribución por zona de los peces muestreados corresponde a la descrita en la tabla N° 2, correspondiendo del total un 31,6% a la zona I, 10,9% a la zona II, 19,6% a la zona III, 28% zona IV y 9,8% a la zona V.

**Tabla N° 2: Distribución de la población de peces muestreados según zona y especie.**

Zona	<i>O. tshawytscha</i>		<i>O. kisutch</i>		<i>S. salar</i>		<i>O. mykiss</i>		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I	0	0%	7	2,54%	60	21,8%	20	7,3%	87	31,6%
II	0	0%	30	10,9%	0	0%	0	0%	30	10,9%
III	13	4,7%	14	5,1%	13	4,7%	14	5,1%	54	19,6%
IV	0	0%	33	12,0%	11	4,0%	33	12,0%	77	28,0%
VI	0	0%	6	2,1%	9	3,3%	12	4,4%	27	9,8%

#### 4.1.3. Material de laboratorio

Se utilizaron las dependencias y materiales del Laboratorio de Ictiopatología, en el cual se realizaron las necropsias, tinciones Gram, Giemsa y microhematocritos. Las muestras para el estudio histopatológico fueron remitidas al Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, y las muestras para microscopía electrónica fueron procesadas y examinadas en el Instituto de Histología de la Facultad de Medicina de la misma universidad.

## 4.2. METODO:

### 4.2.1. Obtención de muestras

Se realizó un muestreo dirigido de peces sospechosos (orillados, oscuros, de natación superficial y moribundos) de los cuales se seleccionaron de 8 a 10 peces por especie de cada centro visitado, estos fueron sacrificados por asfixia. Posteriormente fueron identificados y examinados obteniéndose muestras de tejidos y órganos.

### 4.2.2. Procesamiento de las muestras

#### 4.2.2.1. Examen clínico externo

Los peces muestreados fueron sometidos a un cuidadoso examen externo, en el cual se anotó peso y largo de los individuos, realizándose a su vez una descripción macroscópica de las alteraciones externas de piel, aletas, ojos y branquias, registrándose toda esa información en una base de datos (planilla electrónica).

#### **4.2.2.2. Examen clínico interno**

Realizado el examen externo, se procedió a la necropsia de los peces de acuerdo al Fish Health Blue Book (Amos, 1985) y al Nordic Manual for the Surveillance and Diagnosis of Diseases in Farmed Salmonids (Midtlyng y col., 1992). Se desinfectó la superficie externa de los peces con etanol 75% y luego se realizó un corte ventral a las aletas pectorales a nivel de la línea medio ventral en sentido caudal hasta llegar al poro anal, luego el corte prosiguió en sentido dorso craneal hasta llegar al opérculo, para luego seguir en sentido ventral hasta alcanzar el inicio del primer corte, con lo cual se retiró la musculatura del flanco izquierdo, dejando los órganos expuestos al observador. Se examinó cada órgano de la cavidad abdominal (hígado, bazo, riñón, estómago, intestino, vejiga natatoria, órganos de la reproducción, vesícula biliar, grasa perivisceral y musculatura), registrándose las alteraciones observadas en una base de datos.

#### **4.2.2.3. Estudio sanguíneo**

Mediante punción caudal, se obtuvo la sangre con la cual se realizaron frotis y microhematocritos. Los frotis fueron teñidos utilizando la tinción de Giemsa y los microhematocritos centrifugados durante 5 minutos a 12000 r.p.m. La lectura de cada tubo se realizó mediante tablas de referencia, obteniéndose el porcentaje de volumen globular aglomerado (VGA) y el grosor de la capa flogística. Este método permitió hacer una apreciación indirecta del número de leucocitos totales, considerando un valor dado para animales domésticos, en la cual una parte equivale aproximadamente a 8000 leucocitos/ml (Wittwer y Böhmwald, 1983). Se consideraron como peces anémicos a los que presentaron un  $VGA < 34\%$  (Stoskopf, 1993).

#### **4.2.2.4. Tinciones de Gram y Giemsa**

De cada ejemplar muestreado se realizaron frotis e improntas en duplicado de tejido hepático, esplénico, renal y cerebral, los cuales fueron fijados al calor y metanol. Posteriormente fueron teñidos utilizando tinciones de Giemsa y Gram, siendo observados al microscopio óptico con objetivo 100x con la finalidad de determinar la presencia de células linfoblásticas y de esporas Gram positivas intranucleares.

#### **4.2.2.5. Estudio histopatológico**

De aquellos peces que evidenciaban signología que hacía sospechar de una Leucemia Linfoblástica (LL), se procedió a realizar toma de muestras para estudio histológico obteniendo trozos de tejido hepático, esplénico, renal, retrobulbar y gonadal, los cuales fueron fijados en formalina bufferizada al 10%. Posteriormente se seleccionaron las muestras de aquellos peces que de acuerdo a información obtenida en análisis clínicos indicaban una posible LL, principalmente por presencia de esporas intranucleares, linfoblastos en órganos y en sangre, anemia y/o signos clínicos externos e internos de relevancia diagnóstica para la enfermedad,

basado en los antecedentes entregados por Kent y col. (1990). Estas muestras seleccionadas fueron procesadas y teñidas con Hematoxilina-Eosina (H/E) y luego fueron sometidas a estudio histológico con la finalidad de obtener un diagnóstico confirmativo de LL.

#### **4.2.2.6. Microscopía electrónica**

A aquellos ejemplares que demostraban signos sospechosos atribuibles a LL se les tomaron muestras de hígado, bazo y riñón, de aproximadamente 1 mm x 2 mm, debidamente identificados y fueron fijados en glutaraldehído bufferizado al 2,5%. Los ejemplares que al estudio histopatológico evidenciaron signos de L.L se derivaron al estudio mediante microscopía de transmisión electrónica.

#### **4.2.2.7. Estudio de frecuencia y distribución geográfica de leucemia linfoblástica**

La frecuencia expresada en porcentaje de peces histológicamente positivos a LL, fue calculada en base al total de peces muestreados en forma dirigida, utilizándose elementos de estadística descriptiva, relacionando variables como diagnósticos confirmativos de la enfermedad por cada especie y zona estudiada.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Estudio clínico.

Se realizó mediante muestreo dirigido la extracción de 275 peces que denotaban las siguientes características: natación errática y superficial, hiporreactivos frente a estímulos externos y con una marcada coloración oscura en el dorso.

En las siguientes tablas se presenta un resumen de los hallazgos a la inspección externa en los peces muestreados según especie (Tabla N° 3).

**Tabla N° 3: Distribución de lesiones externas observadas en cuatro especie de salmónidos.**

LESIONES EXTERNAS	<i>O. tshawytscha</i>		<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>Exoftalmia</b>	1	7,7%	17	18,8%	18	19,3%	20	25,3%	<b>56</b>	<b>20,3%</b>
<b>Descamación</b>	5	38,5%	43	47,8%	14	15,1%	22	27,8%	<b>84</b>	<b>30,5%</b>
<b>Úlceras cutáneas</b>	4	31,0%	39	43,3%	17	18,0%	10	13,0%	<b>70</b>	<b>25,5%</b>
<b>Branquias pálidas</b>	3	23,1%	63	70,0%	32	34,4%	45	57,0%	<b>143</b>	<b>52,0%</b>
<b>Equimosis ventrales</b>	2	15,3%	15	16,7%	12	12,9%	6	7,6%	<b>35</b>	<b>12,7%</b>
<b>Hiperemias base aletas</b>	6	46,2%	9	10,0%	12	12,9%	6	7,6%	<b>33</b>	<b>12,0%</b>
<b>Equimosis periorcarias</b>	2	15,4%	8	8,9%	12	12,9%	0	0,0%	<b>22</b>	<b>8,0%</b>
<b>Equimosis perianales</b>	2	15,4%	7	7,8%	0	0,0%	3	3,8%	<b>12</b>	<b>4,4%</b>
<b>Abdomen abultado</b>	6	46,2%	25	27,8%	18	19,4%	6	7,6%	<b>55</b>	<b>20,0%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>13</b>	<b>100%</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>	<b>93</b>	<b>100%</b>	<b>79</b>	<b>100%</b>	<b>275</b>	<b>100%</b>

En este cuadro se aprecia que el 52% del total de peces presentaron con palidez branquial, 20,3% exoftalmia, 12,7% hiperemias ventrales, 12% hiperemias en la base de las aletas, 8% equimosis periorcarias y 4,4% equimosis perianales. Otras alteraciones externas como úlceras cutáneas se aprecian en un 25,5% de los peces, marcada descamación en un 30,5%, además se observaron peces con abdomen abultado en un 20%.

**Tabla N° 4: Distribución de lesiones internas en cuatro especies de salmonídeos.**

Lesiones internas	<i>O. tshawytscha</i>		<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Estómago con acumulación de	2	15,4%	31	34,4%	29	31,2%	16	20,3%	49	17,8%
Hepatomegalia	3	23,1%	25	27,8%	30	32,3%	18	22,8%	76	27,6%
Esplenomegalia	2	15,4%	31	34,4%	29	31,2%	16	20,3%	78	28,3%
Hemorragia	2	15,4%	26	28,9%	22	23,7%	1	1,3%	51	18,5%
Renomegalia	0	0	43	47,8%	26	28,0%	21	26,6%	90	32,7%
<b>TOTAL</b>	<b>13</b>		<b>90</b>		<b>93</b>		<b>79</b>		<b>275</b>	

Los hallazgos más comunes son: renomegalia (32,7%), esplenomegalia (28,4%), hepatomegalia (27,6%). Además se aprecian peces con hemorragia intestinal (18,5%) y peces con líquido en su estómago (17,8%).

## 5.2. Estudio sanguíneo.

Peces con VGA < 34% fueron pesquisados en un 31,2% de la muestra. La distribución por zona es la siguiente; zona I (7,6%), zona III (6,9%), zona II (5,8%), zona IV (5,4%) y zona V (5,4%), como se aprecia en la tabla N°5

**Tabla N° 5: Distribución de peces con VGA < 34 %, por zonas y cuatro especies de salmónidos**

ZONA	<i>O. tshawytscha</i>		<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I	0	0%	1	0,3%	1	0,3%	19	6,9%	21	7,6%
II	0	0%	16	5,8%	0	0%	0	0%	16	5,8%
III	7	2,5%	8	2,9%	1	0,3%	3	1,1%	19	6,9%
IV	0	0%	2	0,7%	8	2,9%	5	1,8%	15	5,4%
V	0	0%	4	1,4%	2	0,7%	9	3,3%	15	5,4%
<b>TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>2,5%</b>	<b>31</b>	<b>11,2%</b>	<b>12</b>	<b>4,3%</b>	<b>36</b>	<b>13,1%</b>	<b>86</b>	<b>31,2%</b>

De los 275 peces muestreados el 7,2% presenta una capa flogística mayor a 2 mm. Al analizar la distribución de estos se aprecia que los peces de la zona IV presenta un 3,3%, las zonas V y I un 1,4% y la zona II un 1,1%.



**Tabla N° 6: Distribución de peces con capa (logística mayor o igual a 2 mm, según zona y tres especies de salmónidos**

ZONA	<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%	N	%
I	4	1,4%	0	0%	0	0%	4	1,4%
II	0	0%	0	0%	3	1,1%	3	1,1%
III	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
IV	1	0,4%	5	1,8%	3	1,1%	9	3,3%
V	1	0,4%	2	0,7%	1	0,37%	4	1,4%
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>2,2%</b>	<b>7</b>	<b>2,5%</b>	<b>7</b>	<b>2,5%</b>	<b>20</b>	<b>7,2%</b>

### 5.3. Estudio de frotis sanguíneos e improntas de órganos

**Tabla N° 7: Distribución de peces con leucocitosis en frotis sanguíneos según zonas y especies muestreadas.**

ZONA	<i>O. tshawytscha</i>		<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I	0	0%	1	0,4%	0	0%	5	1,8%	6	2,2%
II	0	0%	0	0%	0	0%	3	1,1%	3	1,1%
III	7	2,5%	5	1,8%	0	0%	0	0%	12	4,4%
IV	0	0%	3	1,1%	6	2,2%	1	0,4%	10	3,6%
V	0	0%	1	0,4%	4	1,4%	3	1,1%	8	2,9%
<b>TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>2,5%</b>	<b>10</b>	<b>3,6%</b>	<b>10</b>	<b>3,6%</b>	<b>12</b>	<b>4,6%</b>	<b>39</b>	<b>14,2%</b>

De esta tabla se desprende que el 14,2% de total de peces muestreados presenta leucocitosis, distribuyéndose de la siguiente forma: zona III (4,4%), zona IV (3,6%), zona V (2,9%), zona I (2,2%) y zona II (1,1%).

**Tabla N° 8: Distribución de peces con linfoblastosis en frotis sanguíneos según zona y especie muestreadas.**

ZONA	<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%
I	0	0%	0	0%	0	0
II	3	1,1%	0	0%	3	1,1%
III	0	0%	0	0%	0	0
IV	0	0%	2	0,7%	2	0,7%
V	0	0%	0	0%	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>1,1%</b>	<b>2</b>	<b>0,7%</b>	<b>5</b>	<b>1,8%</b>

De este cuadro se desprende que 1,8% del total de peces muestreados presenta linfoblastosis, distribuyéndose en sólo dos zonas; zona II (1,1%) y zona IV (0,7%). Las especies afectadas son *O. mykiss* y *S. salar*.

**Tabla N° 9: Hallazgos en improntas de órganos y frotis sanguíneos teñidos con Gram y Giemsa según especies muestreadas.**

ZONA	<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>SRS</b>	6	2,2%	6	2,2%	7	2,6%	<b>19</b>	<b>6,9%</b>
<b>BKD</b>	2	0,7%	0	0%	0	0%	<b>2</b>	<b>0,7%</b>
<b>Esporas G+</b>	0	0%	0	0%	3	1,1%	<b>3</b>	<b>1,1%</b>

Mediante microscopía óptica fueron pesquisadas las siguientes estructuras; cocoides Gram negativos (sospecha de SRS, *Piscirickettsia salmonis*) en 6,9% del total de peces muestreados, diplobacilos Gram positivos (sospecha de BKD, *Renibacterium salmoninarum*) en 0,7% y esporas Gram positivas en 1,1% del total de la muestra. Salmón chinook (*O. tshawytscha*) no presenta hallazgos.

De los peces sospechosos a LL fueron seleccionadas 31 muestras para su estudio histopatológico. Posteriormente se realizó la observación de frotis e improntas y se procesaron finalmente 11 muestras de las cuales 6 resultaron positivas a LL.

#### 5.4. Estudio histopatológico

**Tabla N° 10: Cuadro resumen del estudio histopatológico.**

	<i>O. kisutch</i>		<i>O. mykiss</i>		<i>S. salar</i>		N=275	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>Muestras</b>	6	2,2%	9	3,3%	16	5,8%	<b>31</b>	<b>11,3%/c</b>
<b>Muestras procesadas</b>	1	0,4%	0	0%	10	3,6%	<b>11</b>	<b>4%</b>
<b>Muestras positivas a Leucosis.</b>	1	0,4%	0	0%	5	1,8%	<b>6</b>	<b>2,2%</b>

Sólo 6 muestras resultaron positivas a LL, distribuyéndose por especie y geográficamente de la siguiente forma: 3 salmones del atlántico (1,1%) fueron pesquisados en la zona N° I, 2 salmones del atlántico (0,7%) en la zona IV, y 1 salmón coho (0,4%) en la zona I. Las truchas (*O. mykiss*) y salmón chinook (*O. tshawytscha*) no presentan diagnóstico positivo a LL.

### 5.5. Estudio de microscopía electrónica.

Para el estudio de microscopía electrónica se seleccionaron aquellas muestras provenientes de peces que al examen histológico resultaron positivas a LL. Estas fueron procesadas con la finalidad de dilucidar la etiología de la enfermedad. Estas muestras evidenciaron partículas virales similares a retrovirus de aproximadamente 100 nm de diámetro se caracterizaron por presentar una forma circular con un core denso y definido.

**Tabla N° 11: Lesiones externas e internas observadas en peces positivos a LL.**

	N=6		<i>O. kisutch</i> N=1		<i>S. salar</i> N=5	
	N	%	N	%	N	%
<b>Exoftalmia</b>	4	66,6%	1	100%	3	60%
<b>Ulceras</b>	2	33,3%	1	100%	1	20%
<b>Branquias pálidas</b>	6	100%	1	100%	5	100%
<b>Equimosis ventrales</b>	3	50%	1	100%	2	40%
<b>Hiperemias en base aletas</b>	3	50%	1	100%	2	40%
<b>Equimosis periorcarias</b>	4	66,6%	1	100%	3	60%
<b>Equimosis perianales</b>	3	50%	1	100%	2	40%
<b>Estómago con acumulación de líquido</b>	1	16,6%	1	100%	0	0%
<b>Hepatomegalia</b>	4	66,6%	1	100%	3	60%
<b>Esplenomegalia</b>	5	83,3%	1	100%	4	80%
<b>Hemorragia intestinal.</b>	2	33,3%	1	100%	1	100%
<b>Renomegalia</b>	4	66,6%	1	100%	3	60%

Del total de peces positivos a LL, se destacan las siguientes lesiones externas; branquias pálidas (100%), exoftalmia (66%), equimosis periorcarias (66%). Las lesiones internas más comunes son: esplenomegalia (83,3%), hepatomegalia (66,6%) y renomegalia (66,6%).

**Tabla N° 12: Hallazgos en peces positivos a LL.**

	N=6		<i>O. kisutch</i> =1		<i>S. salar</i> N =5	
	N	%	N	%	N	%
<b>Capa flog. &gt; 2 mm</b>	6	100%	1	100%	5	100%
<b>Leucocitosis</b>	5	83,3%	1	100%	4	80%
<b>Linfoblastosis</b>	2	33,3%	0	0%	2	40%
<b>Esporas Gram(+)</b>	3	50%	0	0%	3	60%

El cuadro anterior muestra que el total de peces positivos a LL posee una capa flogística > a 2 mm, un 83,3 % muestra leucocitosis, 33% linfoblastosis y 50% es positivo a esporas Gram +.

## 6. DISCUSION

La problemática ictiosanitaria nacional se ha incrementado, producto del masivo crecimiento experimentado en los últimos años por la salmonicultura, con lo cual ha surgido la necesidad de evaluar adecuadamente los riesgos sanitarios. Es así como la presencia de una nueva enfermedad denominada "Leucemia Linfoblástica" despierta el interés de los productores e investigadores por conocer su etiología e impacto en la actividad.

Del total de 275 peces muestreados, se apreció que el hallazgo más frecuente a la inspección externa corresponde a palidez branquial (52%), lo cual estaría indicando la presencia de anemia en estos peces. Siendo la especie más afectada salmón coho con un 47,8% de ellos en esta condición. Otros hallazgos externos comunes son: peces descamados (30,5%), úlceras cutáneas (25,5%) y abdomen abultado (20%).

El 31% de los peces presentan un VGA menor a 34%, lo cual se encuentra dentro del porcentaje pesquisado para peces con palidez branquial (52%), por tanto existiría una importante fracción de peces cuya palidez branquial no tendría un claro origen, y cabe considerar la subjetividad dada por las condiciones en las cuales se evaluó dicha condición (luz, tiempo, transporte, muestras, etc.). Esta condición anémica en peces muestreados sugiere la posible presencia de LL, ya que este es un signo característico de la enfermedad (Hedrick y col., 1990; Morrison y col., 1990; Newbound y col., 1995).

Es importante destacar que la presencia de anemia en peces, es una condición que podría atribuirse a la depresión en la eritrogenesis causada por cuadros de carácter crónico, cuyo origen estaría dado por enfermedades que afectan órganos hematopoyéticos del pez, tales como el Síndrome Rickettsial Salmonideo (SRS) y la Enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD).

Un signo externo característico de LL es la exoftalmia (Morrison y col., 1990; Newbound y col., 1993). Esta fue pesquisada en el 20,3% del total de peces muestreados, y en el 66,6% de peces positivos a LL, lo cual indica una mayor relación entre la enfermedad y la exoftalmia que los resultados obtenidos por Kent y col. (1990), quienes indican que este signo está asociado ocasionalmente a la enfermedad.

Los hallazgos más comunes a la inspección interna son: hepatomegalia (27,6%), esplenomegalia (28,3%) y renomegalia (32,7%). Siendo las truchas (*O. mykiss*) y salmón coho (*O. kisutch*), las especies más afectadas. Esto concuerda con hallazgos de peces positivos a LL en los cuales la esplenomegalia y renomegalia son signos característicos de Leucosis Plasmacitoídea (Hedrick y col., 1990; Kent y col., 1990; Morrison y col., 1990; Newbound y Kent, 1991b; Eaton y Kent, 1992). Además se observa un 20% de peces con abdomen abultado lo cual concuerda con el 17,8% de peces hallados con abundante acumulación de líquido en el

estómago descrito en los hallazgos de lesiones internas, pero que difiere en sus características de la presencia de ascitis serosanguinolenta descrita para peces positivos a LL por Kent y col. (1993), Morrison y col. (1990) y Newbound y Kent (1991a). Cabe destacar que la acumulación de líquido en el estómago es un hallazgo comúnmente asociado a SRS.

En el estudio sanguíneo se aprecia que 7,2% del total de peces muestreados presenta una capa flogística > a 2 mm, cabe mencionar que 2 mm de capa flogística indican una apreciación indirecta del número de leucocitos totales de aproximadamente  $16 \times 10^3$  leucocitos / ml, lo cual correspondería a leucocitosis, puesto que el rango de referencia considerado normal para este parámetro es 10 a  $12 \times 10^3$  leucocitos / ml (Stoskopf, 1993). Del total de peces muestreados el 14,2% presenta leucocitosis y 1,8% linfoblastosis. Este último tipo de células se presentan inmaduras con grandes núcleos vesiculados, hendidos y abundante cromatina, además de presentar un citoplasma con leve basofilia. La baja presencia de estos linfoblastos en los frotis sanguíneos indicaría que la proliferación de células de la línea blanca se debería en mayor proporción a una respuesta defensiva de los peces a SRS o BKD, más que a una condición neoplásica.

De los peces positivos a LL mediante diagnóstico histológico, el 100% de ellos presenta una capa flogística > a 2 mm, asimismo se aprecia en los frotis sanguíneos de estos peces un 83,3% con leucocitosis y un 33,3% linfoblastosis. Esta última condición indicaría que la enfermedad se encuentra en una fase leucémica, entendiéndose como leucemia a un grupo heterogéneo de neoplasias que surgen de la transformación maligna de células hematopoyéticas que proliferan sin control interfiriendo con la hematopoyesis e inmunidad normales, emigrando hacia la sangre periférica e infiltrando diferentes tejidos (Harrison y col, 1994). Es importante destacar que las células con características de linfoblastos concuerdan con lo descrito por Kent y col. (1990) y Kent y Dawe (1993) para un tipo de células que denominan "Plasmoblastos".

Al estudio histológico fueron pesquisados 7 peces positivos a LL (2,2%), de estos 6 eran salmones del atlántico, *S. salar* (1,8%) y 1 salmón coho, *O. kisutch* (0,4%). El diagnóstico para estas muestras coincidió en que el órgano afectado era el riñón, el cual se observó con una marcada proliferación celular de tipo linfoblástico. Estas células se presentaron hipercromáticas, pleomórficas, con núcleo aumentado de tamaño y cuerpos de inclusión en su interior. Esta descripción coincide con los hallazgos descritos por Kent y col. (1990), en la cual el riñón se presenta con marcada proliferación de plasmoblastos en el intersticio, además de glomerulonefritis caracterizada por engrasamiento de las membranas basales y proliferación de células epiteliales en la cápsula de Bowman.

Al comparar las descripciones histológicas dadas por la literatura y aquellas obtenidas por este estudio, llama la atención que en este último no se hayan encontrado indicios de plasmoblastos en órganos tales como hígado, en el cual se describe infiltración de plasmoblastos en espacio portal y sinusoides, o en el bazo, para el cual se señala la existencia de una población heterogénea de células, incluyendo plasmoblastos, ubicados en senos y luces vasculares (Kent y col., 1990).

Esta situación podría explicarse debido a las dificultades en el diagnóstico histológico para diferenciar células neoplásicas de células hiperplásicas e inflamatorias. Además puede estar dado por la dificultad para diferenciar células linfoblásticas de hemocitoblastos o células mesenquimales no diferenciadas, ya que en algún momento antes de completar la maduración o diferenciación de estas células, todas pueden considerarse como células multipotenciales o blásticas (Morrison y col., 1990).

Del total de peces muestreados sólo 1,1 % resultó positivo a la pesquisa del parásito microsporidio, siendo a su vez encontrados exclusivamente en peces con diagnóstico histológico positivo a LL. Estos microsporidios fueron observados como cuerpos eosinofílicos en improntas de hígado y bazo con un tamaño aproximado de  $1 \times 2 \mu$ .

En los peces positivos a LL también fue posible observar mediante microscopía electrónica estructuras homologables a partículas virales de aproximadamente 100 nm de diámetro, estas poseen forma circular y se encuentran asociadas al citoplasma de células blásticas. Este hecho coincide con la descripción de un retrovirus oncogénico señalado como etiología de LL (Kent y col., 1990; Newbound y Kent 1991a; Newbound y col., 1993). La hipótesis del retrovirus oncogénico se afianza en las características de la enfermedad que se asemeja a otras infecciones causadas por otros retrovirus, al respecto Newbound y Kent (1991a) asemejan a esta enfermedad con la Leucosis Viral Bovina (BLV); Kent y col. (1990) la asocian con la leucemia de células plasmáticas de posible origen retroviral, que se observa en peces de la especie *Ictalurus nebulosus*, por su parte, Newbound y col. (1993), la comparan en aspectos relacionados a la detección inmunológica de infección retroviral, con la infección causada por el virus de la Leucemia Felina (Felv) y BLV.

Los retrovirus (virus RNA) son virus que poseen características oncogénicas, morfológicamente poseen forma circular con un diámetro de 80 a 100 nm y una membrana lipoproteica que contiene proyecciones de 8 nm de largo. Los viriones poseen una compleja estructura interna con una alargada cápside que rodea un RNA proteico con simetría helicoidal cerca de la cubierta externa, que se origina de la célula huésped. Poseen además una típica membrana del core que contiene un núcleo concéntrico o excéntrico. Según la morfología del virión la familia Retroviridae posee partículas A, B, C y D (Riedemann, 1992).

La patogenia de estos retrovirus parece estar dada por alteraciones en los mecanismos genéticos importantes de la biología del desarrollo, que actuarían dentro de una familia de genes muy conservados en el genoma normal conocidos como protooncogenes, y a la alteración de su estructura o los cambios en su disposición o localización dentro del genoma les correspondería la regulación anormal del crecimiento con producción de proteínas anormales o de cantidades anormales de proteínas vitales para el crecimiento celular, lo cual sería la causa de las neoplasias, (Champlin y Golden, 1985).

Según Stephen y col. (1995) la clasificación de las neoplasias esta basada principalmente en el criterio histológico, por lo tanto de acuerdo a la clasificación Histológica y de

Nomenclatura Internacional de las Enfermedades Neoplásicas del tejido Hematopoyético y Linfoide de los Animales Domésticos, el cuadro presente en los peces correspondería a una "Leucemia Linfoblástica" dado su origen hematopoyético, cuyas células neoplásicas se pueden diseminar a través de la vía hematopoyética y linfoide pudiendo infiltrarse principalmente en órganos hematopoyéticos y linfoides y también en otros órganos.

Al analizar los hallazgos externos e internos descritos en los peces, se encuentra una similitud con los signos descritos para pacientes humanos afectados por Leucemia Linfocítica aguda, en la cual es común la descripción de hemorragias difusas, lo cual coincide con la presencia de equimosis y petequias en la zona ventral de los peces, estas alteraciones guardarían relación con una trombocitopenia, ya que los megacariocitos derivan del clon leucémico y producen plaquetas con función anómala. Además se menciona en la leucemia humana hepatomegalia y esplenomegalia por infiltración de blastos leucémicos lo cual es un signo característico hallado en peces positivos a LL. Asimismo se describen masas de tejidos blandos de células blásticas (cloromas) en la zona periorbital, lo que concuerda con la acumulación de tejido que sería la causa de la exoftalmia descrita en peces positivos a LL (Morrison y col, 1990).

Asimismo se describen diversas especies de microsporidios parasitando pacientes humanos afectados por cuadros virales (retrovirus específicamente), tales como *Encephalitozoon hellem* (infección intestinal), *Nosema corneum* (infección ocular), *Encephalitozoon intestinalis* (infección intestinal) y *Enterocytozoon bieneusi* (infección intestinal), los cuales son una seria amenaza en los estadios tardíos de la infección por VIH (Desportes y col., 1996). Esto es homologable a la supuesta interacción entre SLV y *Enterocytozoon salmonis*, el cual podría aparecer como consecuencia de la inmunosupresión causada por la infección viral o actuar como cofactor en la replicación viral (Kent y Dawe, 1993). Últimamente se ha propuesto la supuesta capacidad del microsporidio para estimular por sí mismo la producción de células linfoblásticas a través de la secreción de un factor mitogénico soluble (Wontavatchai y Hedrick, 1993; Wontavatchai y col., 1995; Desportes y col., 1996).

Del total de peces muestreados, sólo 6 (2,2%) peces resultaron positivos a LL, de estos 1 (0,4%) era salmón coho (*O. kisutch*) y provenía de la zona II, y poseía un diagnóstico anterior de SRS, 5 (1,8%) eran salmones del Atlántico, de estos últimos, 3 (1,1%) provenían de un mismo centro y zona (I) y además resultaron positivos a la pesquisa del microsporidio. De acuerdo a datos facilitados por los encargados del centro estos salmones del Atlántico pertenecían a la cepa Gaspé (importados) y ya contaban con un diagnóstico positivo a LL (histopatología), los demás salmones del atlántico pesquisados como positivos a LL correspondían a la zona IV, y de acuerdo a información del centro marino pertenecían a la cepa Fanad Mowi de origen nacional, y sólo presentaban un diagnóstico anterior positivo a SRS.

Considerando que la muestra de peces sólo consideraba moribundos y un reducido número de centros del total de la firma salmonera de la X región, se podría inferir que al menos un 2,2% de la mortalidad total producida en esta región, sería causada por LL, asimismo los

salmones del atlántico (*Salmo salar*) cepa Gaspé importados serían los más afectados. Sin embargo dadas las escasas posibilidades de realizar un diagnóstico viral, este porcentaje podría ser mayor, ya que no podemos evaluar cuantos peces del total de la población se encuentran inmunocomprometidos debido a una infección primaria por SLV, y están enmascarados por infecciones secundarias de *Piscirickettsia salmonis*, *Renibacterium salmoninarum* o el mismo *Nucleospora salmonis*. Asimismo, dado que en los últimos años la antibiótico terapia para peces, se ha visto sobrepasada por la baja susceptibilidad bacteriana a los productos en uso, cabría la posibilidad de que gran parte de la resistencia a los tratamientos este dada por un agente etiológico que se mantenga solapadamente dentro del sistema productivo, y que correspondería a un retrovirus capaz de inducir estados inmunosupresivos e inmunodepresivos gatillados por factores desconocidos, los cuales serían la base para posteriores infecciones que redundarían en grandes pérdidas para el sector.



## 7. CONCLUSIONES

- Existe una patología diagnosticada como Leucemia Linfoblástica en la décima región, y que corresponde clínicamente a una enfermedad neoplásica observada desde 1988 en salmones chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) en Canadá y Estados Unidos denominada "Anemia Marina" o "Leucemia Plasmacitoídea".
- Clínicamente la enfermedad se caracteriza por la presencia de peces oscuros con natación superficial y letárgica, palidez branquial, esplenomegalia, renomegalia y exoftalmia bilateral.
- Al estudio sanguíneo se aprecia anemia, aumento en la capa flogística y linfoblastosis.
- Histológicamente presenta infiltrado de células linfoblásticas inmaduras en órganos parenquimatosos.
- Las células linfoblásticas se identifican por su escaso citoplasma, diferentes tamaños, nucléolos prominentes y algunas de ellas presentan cuerpos de inclusión intracelulares.
- Dada las características de inmadurez de las células linfoblásticas, esta afección corresponde a una neoplasia.
- El 2,2% de los peces muestreados en forma dirigida fue positivo a LL en la X región. Por especie la mayor frecuencia corresponde a los *S. salar*, un solo caso en *O. kisutch*, *O. mykiss* no presenta peces positivos a esta condición.
- Se observó el parásito *Nucleospora salmonis* sólo en el 50% de los peces positivos a LL.
- Los casos positivos fueron encontrados en la zona I (Pto. Montt-Calbuco), II (Ralún), y zona IV (Chiloé Norte).
- Se observan partículas virales en aquellos peces positivos a LL, lo cual haría suponer dadas las características de la enfermedad, la presencia de un retrovirus de características oncogénicas.

## 8. BIBLIOGRAFIA

AMOS, K. H. 1985. Procedures for the detection and identification of certain fish pathogens. Fish Health Blue Book. Am. Fish Soc. Fish Health Sec. Corvallis, Oregon, pp. 114.

BAXA-ANTONIO, D., J. M. GROFF and R. P. HEDRICK. 1992. Experimental horizontal transmission of *enterocytosoon salmonis* to chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*). J. Euk. Microbiol. 3: 699-702.

BOWSER, P. R. 1993. Retroviruses offish. Annual Rev. of Fish Diseases, pp. 209-224.

BRAVO, S. 1992. El dilema de las ovas de salmones. Chile Pesquero. Diciembre-Enero: 55-59.

BRAVO, S. 1993. Screening para ovas importadas. Chile Pesquero. Julio-Agosto: 35-37.

BUSTOS, P. 1991. Aquaveterinaria. Aquanoticias Internacional. Diciembre: 29.

CHAMPLIN, W., DW GOLDEN. 1985. Principios de medicina interna. Ed Interamericana Barcelona I.

CHILMONCZYCK, S., W. T. COX and R. P. HEDRICK. 1991. *Enterocitoozon salmonis* N. sp: an intranuclear microsporidium from salmonid fish. J. Protozool. 38: 264-269.

DESPORTES, Y., S. CHILMONCZYK, R. HEDRICK, C. OMBROUCK, D. MONGE, Y. MAIGA and M. GENTILINI. 1996. Comparative development of two microsporidian species: *Enterocitoozon bieneusi* and *Enterocitoozon salmonis*, reported in AIDS patients and salmonids fish, respectively. J. Euk. Microbiol. 43: 49-60.

EATON, W. D. and M. L. KENT. 1992. A retrovirus in chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) with plasmacytoid leukemia and evidence for the etiology of the disease. Cáncer Research. 52: 6496-6500.

EATON, W. D., B. FOLKINS, J. BAGSHAW, G. TRAXLER and M. L. KENT. 1993. Isolation of a retrovirus from two fish cell lines developed from chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) from British Columbia expressing plasmacytoid leukemia. Dis Aquat. Org. 19: 147-151.

ELSTON, R. A., M. A. KENT and L. H. HARREL. 1987. An intranuclear microsporidium associated with acute anemia in the chinook salmon (*O. tshawytscha*). J. Protozool. 34: 274-277.

HARRISON, K. ISSELBACHER, E. BRAUNWALD, J. WILSON, J. MARTIN, A. FAUCI, D. KASPER. 1994. Principios de medicina interna. 3° Ed. Interamericana McGraw, Madrid.

HEDRICK, R. P., J. M. GROFF, T. S. Me DOWELL, M. WILLIS and W. T. COX. 1990. Hematopoietic intranuclear microsporidian infections with features of leukemia in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Pis. Aquat. Org. 8: 189-197.

HEDRICK, R. P., J. M. GROFF and D. V. BAXA. 1991. Experimental infections with *Enterocytosoon salmonis* (Microsporea): an intranuclear microsporidium from chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Pis. Aquat. Org. 10: 103-108.

KENT, M. L., J. W. GROFF, G. S. TRAXLER, J. G. ZINKL and J. W. BAGSHAW. 1990. Plasmacytoid leukemia (Marine Anemia): Viral or Microsporidian etiology?. Fish Health Section-American Fisheries Society Newsletter. 19: 1-2.

KENT, M. L., J. W. BAGSCHAW, G. C. NEWBOUND, G. C. TRAXLER, S. C. DAWE, J. R. ROOME, W. E. EATON, J. M. GROFF and D. SPEARE. 1991. Plasmacytoid leukemia (Marine Anemia): viral or microsporidian etiology?. Fish Health Section-American Fisheries Society Newsletter. 19: 1-2.

KENT, M. L. and S.C. DAWE. 1993. Further evidence for a viral etiology in plasmacytoid leukemia of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Pis. Aquat. Org. 15: 115-121.

KENT, M. L., G. C. NEWBOUND, S. C. DAWE, C. STEPHEN, W. D. EATON, G. S. TRAXLER, D. KIESER and R. F. MARKHAM. 1993. Observations on the transmission and range of plasmacytoid leukemia of chinook salmon. Fish Health Section American Fisheries Society Newsletter. 21: 1-3.

MACCHIAVELLO, M. 1992. Control de enfermedades virales en Chile. Chile Pesquero. Junio-Julio: 39-42.

MARDONES, A. y R. VEGA. 1993. Ovas, alevines y smolt: Las necesidades de Chile Aquanoticias Internacional. Julio- Septiembre: 6-15.

MÉNDEZ, R. y C. MUNITA. 1989. La salmonicultura en Chile. Ed. Ricardo Cortés, Santiago, pp. 229.

MÉNDEZ, R. y L. VTDAL. 1994. La salmonicultura chilena en 1993. Aquanoticias Internacional. Enero-Marzo. 24: 39.